

SUSCEPTIBILIDAD A LA DELTAMETRINA DE LARVAS DE ZANCUDOS ENCONTRADAS EN LLANTAS EN EL SALVADOR, AGOSTO DEL AÑO 2013

Rodrigo A. Peña S.

Abelardo de Jesús Ortiz

Facultad de Medicina

CONTENIDO

<p>INTRODUCCIÓN</p> <p>I- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Descripción del problema 2. Delimitación del problema 3. Alcances 4. Factibilidad 5. Enunciado del problema <p>II- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Revisión bibliográfica <ol style="list-style-type: none"> 1.1. Insecticidas y modo de acción de los primeros insecticidas 1.2. Los insecticidas de contacto residuales 1.3. Insecticidas para el control de mosquitos 1.4. Naturaleza de los productos químicos piretroides 1.5. Resistencia a los insecticidas en mosquito <ol style="list-style-type: none"> a) Mecanismos de resistencia a piretroides b) Mecanismos de resistencia derribo (kdr) 2. Marco teórico <ol style="list-style-type: none"> 2.1. Dengue como actualidad en El Salvador <ol style="list-style-type: none"> a) Agente b) Vector c) Enfermedad del dengue d) Distribución mundial del dengue e) Situación y actualidad del dengue en el país 2.2. Mosquitos Culex sp <p>III- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Justificación 	<ol style="list-style-type: none"> 2. Objetivos <ol style="list-style-type: none"> 2.1. Objetivo general 2.2. Objetivos específicos <p>IV- METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tipo de investigación 2. Unidades de análisis 3. Variables y medición <ol style="list-style-type: none"> 3.1. Definición de variables 3.2. Indicadores y su medición 3.3. Instrumento 3.4. Técnicas y procedimientos a emplearse en la recopilación de la información 3.5. Bioensayo para las larvas de mosquitos: efecto de derribo con larvas de mosquito 3.6. Descripción de metodología de identificación de las larvas estudiadas 4. Procesamiento y análisis <p>V. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Análisis 2. Discusión de resultados <p>VI- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Conclusiones 2. Recomendaciones <p>FUENTES CONSULTADAS</p> <p>ANEXOS</p>
---	--

INTRODUCCIÓN

Los productos químicos sintéticos estructuralmente relacionados, como el compuesto que incluye piretrinas naturales que se conoce con el término general de Piretroide, son derivados de las flores de crisantemo. La mayoría de los piretroides son altamente tóxicos para los mamíferos, pero no así para los humanos y poseen una alta actividad de “efecto-derribo” o “knock-down” (spray residual, 2003-2005). Hay dos grupos principales de los piretroides: uno que posee alta actividad de “efecto-derribo” o “knock-down”, pero baja actividad letal, y el otro con actividad letal alta. Hoy en día, los piretroides foto-estables están emergiendo como los insecticidas predominantes para el control de vectores, entre estos la deltametrina.

La resistencia a los piretroides foto-estable se prevé que sea un problema importante para el programa de control de vectores, ya que, en la actualidad, no existen sustitutos químicos de los piretroides. La resistencia se define oficialmente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como: “El desarrollo de una habilidad en una cepa de un organismo para tolerar dosis de un tóxico que resultaría letal para la mayoría de los individuos de una población normal (susceptible) de las especies”.

Kawada et al. (2009) demuestra el uso del bioensayo como una forma de comprobación de la susceptibilidad a los piretroides por los mosquitos en tercer y último estadio larvario. Asimismo, manifiesta que el uso cuantioso de piretroides está relacionado con el alto índice de casos de dengue, según el estudio realizado en Vietnam. El Salvador, en la actualidad, presenta como en años anteriores un alto número de casos de sospecha de dengue, así como confirmados, haciendo de esta una enfermedad endémica en nuestro país a diferencia de la Malaria (MINSAL, 2013).

En la presente investigación se tomará el modelo del bioensayo de Kawada et al. modificado, con el fin de evaluar la susceptibilidad a la deltametrina principalmente por las larvas del mosquito vector del dengue, *Ae. aegypti*, retraído en llantas usadas que contengan aguas lluvias estancadas libres de cloro, tomando una muestra por cada una de las cinco regiones del país. Asimismo, determinar entomológicamente las especies de las larvas encontradas, sin hacer selección previa al bioensayo de las recolectadas a diferencia del lugar de colección. Los resultados encontrados son que las larvas de *Ae. aegypti* presentaron menor susceptibilidad a la exposición con deltametrina.

Palabras clave: Dengue, *Aedes Aegypti*, deltametrina, bioensayo, El Salvador.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1. Descripción del problema

La Organización Mundial de la Salud (OMS) indicó que un total de 40 países notificaron el uso de insecticidas para el control del dengue entre los años 2003 y 2005, e informó que, en promedio, 262 toneladas de insecticidas organofosforados y 39 toneladas de piretroides se utilizan anualmente para el control del vector del dengue a nivel mundial. De hecho, los piretroides foto-estables representan el 40% de los insecticidas utilizados anualmente a nivel mundial, para la fumigación de interiores residual contra los vectores de la malaria y el 100% de los insecticidas recomendados por la OMS para el tratamiento de mosquiteros (NetsforLife®).¹ El alto uso de los insecticidas permite el desarrollo de resistencias en los insectos. La resistencia puede ser adquirida a través de acciones fisiológicas o de comportamiento. Este último ha sido más estudiado (Hemingway 2003).

El dengue se ha dispersado de una forma rápida desde los años cuarentas del siglo pasado y se puede mencionar que entra en la categoría de pandemia, ya que es una enfermedad epidémica que se extiende a muchos países en diferentes continentes y ataca a la mayoría de habitantes de una población que presente los factores de riesgo, principalmente de ambiente tropical (Aguilar 2010).

En El Salvador, el dengue se ha presentado con alto número de episodios cada año manifestándose principalmente como dengue clásico, pero también como dengue hemorrágico o grave. Durante el año 2011 se reportaron 20,869 casos con sospecha de dengue y 912 casos de dengue grave. A consecuencia de la alterna presencia de los 4 serotipos virales que han circulado en nuestro país, apuntan a la necesidad de intensificar las actividades de prevención y control del vector (Laboratorios Max Bloch 2007).

Este aumento en el número de casos de dengue vuelve importante encontrar medios que sean factibles de realizar para obtener datos que den indicios del adecuado uso de insecticidas y, asimismo, valerse de estos métodos para conocer los cambios en el vector de esta enfermedad que afecta al país.

¹ <http://www.olyset.net/> Una de varias marcas de mosquiteros impregnados con insecticidas.

2. Delimitación del problema

Mundialmente se hace uso de los insecticidas para el control de mosquitos transmisores de enfermedades, incluyendo los vectores del dengue. El aumento del número de casos de esta enfermedad no se relaciona únicamente con las piretrinas, pero sí se debe de reconocer los cambios que presenta el mosquito vector a la exposición de corto, mediano y largo plazo. Estos cambios se estudian a nivel genético, bioquímico y de comportamiento (Hemingway 2007). Las piretrinas y piretroides insecticidas afectan a los sistemas nerviosos periférico y central de los insectos, actuando sobre las proteínas de los canales de sodio dependientes de voltaje que se encuentran en las membranas celulares nerviosas de insectos (Denholm, I. 1999).

El estudio de la susceptibilidad de los mosquitos, en su forma acuática, ayuda a conocer indicios de cambios que apuntan a que hay presencia de resistencia a las piretrinas (Kawada, et al. 2009). En esta ocasión, este estudio se realizó en llantas con aguas lluvias estancadas libres de cloro, como un estudio pionero, obteniendo una muestra por cada zona o región del país con el fin de evaluar la susceptibilidad de las larvas recolectadas a la deltametrina.

3. Alcances

El investigar los cambios genéticos y bioquímicos de los mosquitos se puede realizar cuando se tienen laboratorios especializados y personal capacitados, ya que estos estudios son de altos costos para poder llevarse a cabo.

Que el uso del bioensayo con larvas en tercer y último estadio, siendo expuestas a la deltametrina, sea la utilizada por el MINSAL para el control de vectores, es una forma económica y factible de poderse realizar y conocer la susceptibilidad de los mosquitos como un índice en su forma larvaria. El obtener un resultado de estos cambios en el vector también se suma a la solución del alto número de casos de dengue.

Un logro será tener un modelo de mapa de las cinco regiones del país que indiquen cómo se presenta la susceptibilidad a la deltametrina de una muestra colectada por cada zona del país.

4. Factibilidad

El Salvador está ubicado en América Central. Con tan solo 20,742 km², está dividido administrativamente por 14 departamentos, los cuales a su vez se dividen en 262 municipios. El Ministerio de Salud (MINSAL) clasifica al país en cinco regiones

o zonas, para una mayor referencia y red de trabajo y no solamente por los 14 departamentos que lo constituyen. Estas zonas o regiones son las siguientes: Zona Oriental, que incluye a La Unión, Morazán, San Miguel y Usulután; en la Zona Paracentral están San Vicente, Cabañas, Cuscatlan y La Paz; La Zona Central, por La Libertad y Chalatenango; la Zona Occidental, por Santa Ana, Ahuachapán y Sonsonate; y la Zona o Región Metropolitana, constituida por el departamento de San Salvador.

La colección de las muestras, con las cuales se realizó el bioensayo, fueron ubicadas en llantas que se encontraron cerca (a la orilla) del camino recorrido y que contenían aguas lluvias estancadas libre de cloro y suficientes larvas para realizarse el bioensayo.

El bioensayo se debió realizar en un lugar limpio, de ambiente controlado, techado y amplio para la manipulación de las muestras y el insecticida, de preferencia fue un laboratorio, aunque el bioensayo no tiene mayor riesgo que la manipulación de la deltametrina.

Es de valorar que al hacer uso de este método de bioensayo que es fácil, práctico, de bajo costo, se puede enriquecer respecto a la problemática del dengue en nuestro país.

5. Enunciado del problema

La investigación está basada en la siguiente pregunta: ¿Cuál es la susceptibilidad a la deltametrina de larvas de zancudos, primordialmente de *Ae. aegypti*, encontradas en llantas en diferentes zonas de El Salvador en el mes de agosto del año 2013?

II- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1. Revisión bibliográfica

1.1. Insecticidas y modo de acción de los primeros insecticidas

Son principalmente de tres tipos que, derivados de plantas, aceites de petróleo y las sales de metales pesados (Van Emden y Service, 2004).

Derivados de plantas: eran extractos de plantas tóxicas. El más conocido de estas sustancias son piretro, rotenona y la nicotina. Estos extractos de plantas trabajan en una variedad de maneras: intoxicación o del sistema nervioso o respiratorio (Casida et al., 1983).

Aceites: es el segundo grupo de los primeros insecticidas de aceites de petróleo que matan a los insectos y ácaros, y sus huevos. Actuaban principalmente por asfixia, pero además cierta mortalidad se deriva de la toxicidad de sus hidrocarburos. Los aceites fueron uno de los primeros insecticidas utilizados para el control de mosquitos y la malaria (Van Emden y Service, 2004).

Metales pesados: el tercero (incluyendo París Verde, también conocido como cobre acetoarsenito), es un grupo de sales de metales pesados. Estos son los radicales tóxicos (por ejemplo, arsénico) formulados en forma de sales de metales (por ejemplo, plomo o de sodio) (Van Emden y Service, 2004).

1.2. Los insecticidas de contacto residuales

Los organoclorado (OC) persistentes fueron los primeros insecticidas de contacto residuales sintetizados por los químicos. El más famoso de ellos es el DDT, sintetizado como una molécula en 1874 por el científico alemán Othmar Ziedler. Sin embargo, sus propiedades insecticidas no fueron descubiertas hasta 1939 por el químico suizo Paul Müller. El modo de acción del OC se basa en dos acciones principales: una inhibición de la enzima citocromo oxidasa, que media en el intercambio de gases en la respiración de todos los animales que utilizan la sangre como un gas portador, y una desestabilización del sistema nervioso (Davies et al., 2007).

Los organofosforados (OF). Este segundo grupo de insecticidas de contacto residuales se produjo a finales de 1940, una vez más, como resultado de la investigación de armas químicas. Paratión y malatión fueron algunos de los primeros organofosforados (OF). Al igual que el OC, el OF tiene una manera muy inespecífica de la acción sobre los animales, insectos o seres humanos (Coats, 1994).

Carbamatos: tercer grupo de insecticidas de contacto residuales, los carbamatos (derivados del ácido carbámico) se introdujeron en 1956 con la Carbaryl compuesto (Van Emden y Service, 2004).

Los piretroides sintéticos: estos fueron los siguientes insecticidas de contacto residuales. Fue el acierto del químico para sintetizar y modificar la molécula de piretrina natural y conferir propiedades deseables tales como fotoestabilidad para aumentar la persistencia. Algún éxito llegó con la síntesis de aletrin ya en 1949, y un resultado real llegó a la estación Experimental Rothamstead en el Reino Unido en la década de 1970.

Los primeros piretroides sintéticos (fenotrín y fenvalerato) combinan una alta toxicidad para los insectos con una baja toxicidad para los mamíferos y el gran aumento de la estabilidad. Se dieron a conocer en 1973 (Van Emden y Service

2004). El modo de acción de los piretroides parece ser un proceso físico-químico en la membrana del nervio lo suficientemente similar a la acción del DDT. Esas poblaciones de insectos resistentes al DDT pueden mostrar algo de resistencia cruzada a los piretroides (Bregues et al., 2003).

1.3. Insecticidas para el control de mosquitos

Uno de los acontecimientos más importantes en la historia de la lucha contra los mosquitos fue la invención del DDT por el Dr. Müller, quien recibió el Premio Nobel de Química en 1948. La larga persistencia y excelente eficacia letal de DDT son responsables de su brillante éxito después de la Segunda Guerra Mundial. Sin embargo, el primer caso de resistencia al DDT en los mosquitos anofeles se detectó varios años más tarde. Por otra parte, la resistencia al DDT fue responsable del aumento en la incidencia de la malaria en la década de 1960 (Bruce-Chwatt, 1985). Debido a esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha cambiado su política de erradicación. Recomiendan atención primaria de salud y el uso de mosquiteros.

Neto Olyset® se compone de fibras de plástico impregnadas con permetrina, uno de los piretroides más populares y seguros. Actualmente, los piretroides se perfilan como los insecticidas predominantes para el control de vectores. Se utilizan en varias formulaciones, como en los mosquiteros para la prevención de las picaduras de mosquitos, en las zonas endémicas de malaria, de ultra bajo volumen (ULV), aerosoles para el control de emergencia de los vectores del dengue, y rociado espacial en aviones y barcos para el control de invasión de mosquitos. De hecho, los piretroides representan el 40% de los insecticidas utilizados anualmente a nivel mundial para la fumigación de interiores residuales contra los vectores del paludismo y del 100% para el tratamiento de mosquiteros (Zaim y Jambulingam, 2007).

La OMS indicó que un total de 40 países notificaron el uso de insecticidas para el control del dengue durante 2003-2005. Mientras que 25 países informaron de un período de tres años (Región de África, 1, Región de las Américas, 14; Región del Mediterráneo Oriental, 1; Sur de Asia Sudoriental, 3; Región del Pacífico Occidental, 6), 6 países proporcionaron datos para dos años y los 9 países restantes de sólo un año. Diez países (Región de las Américas, 8; Región del Mediterráneo Oriental, 1; Sur de Asia Sudoriental, 1) proporcionaron datos sobre el uso de insecticidas para el control del vector del dengue, en alguna parte, combinada con los datos de control de la malaria (Zaim y Jambulingam, 2007).

La OMS informó que, en promedio, 262 toneladas de organofosforados (OP) insecticidas y 39 toneladas de piretroides se utilizan anualmente para el control del vector del dengue a nivel mundial. De los programas operativos utilizados, el 76%

(199 toneladas de ingrediente activo) fue para el rociamiento espacial, el 23% de larvicidas y el 1% para los peri-focal pulverización.

Alrededor del 50% del uso global de insecticidas piretroides fue en los países de la Región del Pacífico Occidental y el 47% de la Región de las Américas (Zaim y Jambulingam 2007).

La cantidad de OPs y piretroides utilizados para el control del vector del dengue constituye el 60% y el 24% respectivamente del consumo anual total de los insecticidas de estas clases a nivel mundial para todo el control vectorial.

En comparación con 2003 y 2004, el uso de permetrina y malatión aumentó considerablemente en 2005 (Ver Tabla 1).

El uso de los programas operativos se incrementó alrededor de 300 toneladas, en 1995, a 700 toneladas en 1997, seguido de un fuerte descenso en 1998 (alrededor de 100 toneladas). Desde entonces, ha oscilado entre 100 y 200 toneladas. Después de un aumento inicial en 1999-2000, el uso de piretroides se ha estabilizado en el mismo nivel.

Tabla 1. Insecticidas (por clase) utilizados (en kg de ingrediente activo) para el control del vector de dengue reportados a nivel mundial para WHOPES, 2000-2002 (Zaim y Jambulingam 2007)

Clase	Compuesto	2003	2004	2005	Total	Promedio
Organofosforados	Fenitrotión	2998	19914	26018	48930	16310
	Fentión	2980	1832	1705	6517	2172
	Malatión	63133	162056	308236	533425	177808
	Pirimifosmetilo	4634	15958	8620	29212	9737
	Temefos	62488	60443	54300	177231	59077
Piretroides	Alfa-cipermetrina	0	9804	9528	19332	6444
	Ciflutrina	44	14	21	79	26
	Cipermetrina	31953	10510	9297	51760	17253
	Deltametrina	1071	968	1581	3620	1207
	Etofenprox	0	0	310	310	103
	Lambda-cyahlorthrin	61	204	84	349	116
	Permetrina	4908	7961	50416	63285	21095
Mezcla	84	81	223	388	129	

1.4. Naturaleza de los productos químicos piretroides

En la historia piretroide, después de corregir algunos detalles de las estructuras piretrinas, se obtuvo un compuesto análogo sintético más simple, aletrina, en el que un grupo alilo es sustituido de la cadena lateral pentadicyl del resto de alcohol (Casida 1980). Aletrina fue la primera piretroide comercial.

Los piretroides son venenos axónicos que trabajan por mantener los canales de sodio abiertos en las membranas neuronales de insectos, manteniéndolo paralizado. Por lo general, se rompen por la luz solar y la atmósfera en uno o dos días, y no afectan significativamente la calidad de las aguas subterráneas, excepto por ser tóxico para los peces debido a la bioacumulación (Casida 1980).

Estos pesticidas son aprobados por la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. (USEPA) para el control de mosquitos adultos (Departamento de Salud Pública de Illinois, Junio de 2007). Por su modo de acción, hay dos grupos principales de los piretroides: uno que posee actividad alta “efecto derribo” o “knock-down”, pero baja actividad letal, y el otro con actividad alta letal. Los piretroides en el primer grupo están adecuadamente etiquetados como agentes de precipitación, y los de este último grupo, como agentes de matar. La mayoría de los piretroides que pertenecen al grupo de agentes desmontables contienen un ciclopentenolona o un N-metilol o un resto relacionados con el alcohol. Además, la mayoría de los piretroides que pertenecen al grupo de agentes a matar contienen un alcohol fenoxibencil o restos relacionados con el alcohol. En general, los piretroides que pertenecen a este último grupo exhiben alta fotoestabilidad que hacen posible su uso como plaguicidas agrícolas.

Los piretroides que pertenecen al grupo de agentes desmontables han sido utilizados con éxito en todo el mundo durante un largo período. Recientemente, un grupo de los piretroides de nuevo desarrollo con alta presión de vapor, ha llegado a abrir una nueva era para los piretroides. Metoflutrina, uno de los piretroides prometedores, está recién sintetizado y producido por Sumitomo Chemical Co. Ltd., Osaka, Japón, que tiene una alta actividad insecticida y alta presión de vapor (Ujihara et al, 2004).

1.5. Resistencia a los insecticidas en mosquito

De acuerdo con Brown (1986), el DDT fue introducido por primera vez para el control de mosquitos en el año 1946. Sin embargo, ya en 1947 se produjeron los primeros casos de resistencia al DDT en *Aedes tritaeniorhynchus* y *Ae. Solicitans*. Desde entonces, más de 100 especies de mosquitos son reportados como resistentes a uno o más insecticidas, y más de 50 de estos son anofelinos (OMS 1992).

a) Mecanismo de resistencia a piretroides

En la actualidad, los piretroides representan más del 70% de los insecticidas domésticos. Los canales de sodio situados en las membranas axonales son los objetivos primarios de los piretroides. La unión de los piretroides y la consiguiente formación de contactos de unión entre los diferentes elementos de estabilizar el canal en un estado abierto, resulta en corrientes de cola de sodio prolongados (O'Reilly, 2006). Recientemente, Sugiura et al. (2008) han encontrado que después de la pulverización aérea, partículas más piretroides entran en los cuerpos de los insectos a través de sus espiráculos y alcanzan directamente el sistema nervioso central.

El uso de piretroides para la prevención de las picaduras de mosquitos se cree que es bio-racional, porque es seguro para los mamíferos. Los piretroides poseen actividad alta "efecto derribo" o "*knock-down*". Derribo, esta actividad se refiere a la acción paralizante de acción rápida que hace que los insectos sean incapaces de volar y les desorienta (Coats, 1994).

El problema más grave es que la resistencia a un único piretroide provoca una resistencia cruzada a todos los otros piretroides, incluyendo agentes desmontables. De hecho, muchos de los informes relativos a la resistencia a los piretroides han surgido después de la aplicación exitosa de los piretroides como agentes de control de vectores (Red Africana para Vector Resistencia 2005). La resistencia cruzada a agentes desmontables se considera uno de los problemas más graves, Brengues (2003).

La resistencia se define oficialmente por la Organización Mundial de la Salud como el "desarrollo de una habilidad en una cepa de un organismo para tolerar dosis de un tóxico que resultaría letal para la mayoría de los individuos de una población normal (susceptible) de las especies". La resistencia a los insecticidas, documentado en muchas especies de artrópodos, se está convirtiendo en un obstáculo para el control de plagas (Hassall 1990). La resistencia puede ser adquirido a través del comportamiento (evitar la exposición a dosis letales) o fisiológicas (sobrevivir a la exposición a la dosis letal) acciones. Este último se considera que es el dominante y es también la resistencia fisiológica más ampliamente estudiados, y se puede lograr por diversos mecanismos, tales como: penetración cuticular reducida, aumento de la excreción, o aumento desintoxicación o degradación (monooxigenasas del citocromo P450 y transferasas de glutatión metabólica), así como la alteración del sitio de destino (Mullin y Jeffrey 1992).

La resistencia a los piretroides se ha atribuido a factores metabólicos tales como elevada P450 monooxigenasa desintoxicación o mediada por la perturbación de la fosforilación de proteínas y la regulación del calcio intracelular (Berge y col. 1999). Otros estudios afirmaron que *kdr* moscas han reducido la densidad de los canales de

sodio derivados de su regulación por el insecticida. Sin embargo, una gran cantidad de evidencia ha establecido recientemente que la mutación en el gen de voltaje canales de sodio confiere el fenotipo *kdr* (Mullin y Jeffrey 1992).

b) Mecanismo de resistencia derribo (*kdr*)

La alteración del mecanismo de sitio de destino implica cambios estructurales en los receptores de insecticidas. Se considera uno de los aspectos más relevantes en los términos de la farmacología de los canales de sodio dependientes de voltaje de insectos, según lo revelado por el fenómeno *kdr*. El fenómeno de la *kdr* es la forma más común de la resistencia contra el DDT y los piretroides se han encontrado hasta ahora en diversos insectos dípteros, lepidópteros y dictiópteros (Mullin y Jeffrey 1992). Se expresa por una reducción evidente (10-500-veces) en la susceptibilidad del sistema nervioso de los insectos a los insecticidas (Mullin y Jeffrey 1992).

2. Marco teórico

2.1. Dengue como actualidad en El Salvador

a) Agente

Estos son *Arbovirus* de la familia *Flaviviridae*, similar al de la fiebre amarilla y tiene 4 serotipos, conocidos como DEN 1, DEN 2, DEN 3 Y DEN 4 (Peters W. & Pasvol G., 2007).

Estos son virus envueltos, por lo tanto sensibles a la destrucción por agentes físicos y químicos, de un diámetro de 40 – 50 nm, con cápside y genoma de RNA monocatenario, no segmentado, de polaridad positiva. Este funciona directamente como RNA mensajero policistrónico (MINSAL, 2011).

La identificación en prM, E y NS1 a la variedad de secuencias de RNA tiene una utilidad epidemiológica (Peters W. & Pasvol G., 2007).

La posibilidad de amplia variación, así como supervivencia de estos virus, serían menores que para otros virus RNA (Chiparelli H. & Schelotto F., 2011).

b) Vector

Los *Arbovirus* son transmitidos al hombre por vectores artrópodos, especialmente por los *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* y *aegypti*, siendo este último el más culpable por los casos de dengue en El Salvador. El *albopictus* tiene mucha distribución en Brasil, y es el responsable por mantener la enfermedad en Asia y ha sido difundido

en varios países. Ambos vectores pertenecen al subgénero *Stegomyia* (Guzmán M. García G. & Kourt G., 2008).

La especie *Aedes aegypti* son artrópodos de clase insecta, de orden Díptera, de familia *Culicidae* y la subfamilia *Culicianaes*, que incluye géneros de *Aedes* y *Culex*. Respecto a los huevos de estos últimos, no presentan los flotadores característicos de la subfamilia *Anophelinae*, transmisores de la malaria. Los de *Aedes* son depositados individualmente y los de *Culex* en grupos flotantes, y las larvas se ven suspendidas oblicuamente (Marti D., 2008).

El adulto de *Aedes aegypti*, principal transmisor de dengue y fiebre amarilla, tiene un dorso con zonas tipo bandas de color plateado o amarillo blanquecino sobre fondo negro. Las patas están bandeadas y el artejo último de las patas posteriores de estos mosquitos es blanco (Marti D. 2008).

c) Enfermedad del dengue

Respecto al dengue, en la mayoría de referencias bibliográficas, se divide en dos principales grupos: dengue clásico y dengue hemorrágico. Este último se presenta como complicación al choque por dengue (Gill G. & Beeching N., 2004).

Este es un síndrome clásico de fiebre-artralgia-rash, dolor retro ocular, fotofobia, linfadenopatía, y en un aproximado del 50% presentan un exantema (rash). Este último suele ser ruborizado y moteado, y otras manifestaciones hemorrágicas, como gingivorragia, epistaxis y hemorragia gastrointestinal (Gill G. & Beeching N., 2004).

La presencia de permeabilidad vascular es lo que característicamente distingue al dengue clásico del dengue hemorrágico (Eddleston M. et al., 2008). Otros pacientes particularmente pueden presentar diferentes grados de hemorragia o choque, y también complicaciones como encefalitis (Yuill T., 2011).

Después del periodo de incubación, la enfermedad comienza abruptamente y es seguida por 3 fases: fase febril (1° al 3° día), fase crítica (4° al 6° día) y fase de recuperación (7° al 9° día) (Benítez P. & Rodríguez C., 2009).

Esta enfermedad se desarrolla en más o menos 9 días, pero para algunos autores puede ser de 4 a 7 días. Todo depende de cómo se presenten las fases antes mencionadas. Respecto a la temperatura, esta se presenta de forma abrupta o espontánea: se eleva en las primeras horas y días alcanzando los 40°C, al tercer día inicia su descenso y se mantiene alrededor de los 37°C, en el 4º, 5º y 6º día (fase crítica) de evolución de la enfermedad (Eddleston M. et al., 2008).

Los eventos clínicos potenciales, por mencionar algunos, es una deshidratación en los primeros 3 días de fiebre, observándose cuidadosamente en el 4º, 5º y 6º día, ya que se puede presentar hemorragias o choque. Del 7mo día en adelante sucede una reabsorción de líquidos. Entre el 2º y 8º día, pueden presentarse fallos de órganos (o falla multiorgánica) (Eddleston M. et al., 2008).

Al mencionar algunos cambios de laboratorio, se puede mencionar que el hematocrito se puede elevar en la fase crítica, lo cual es un indicador para pensar fuertemente en un dengue hemorrágico. Asimismo, las plaquetas se pueden disminuir en un periodo de 24 horas y elevarse a las 48 horas posteriores. En relación a serología y virología, en la fase febril presenta una viremia la cual disminuye en relación a la temperatura. Y a partir del tercer día y considerándose alta al sexto y séptimo día en el que se puede detectar la IgM/G (Benítez P. & Rodríguez C. 2009).

d) Distribución mundial del dengue

El dengue se ha diseminado de una forma rápida desde la Segunda Guerra Mundial, y se puede mencionar que entra en la categoría de pandemia, ya que es una enfermedad epidémica que se extiende a muchos países (Wordreference, 2013).

Implícitamente casi todos los países entre los trópicos de Capricornio y Cáncer se encuentran afectados con esta enfermedad, ya que es la banda tropical del mundo y asimismo la temperatura le es de mucho favor para la reproducción del vector. El crecimiento poblacional en el área urbana es otro factor relacionado al aumento del dengue (Clark G., 2005).

De la misma forma, las pobres campañas de erradicación, el transporte intercontinental llevando consigo los huevecillos que llegaron a la zona urbana, y la poca higiene con los recipientes de aguas colectadas ha sido un medio propicio para su distribución mundial y principalmente en las áreas urbanas pobres de los países de zonas tropicales y subtropicales, que afecta a toda la población, principalmente a niñas y niños (Guzmán M. García G. & Kourt G., 2008).

e) Situación y actualidad del dengue en el país

En El Salvador, el dengue se ha presentado con alto número de episodios cada año, manifestándose principalmente como dengue clásico, pero también como dengue hemorrágico o grave. La alterna presencia de los 4 serotipos virales que han circulado en nuestro país, apuntan a la necesidad de intensificar las actividades de prevención y control del vector (MINSAL, 2011).

El número de casos en el país siempre ha ido en incremento; por ejemplo, para el año 2003, se notificaron 3,020 casos, circulando el serotipo DEN-4. Para el 2004, se reportaron 6,584 casos, y notificándose en circulación sólo el serotipo DEN-1. Para el 2005, se informaron de 8,378 casos, lo que alertó mucho a la población, y se notificó en circulación a los serotipos DEN-2 Y DEN-4. Para el 2006, los casos aumentaron a 8,927, circulando los cuatro serotipos. Para el 2007, se avisó de 6,215 casos y DEN-1 y DEN-2 como los serotipos circulantes. Para el 2008 y 2009, se reportaron 5,310 y 11,745 de casos sospechosos de dengue respectivamente (MINSAL, 2011).

Para el 2010, en El Salvador se repitió el fenómeno del año 2006, ya que circularon los cuatro serotipos y el número de casos de dengue fue muy elevado: 21,414. No obstante, aunque por el cambio de gobierno y por ende cambio de autoridades en el área de salud, se modificó la definición de caso sospechoso de dengue, lo que aumentó el número de censados, pero a pesar de esto los casos confirmados en relación a años anteriores aumentó significativamente.

En 2011, a la última semana epidemiológica, se han alcanzado 20,869 casos sospechosos, de los que se obtuvieron 19,567 muestras, de las cuales se han confirmado 7,469 casos, lo que es un 38% de positividad respecto a las muestras. De los casos sospechosos, 11,236 son del sexo masculino y 9,585 son del femenino. Para la fecha del 10 de noviembre de 2011 se tenían reportadas 7 muertes (MINSAL, 2011).

En 2012, según boletín N° 33 del periodo: 12 al 18 de agosto, se refiere 20,059 casos sospechosos de dengue, con un total de 5,390 casos confirmados, obteniendo un 26.87% de positividad, con 11 casos de dengue grave en la Región Occidental (6 en Sonsonate) y 8 casos en la Región Metropolitana. Se reportaron a Conchagua, Cuscatancingo y Armenia como los municipios con índice de casos positivos más altos para la semana epidemiológica 33 (MINSAL, 2012).

Para el 2013, según boletín de prensa N° 16 del periodo: 14 al 20 de abril, refiere 5,047 casos sospechosos de dengue, con un total de 1,378 casos confirmados, obteniendo un 27.30% de positividad. Con 1 muerte de adulto mayor en el departamento de Sonsonate, con un caso de dengue grave en Región Occidental y uno en la Región Oriental (MINSAL, 2013).

2.2. Mosquitos *Culex sp*

Culex es de la familia *Culicidae* de mosquitos hematófagos; muchas especies (sp) actúan como vectores de importantes enfermedades, como el virus del Nilo Occidental, malaria aviar, filariasis, encefalitis virales (japonesa, venezolana etc.), aunque algunas especies como *Culex pilosus* no son vectores de enfermedades

significativas para los humanos. Los *Culex sp.* depositan sus huevos en aguas lluvias y aguas estancadas con o sin vegetación, el ciclo de vida les toma 2 semanas y ocurre una metamorfosis completa (Ver anexo #5) (Vork and Connelly, 2012).

III. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

1. Justificación

Según la OMS, la resistencia se define como “desarrollo de una habilidad en una cepa de un organismo para la sdosis de un tóxico que resultaría letal para la mayoría de los individuos de una población normal (susceptible) de las especies”. Hasta el momento no se tiene un método definido para evaluar la susceptibilidad de los zancudos a los insecticidas con los que se realizan las campañas de control vectoriales, en especial para el dengue. Sí hay otros estudios realizados, por ejemplo al temefos (Amaya & Moreno, 2011).

La lucha por controlar la enfermedad del dengue se debe realizar desde diferentes ámbitos, tales como clínicos, ambientales y vectoriales. Es importante considerar la cantidad de insecticidas que son utilizados para el control de los vectores de enfermedades, y la resistencia que estos presentan. Este problema se ha difundido e incrementado en los últimos años y cada año son decenas de insectos los reportados como resistentes a varias clases de productos químicos (Chiparelli, 2011).

Kawada et al. (2008), entre otros, ha demostrado a través de bioensayos con larvas de mosquitos y con mosquitos adultos, que son formas efectivas de estudiar el comportamiento de los insectos ante las exposiciones de insecticidas. En sus estudios se habla de los piretroides. Hay otros estudios de los años 70 que demostraron que los zancudos presentaron cambios y resistencia ante la exposición del DDT, que en sus inicios fue considerado como la solución a la erradicación de la malaria (Hemingway, 1998). Fue debido a esa resistencia (susceptibilidad) presentada por los mosquitos que la OMS cambió sus campañas de “erradicación” a “control” de vectores.

Ante esto se hace necesario conocer la susceptibilidad de las larvas a la deltametrina, lo que se puede lograr a través del bioensayo que utilizamos en este estudio para el MINSAL. Un “control de foco” es realizar una fumigación con deltametrina contra el zancudo adulto en un área donde se ha reportado un caso confirmado de dengue. Conocer el comportamiento de las larvas de estos zancudos expuestos posterior a esta intervención de control se vuelve importante para el manejo mismo de estos vectores del dengue.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar la susceptibilidad a la deltametrina de las larvas de zancudos tomadas de las llantas, en las cinco zonas de El Salvador en el año 2013.

2.2. Objetivos específicos

- Describir el nivel de susceptibilidad de las larvas de zancudos, especialmente de *Aedes aegypti*, a la deltametrina en diferentes diluciones.
- Demostrar los índices de mortalidad y efecto de derribo por sitios de colección.
- Conocer las especies de larvas de zancudos recolectadas por zona.
- Exponer la metodología de la investigación para la realización de un estudio de mayor alcance territorial en el país.

IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

1. Tipo de investigación

La investigación realizada es experimental de tipo bioensayo, ya que se manipuló la variable independiente y además se conservó un control interno. Asimismo, se reporta una causa (la susceptibilidad de las larvas) al efecto de la exposición de la deltametrina (Sampieri, 2008).

2. Unidad de análisis

Larvas en su tercer y último estadio encontradas en llantas en las cinco regiones del país. Realizándoles el bioensayo y, posteriormente, reconocidas entomológicamente a qué especie de mosquito pertenecen.

3. Variables y medición

3.1. Definición de variables

Se considerará como variable independiente las diferentes concentraciones de deltametrina a la cual las larvas serán expuestas. Como variable dependiente, fue el tiempo que las larvas tardaron en manifestar su “knock-down” o efecto-derribo

a la exposición con la deltametrina. El efecto derribo se considera cuando las larvas disminuyen su movilidad, paralizan y se hunden en el recipiente del bioensayo.

3.2. Indicadores y su medición (ver Anexo # 1).

3.3. Instrumento Tabla de salida (ver resultados y Anexo #4).

3.4. Técnicas y procedimientos a emplearse en la recopilación de la información

Se recorrió la carretera Panamericana (CA1), principalmente, para cubrir las cinco regiones del país y se buscó llantas que se encontraran cerca de la carretera (a la orilla). Se tomaron en cuenta las llantas que contenían larvas y que la cantidad de larvas fuese suficiente para utilizarse y realizar el bioensayo (una mínima cantidad de 50 larvas). Se colectaron con cucharón y coladero, se almacenaron en recipientes de plástico con tapadera debida y respectivamente rotulados.

Se registró la locación con “AccurateGPS” y “Google Maps” (softwares de Blackberry para móviles), así como también se corroboró con “GPS test” (software de Blackberry para Playbook) con el fin de registrar la longitud y latitudes de los sitios de colección de la muestra, marcando las coordenadas geométricas. Asimismo, se reportó por observación la localidad contigua a la llanta encontrada.

La presencia de cloro del agua se verificó con pruebas colorimétricas (Ortotolidina), por recomendación en entomología. En este tipo de estudio el agua debe de estar libre de cloro ya que le da cierto grado de resistencia a las larvas. Ante la prueba, el agua no cambió a color rosado, que es indicador de cloro en el agua. Se midió con colorímetro graduado cada 0.5 de 0.5 a 2.0. Se realizó en cada sitio de colección con el agua de donde se recaudaron las larvas, así como una de control con agua potable del laboratorio.

3.5. Bioensayo para las larvas de mosquitos: efecto de derribo con larvas de mosquito

El bioensayo se realizó modificando el método de Kawada et al. (2009). Diez larvas en el tercer y cuarto estadio se colocaron en un recipiente plástico que contiene 10 ml de agua destilada. Un recipiente por cada concentración y de diferente sitio de colección, siendo un total de 25 recipientes por cada bioensayo. Con un mínimo de 2 bioensayos para verificar resultados. Un concentrado emulsionable de 2.555% de

deltametrina (K-Otrina) se diluyó 40 μ l con 100 ml de agua destilada para obtener una solución al 0.4%, lo que equivale a 1 ppm, similar a la concentración inicial de la formulación de la mezcla de los plaguicidas (Unidad de Control de Vectores, 2013). Asimismo, se utilizaron tres mediciones más con 40 μ l, 80 μ l y 120 μ l respectivamente del concentrado emulsionable de 2.555% de la K-Otrina y luego con pipeta graduada Hinotek, modelo P-1000 (con serie n° 130583). Con puntas descartables se aplicaron todas las diluciones directamente a los 10 ml de agua destilada con las larvas. Se observaron para ver el efecto-derribo, registrándose a los 5, 10, 20 y 30 minutos, así como la mortalidad 24 horas después.

Las larvas que se hundieron hasta el fondo del recipiente de plástico y no podían nadar, o flotar, o estaban paralizadas se consideraron como larvas derribadas o “knocked-down”.

El bioensayo se realizó sin el butóxido de piperonilo (PBO) que tratado en el agua en la concentración de 0.6 ppm (0.1 ppm en el caso de la cepa “Control” estándar) de antemano tratada con la piretrina es para conocer el efecto sinérgico de PBO (Kawada et al., 2009).

3.6. Descripción de metodología de identificación de las larvas estudiadas

Esta parte fue realizada por el entomólogo Antonio Leiva, del Sistema Básico de Salud Integral (SIBASI).

En los recipientes marcados según la zona colectadas, las muestras con larvas se encontraban en los últimos estadios larvarios. Se tomaba con la pipeta tipo gotero para colocarla en el portaobjeto y luego observarla al microscopio. Para detener el movimiento de las larvas que fueron objeto de estudio, se colocaron en un tubo de ensayo con agua y se le aplicó 5 gotas de alcohol para inmovilizarlas, luego se le tomaba de nuevo y se colocaba en una laminilla para observarla en un microscopio de luz binocular y se observaba al directo con la lente en panorámico.

El *Ae. aegypti* adulto es un pequeño insecto blanquinegro con rayas en el dorso y en las patas, se buscan espoletas en la parte del tórax y se observa el tamaño de sifón para ser identificada como *Ae. aegypti*, de lo contrario se identifica como *Culex sp.*

Otra forma de identificar las larvas fue al observar cómo se le colocaban en la superficie del agua para oxigenarse: las de *Ae. aegypti* siempre se colocaban en posición vertical, las del *Culex sp* se colocaban en posición inclinada. Ninguna se colocó paralela a la superficie del recipiente que la contenía, que hubiera correspondido al *Anófeles*.

4. Procesamiento y análisis

Una vez colectadas las muestras de las llantas en las cinco regiones del país, se realizó el bioensayo (ver técnicas y recopilación de la información). Esto se llevó a cabo en un laboratorio con mesas y microscopios, manteniéndose un ambiente controlado y las condiciones mínimas necesarias de procesar las larvas colectadas. Mientras se realizaba el bioensayo, se llenaba el instrumento con las anotaciones de los resultados para su análisis e interpretación. Se trabajó con el software de Word y Excel de office 2010, del paquete Windows® 7 Starter, para redacción y las gráficas del documento respectivamente.

V. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1. Análisis

Tabla 2. Identificación de sitios de tomas de muestra de larvas de zancudo según la región.

Región	Latitud	Longitud	Departamento / Sitio	Observación
Oriental (1)	13.556081	-88.42198	Carretera Panamericana, Km. 105 y 1/2	Llanta anuncio de entrada a "Car-Wash"
Paracentral (2)	13.603698	-88.58296	Carretera Panamericana, Km. 73 Arenera	Llanta abandonada a la orilla de la carretera, vivienda a 50 metros
Central (3)	13.823721	-89.273958	Carretera a San Juan Opico, Quezaltepeque, Km. 16	Llanta apilada en llantería
Occidental (4)	13.88744	-89.496829	Carretera Panamericana. El Congo, Santa Ana.	Llanta anuncio de reparación de llantas
Metropolitana (5)	13.727995	-89.220405	Boulevard Constitución, Calle Zacamil, Mejicanos	Llanta apilada en llantería

En la Tabla N° 2, las regiones se han registrado de oriente a occidente de la misma manera en que fueron recolectadas las muestras. La colección de las muestras se ha llevado en época lluviosa, que aumentó la probabilidad de encontrar aguas lluvias estancadas en las llantas inspeccionadas y, por ende, una mayor oportunidad de encontrar larvas de zancudos.

Por observación se registró la localidad a la cual la llanta se encontraba más cercana, siendo vivienda, taller (llantería) o lavado de autos (Carwash), habiéndose encontrado en las llanterías las muestras predominantemente de *Aedes aegypti*. En el resto de las zonas o regiones se encontró con la particularidad de ser mixtas, junto con larvas de *Culex sp.*

Ya que la posición geográfica de El Salvador en Centro América es casi horizontal y el recorrido realizado para la recolección de las muestras fue de Oriente a Occidente,

la variabilidad en la Latitud y Longitud no es muy marcada. Sin embargo, el recorrido se realizó para buscar las llantas donde esperábamos encontrar larvas, no estaba fijo a determinada carretera o zona, por lo que se obtuvieron en las llantas encontradas cantidades suficientes de larvas para este estudio.

Tabla 3. Efecto derribo en según concentración y tiempo de observación a los 5, 10, 20 y 30 minutos y mortalidad a las 24 horas, de las cinco regiones del país, 2013

Tabla 3.1. A los 5 minutos

Concentración \ Zona	Zona Oriental (1)	Zona Paracentral (2)	Zona Central (3)	Zona Occidental (4)	Zona Metropolitana (5)
Control	0	0	0	0	0
0.4µl	2	2	0	1	1
40µl	8	5	6	5	6
80µl	9	6	7	6	8
120µl	10	9	8	9	8

Tabla 3.2. A los 10 minutos

Concentración \ Zona	Zona Oriental (1)	Zona Paracentral (2)	Zona Central (3)	Zona Occidental (4)	Zona Metropolitana (5)
Control	0	0	0	0	0
0.4µl	2	2	2	2	2
40µl	9	7	8	6	8
80µl	10	9	8	9	8
120µl	10	10	10	10	10

Tabla 3.3. A los 20 minutos

Concentración \ Zona	Zona Oriental (1)	Zona Paracentral (2)	Zona Central (3)	Zona Occidental (4)	Zona metropolitana (5)
Control	0	0	0	0	0
0.4µl	6	6	4	4	4
40µl	9	7	9	6	9
80µl	10	9	9	10	9
120µl	10	10	10	10	10

Tabla 3.4. A los 30 minutos

Concentración \ Zona	Zona Oriental (1)	Zona Paracentral (2)	Zona Central (3)	Zona Occidental (4)	Zona Metropolitana (5)
Control	0	0	0	0	0
0.4µl	6	6	4	6	4
40µl	10	10	9	9	9
80µl	10	10	10	10	10
120µl	10	10	10	10	10

Tabla 3.5. A las 24 horas (Mortalidad)

Concentración \ Zona	Zona Oriental (1)	Zona Paracentral (2)	Zona Central (3)	Zona Occidental (4)	Zona Metropolitana (5)
Control	0	0	0	0	0
0.4µl	10	10	6	10	8
40µl	10	10	10	10	10
80µl	10	10	10	10	10
120µl	10	10	10	10	10

En el presente trabajo se pretende evaluar la susceptibilidad de las larvas en diferentes concentraciones de deltametrina, anotando a los 5, 10, 20 y 30 minutos y a las 24 horas.

A los primeros 5 minutos, según la evaluación de la susceptibilidad a la deltametrina a una concentración de 0.4µl, mostraron las larvas de las zonas Oriental, Central y Metropolitana una menor susceptibilidad, pero a una concentración de 120µl las que mostraron mayor susceptibilidad fueron las de las zonas Oriental, Paracentral y Occidental. A esta misma concentración, las de las zonas Central y Metropolitana mostraron una leve variabilidad.

A los 10 minutos, a una concentración de 80µl de deltametrina, todas las larvas mostraron mayor susceptibilidad, siendo más evidente en las de las zonas Paracentral y Occidental (90%), y en menor grado las de las zonas Central Y Metropolitana. A 120µl de concentración, 100% derribadas.

A los 20 minutos, el efecto de derribo (Susceptibilidad) no alcanzó el 100% en todas las de las zonas de Oriente a Occidente a una concentración de 40µl, ya que en esta concentración y tiempo de observación ya no se esperaban movilidad en las larvas.

A los 30 minutos, en la dilución de 40 μ l, la susceptibilidad fue del 100% en las de las zonas de Oriente y Paracentral y del 90% en las zonas Central, Occidental y Metropolitana. Notándose que en la mínima concentración de deltametrina (0.4 μ l) la susceptibilidad de las larvas se evidencia un promedio para todas las zonas o regiones del 50% de derribadas.

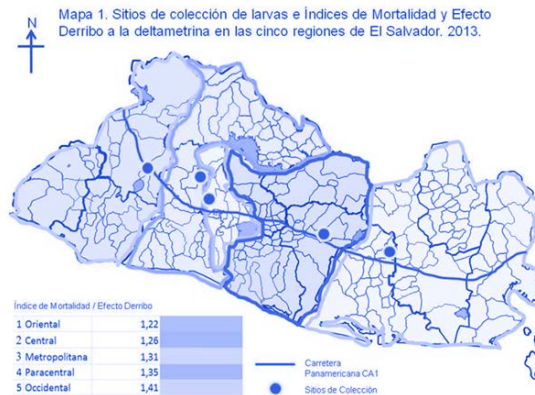
A las 24 horas, en la dilución de 0.4 μ l, las únicas larvas que aún mostraron menor susceptibilidad a la deltametrina fueron las de las zonas Central y Metropolitana.

El mapa puntualiza aproximadamente los sitios de colección de las muestras que se utilizaron para el bioensayo, y la mayoría de éstos se dieron a lo largo de la Carretera Panamericana (CA1). Asimismo detalla las zonas con los colores asignados al índice de porcentaje de mortalidad sobre el porcentaje del efecto derribo.

Las de la zona Oriental presentaron mayor efecto derribo y el 100% de mortalidad, por lo que se deduce que a mayor efecto derribo, mayor susceptibilidad.

Las de las zonas Paracentral, Central, Occidental y Metropolitana tienen una similitud en el efecto derribo, sin mayor diferencia. No así para la mortalidad donde las de las zonas Central y Metropolitana presentan una menor susceptibilidad a la deltametrina en una concentración de 0.4 μ l, ya que se observaron larvas en movimiento a las 24 horas, notándose más en las de la zona Central (60% mortalidad).

Gráfica 1. Bioensayo de larvas y deltametrina en relación al tiempo de observación, concentración de las cinco regiones del país, 2013.

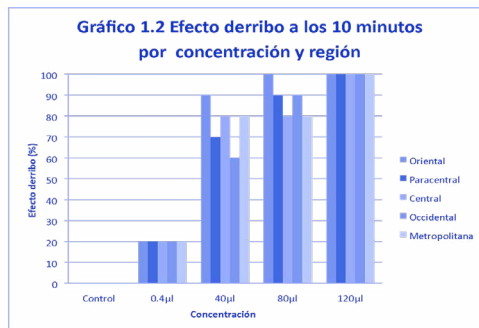


En el gráfico 1.1, en los primeros 5 minutos, en las diversas concentraciones de la deltametrina, se notó varios cambios de susceptibilidad de las larvas colectadas. En la concentración de deltametrina que estaba diluida (0.4 μ l), la susceptibilidad fue

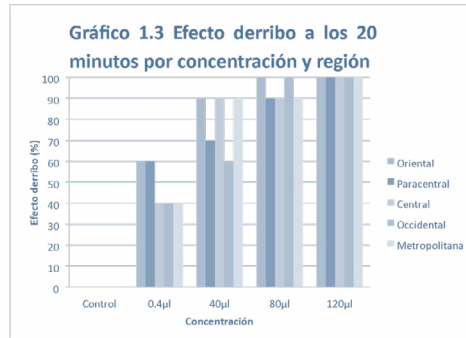
mínima, mientras que en las otras concentraciones, la susceptibilidad se mostró más evidente, especialmente en la concentración de 120µl donde las zonas de Oriente, Paracentral y Occidental se acercaron al 100%.



En la gráfica 1.2, a los 10 minutos de exposición de las larvas, en las diferentes concentraciones de deltametrina, el efecto de derribo se hizo evidente desde la concentración 40µl, llegando al 90% en las de la zona Oriental y al 80% en las zonas de las Central y Metropolitana. En la concentración de 80µl, la región Oriental presentó siempre mayor susceptibilidad y las zonas Paracentral y Occidental le siguieron. No así en la concentración de 120µl donde el 100% de las larvas presentaron el efecto de derribo.

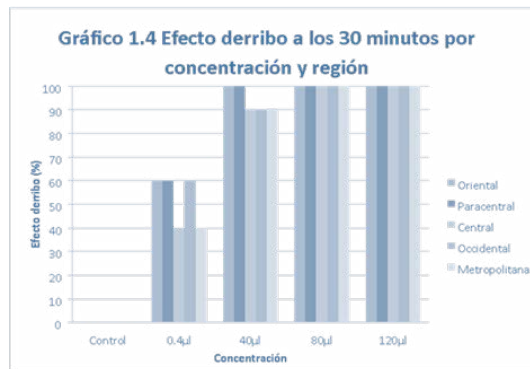


A los 20 minutos de exposición a las diferentes concentraciones de deltametrina, la conducta de las larvas, en lo que a movilidad se refiere, se nota que ante la concentración más alta todas las larvas tienen 0% de movilidad, pero ante la concentración inferior siguiente (80µl) las larvas de la región Oriental y Occidental muestran alta susceptibilidad. Igual respuesta en un menor grado en las otras tres regiones. Las de las zonas Oriental, Central y Metropolitana presentaron una movilidad del 10% para la concentración de 40µl, lo que para este tiempo y a esta concentración ya no era esperado.



A los 30 minutos de exposición a la deltametrina, la caída a 0% de movilidad de las larvas es muy notoria en todas las concentraciones más altas (80µl y 120µl), no así en la mínima concentración diluida donde el efecto de derribo es casi del 50%, como promedio para todas las zonas.

A las 24 horas de exposición a la deltametrina, de las larvas recolectadas en las



concentraciones donde ésta se encuentra sin diluir, la movilidad es de 0%. Lo mismo ocurre en la concentración de deltametrina de 0.4µl de las de las zonas Oriental, Paracentral y Occidental, persistiendo movilidad del 40% y 20% en las de las Zonas Central y Metropolitana respectivamente, coincidiendo con ser las muestras de las zonas que solamente se recolectaron larvas de *Aedes aegypti* (ver Tabla 4).

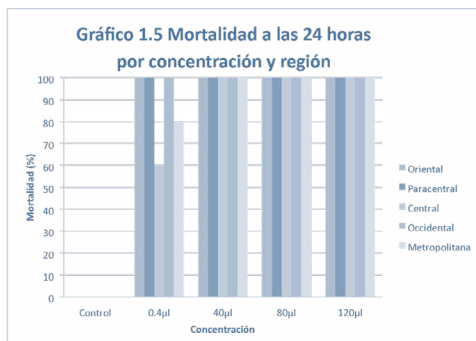


Tabla 4. Descripción de larvas estudiadas por zona del país, 2013

Zona	Oriental (1)	Paracentral (2)	Central (3)	Occidental (4)	Metropolitana (5)
Muestra	<i>Aedes aegypti</i> / <i>Culex sp.</i>	<i>Aedes aegypti</i> / <i>Culex sp.</i>	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i> / <i>Culex sp.</i>	<i>Aedes aegypti</i>

En cuanto a la descripción de las larvas recolectadas por zona, se encontraron en las de las zonas Oriental, Paracentral y Occidental larvas de *Aedes aegypti* y *Culex sp.* Y en las recolectadas en las zonas Central y Metropolitana se encontraron sólo larvas de *Aedes aegypti*, teniendo en común que se localizaron en el perímetro de llanerías.

Tabla 5. Presencia de cloro en el agua de las muestras colectadas, en las cinco zonas del país, 2013.

Zona	Oriental (1)	Paracentral (2)	Central (3)	Occidental (4)	Metropolitana (5)
Muestra	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Control	Positivo	Se realizó en el laboratorio con agua potable, lo que verificó que el reactivo era confiable a la presencia de cloro.			

Respecto la presencia de cloro en las aguas que fueron analizadas con el Kit colorimétrico (Ortotolidina) de los sitios de colección de las larvas encontradas en las 5 zonas, fue negativo y el control que se realizó con agua potable directamente del chorro fue positivo al cambio de coloración, verificando la presencia de cloro.

2. Discusión de resultados

Según Bisset 2005, es recomendable realizar cuidadosas mediciones de la susceptibilidad periódicamente después y durante todo el desarrollo del programa de control vectorial.

Kawada et al. (2009), en su estudio “Nationwide Investigation of the Pyrethroid Susceptibility of Mosquito Larvae Collected from Used Tires in Vietnam”, demostró que los bioensayos realizados con larvas de mosquitos y los estudios de mosquitos adultos, en particular con diferentes colonias de *Aedes aegypti*, mostraron una correlación relativamente alta de la susceptibilidad de ambos al ser expuestos a componentes derivados de los Piretroides, enfatizando que los estudios de susceptibilidad de larvas tienen una muy alta similitud a los estudios realizados en mosquitos adultos (Ver anexo 7). Asimismo, Cáceres L, Rovira J, García A, et al. (2013) hacen uso de la deltametrina en estudios con larvas de *Aedes aegypti*.

Ayala et al. (2008) presentan un estudio de respuesta conductual del *Aedes aegypti* frente a adulticidas piretroides de uso frecuente en Salud Pública, utilizando concentraciones de aproximadamente 10 veces de diferencia entre una y la otra para dicho estudio, similar a la variación de las concentraciones mínima y siguiente de este estudio. Cáceres L, Rovira J, García A, et al. (2013), diferente a este estudio, criaron en laboratorios las cepas colectadas de *Ae. Aegypti*, manteniéndolas con temperatura y humedad controlada, a las cuales posteriormente realizaron pruebas de bioensayo de sensibilidad a deltametrina a la primera generación. Y asimismo, Arunima Sahgal et al. (1994) presentan un estudio bioquímico que hace uso de generaciones de larvas de tres especies de mosquitos, entre las cuales están *Ae. aegypti* y *Culex*, con la misma similitud de este estudio del uso de larvas y de la deltametrina.

En el presente trabajo se encontró una baja susceptibilidad y mortalidad de las larvas en estudio a la deltametrina en diferentes concentraciones, en particular a 40µl/100 ml (0.4µl); igualmente en el estudio realizado por Rodríguez et al. (2003), se demostró una resistencia cruzada a piretroides, principalmente a deltametrina, producto de la selección con malatión. De la misma manera, Cáceres L, Rovira J, García A, et al. (2013) encontraron en su estudio que ocho cepas de *Ae. aegypti* resultaron sensibles a los insecticidas, entre los cuales se encontraba la deltametrina; asimismo, hallaron que una de sus cepas era resistente a la deltametrina en forma de larva y no en forma adulta. Con diferentes resultados a los anteriores, en la década de los noventas el estudio realizado por Arunima Sahgal et al. (1994) reportó la resistencia de Hidrólisis de Éster de piretroides como un mecanismo predominante para las larvas de *Culex quinquefasciatus*, pero no para las de *Ae. aegypti*. De la misma manera, el estudio de Santacoloma V L. et al. (2010) reportó que en cuanto

a los piretroides, se encontró resistencia generalizada a lambdacialotrina, pero no a deltametrina.

Todo lo anterior contribuye a evidenciar y respaldar el presente trabajo, en el sentido de que es factible un estudio que busca evaluar la susceptibilidad de larvas de mosquitos a la deltametrina.

VI- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Conclusiones

La susceptibilidad manifestada con el efecto derribo, “*knock-down*”, a la deltametrina de las larvas de zancudos recolectadas en las cinco zonas del país demostró ser similar para todas, marcando una leve diferencia en las zonas de las Central y Metropolitana.

Las diferentes diluciones utilizadas en el bioensayo fueron eficaces en el efecto de derribo, demostrando una proporcionalidad directa, que a mayor concentración de deltametrina mayor susceptibilidad de las larvas recolectadas.

Las de las zonas Metropolitana y Central mostraron menor mortalidad y taxonómicamente presentaron únicamente larvas de *Ae. aegypti*, haciendo ver que el vector del dengue es menos susceptible a las concentraciones acá utilizadas, presentando un 80% y 60% respectivamente de mortalidad a la mínima concentración aplicada.

Entomológicamente se identificaron dos tipos de larvas las cuales, a través del microscopio y por sus características morfológicas (taxonómicas), se identificaron como *Aedes aegypti* y *Culex sp.* En las de las zonas Oriental, Paracentral y Occidental se encontraron de ambos tipos de larvas, siendo la presencia del *Culex sp* un elemento que complica los hallazgos en estas zonas; y en la zonas Central y Metropolitana sólo *Aedes Aegypti*.

En el presente documento, las zonas están siendo representadas por la colección de larvas de una localidad por zona, no obstante la metodología de este trabajo es de utilidad por la posibilidad de realizar estudios de país que conlleven a la representación parcial o completa de municipios, departamentos, SIBASIS o regiones de los cuales se quiera conocer la susceptibilidad de las larvas, en especial de *Ae. aegypti* con el piretroide utilizado como control vectorial.

2. Recomendaciones

Hacer estudios de susceptibilidad de los mosquitos en su fase acuática para detectar un posible indicio de resistencia a la deltametrina en las áreas que presenten mayor alerta por el dengue o por detección de casos de dengue (control de focos).

Se propone usar la prueba de bioensayo utilizada en esta investigación para los entomólogos de los SIBASI como una herramienta de vigilancia epidemiológica del dengue, conociendo la susceptibilidad a la deltametrina en las fases acuáticas del vector *Ae. aegypti*.

Llevar a cabo estudios de bioensayo colectando muestras de origen domiciliario con el fin de evidenciar grados de susceptibilidad de las larvas del *Ae. aegypti* a la deltametrina, y poder así representar, a través de un mapa del país, los resultados y correlacionarlo con los casos de dengue por municipio, departamento, SIBASI o región.

La colección de muestras domiciliarias pueden ser colectadas cuando se ejecutan pesquisas por los promotores de salud e inspectores de saneamiento ambiental o en los “controles de foco” que realiza el MINSAL.

FUENTES CONSULTADAS

- Acosta-Bas C. & Gómez-Cordero I. (2005) Biología y métodos diagnósticos del dengue. Medigrafic Artimisa. La Habana, Cuba. Rev. Biomed 2005; 16:113-137.
- African Network for Vector Resistance. (2005). WHO.
- Aguilar A., Amin N. & Pérez E. (2003) Vacunas contra el virus dengue: desarrollo histórico. Instituto Finlay. Habana, Cuba. VacciMonitor. Año 12 Nº. 2.
- Andrias, O. & O'Reilly (2006) Chemical Structure of DDT and some Pyrethroids. Biochemical Journal. Vol. 396, pp. 255-263. <http://www.biochemj.org/bj/396/0255/bj3960255.htm> [Viewed 05/02/2013].
- Arunima Sahgal et al. (1994). Microplate assay of elevated esterase activity in individual pyrethroid-resistant mosquitoes. J. Biosci., Vol. 19, Number 2, pp 193-199.
- Ayala et al. (2008) Respuesta conductual de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) frente a piretroides de uso frecuente en Salud Pública. Rev. Peru Med Exp Salud Pública, 25 (1).
- Ayala R. & Moreno M. (2011) Resistencia al temefós por presión de selección en una población de *Aedes aegypti* de El Salvador. Minerva, Revista en Línea. CIC-UES, El Salvador. Vol. 2 (1):1-9.
- Bang, Y.H., Tonn R.J., & Punurai P. (1969) Insecticide susceptibility and resistance found in 14 strains of *Aedes aegypti* collected from Bangkok-Thonburi, Thailand. WHO/Vector Biol. Control/ Vol. 69. p. 117.

- Benítez P. & Rodríguez C. (2009) Lineamientos actualizados para el manejo de casos de dengue. 1ra ed. San Salvador, El Salvador. Editorial del Ministerio de Salud.
- Bergé, J-B. et al. (1999) Cytochrome P450 monooxygenases and insecticide resistance in insects. in: Denholm, I., Pickett, J.A. & Devonshire, A.L. (Ed.) *Insecticide Resistance: from Mechanisms to Management*. Harpenden, UK: CABI Publishing in association with The Royal Society.
- Betzana M. & Zambrano-Mora. (2010) Estado actual de las vacunas contra el dengue. *Perspectivas. Rev Biomed* 2010; 21:197-211. Bliss, C. I. (1934) The method of probit. *Science*. Vol. 79. pp. 38-39.
- Bregues, C. et al. (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*. Vol. 17. pp. 87-94.
- Brown, AWA. (1986) Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* Vol. 2. pp. 123-140.
- Bruce-Chwatt, L.J. (1985) *Essential Malariology*. New York: John Wiley & Sons.
- Cáceres L, Rovira J, García A, et al. (2013) Determinación de la sensibilidad a insecticidas organofosforados, carbamato y piretroides en poblaciones de *Aedes aegypti* Linneaus, 1762 (Diptera: Culicidae) de Panamá. *Biomédica* 33 (Supl. 1) pp. 70-81.
- Casida, J.E. (1980) Pyrethrum Flowers and Pyrethroid Insecticides. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 34. pp. 189-202.
- Casida, J.E. et al. (1983) Mechanism of Selective Action of Pyrethroid insecticides. *Annual Reviews. Pharmacology, Toxicology*. Vol. 23, pp. 413-438.
- Chen et al. (2010) Lipidated Vaccine Against dengue Virus Infection. United States. Patent Application Publication. US 2010/0303849 A1.
- Chiparelli H. & Schelotto F. (2011) Dengue una enfermedad emergente muy cerca de nuestro país. *INFECTO* Sitio para la formación médica. (En línea) sf. (Referido en 5 de junio, 2013) Disponible en: URL: <http://www.bvsde.paho.org/bvsasv/matedu/Dengue2/den6290.htm>.
- Clark G. (2005) Situación Epidemiológica del Dengue en América. Desafíos para su vigilancia y control. *Salud Pública de México*, año 1995/vol. 37, número 1 (suplemento) Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, México. pp. 5-11.
- Coats, J.R. (1994) Risks from Natural versus Synthetic Insecticides. *Annual Reviews. Entomology*. Vol. 39. pp. 489-51.
- Congreso de Epidemiología. (2007) Situación de país El Salvador. (Presentación ppt en CD-ROM). Laboratorio central Dr. Max Bloch.
- Curtis, C.F. et al. (1998) Can anything be done to maintain the effectiveness of pyrethroid impregnated bed nets against malaria vectors? in: Denholm, I., Pickett, J.A. & Devonshire, A.L. (Ed.) (1999) *Insecticide Resistance: from Mechanisms to Management*. Harpenden, UK: CABI Publishing in association with The Royal Society.

- Davies, T.G.E. et al. (March 2007) DDT, Pyrethrins, Pyrethroids and Insect Sodium Channels. *IUBMB Life*. Vol. 59, No 3, pp. 151 – 162.
- Denholm, I., Pickett, J.A. & Devonshire, A.L. (Ed.) (1999) *Insecticide Resistance: from Mechanisms to Management*. Harpenden, UK: CABI Publishing in association with The Royal Society.
- Dethier, V.G. et al. (1960) The Designation of Chemicals in Terms of the Responses They Elicit from Insects. *Journal of Economic Entomology*. Vol. 53. pp. 134-136.
- Dong, K. (1997) A single amino-acid change in the para sodium-channel protein is associated with knockdown-resistance (KDR) to pyrethroid insecticides in German-cockroach. *Biochem. Mol. Biol.* Vol. 27. pp. 93-100.
- Eddleston M. et al. (2008) *Oxford Handbook of Tropical Medicine*. 3ra edición. Oxford, New York, USA. Oxford University Press.
- Elder, J. & Lloyd, L.S. (2007) *Achieving Behaviour Changes for Dengue Control: Methods, Scaling-up, and Sustainability*. Scientific Working Group. Geneva, Switzerland: WHO TDR/SWG/08.
- Elsa B. Damonte. (2006) *Dengue: Un viejo y nuevo desafío para la quimioterapia antiviral*. Laboratorio de Virología. Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. Capital Federal. Argentina.
- Environmental Health Fact Sheet (June 2007) Illinois Department of Public Health. <http://www.idph.state.il.us/envhealth/factsheets/pyrethroid.htm> [Viewed 2013/02/15].
- Farnham, A. et al. (1987) Characterization of the structure activity relationship of kdr and two variants of super-kdr to pyrethroids in the housefly (*Musca domestica* L.). *Pestic. Sci.* Vo. 19. pp. 209-220.
- Gill G. & Beeching N. (2004) *Tropical Medicine*. 5ta edición. Malden, Massachusetts, USA. Blackwell Publishing.
- Gordon, D. (1997) Sodium channels as targets for neurotoxins: mode of action and interaction of neurotoxins with receptor sites on sodium channels. in: *Toxins and Signal Transduction*, ed. Y Gutman and P Lazarowicz, pp. 119–49. Amsterdam: Harwood.
- Guzmán M. García G. & Kourt G. (2008) Dengue y fiebre hemorrágica del dengue, un problema de salud mundial. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”. *REV CUBANA MED TROP* 2008;60(1):5-16.
- Hassall, K. (1990) *The Biochemistry and Uses of Pesticides*. Weinheim: VCH.
- Hemingway, J. et al. (1989) Mechanisms of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) from Puerto Rico. *Bull. Entomol. Res.* Vol. 79. pp. 123–30.
- Hemingway, Janet. t al. (1998) The role of gene splicing, gene amplification and regulation in mosquito insecticide resistance. in: Denholm, I., Pickett, J.A. & Devonshire, A.L. (Ed.) (1999) *Insecticide Resistance: from Mechanisms to Management*. Harpenden, UK: CABI Publishing in association with The Royal Society.
- Hemingway, J. & Ranson, H. (2000) Insecticide Resistance in Insect Vectors of Human Disease. *Annual Reviews. Entomol.* Vol. 45. pp. 371-391.

- Hemingway, J. et al. (2004) The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. ELSEVIER. *Insect Bio. & Molecular Bio.* Vol. 34. pp. 653-665.
- Hoy, M.A. (2003) *Insect Molecular Genetics An Introduction to Principles and Applications*. 2nd Ed. USA: Academic Press.
- Hung, L.Q. et al. (2002) Control of malaria: a successful experience from Viet Nam [sic]. *Bull. WHO.* Vol. 80. pp. 660-666.
- Kawada, H. et al. (2009) Nationwide investigation of the Pyrethroid Susceptibility of Mosquito Larvae Collected from Used Tires in Vietnam. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. in press.
- Kennedy, J.S. (1947) The excitant and repellent effects on mosquitoes of sub-lethal contacts with DDT. *Bulletin of Entomological research*. Vol. 37. pp. 593-607.
- Maclver, D.R. (1964) Mosquito coils Part II. Studies on the action of mosquito coil smoke on mosquitoes. *Pyrethrum Post*. Vol. 7. pp. 7-14.
- Malcolm, CA., & Wood, RJ. (1982) Location of a gene conferring resistance to knockdown by permethrin and bioresmethrin in adults of the BKPM3 strain of *Aedes aegypti*. *Genetica*. Vol. 59. pp. 233-237.
- Marti D. (2008) *Especies de Culicidae de Misiones*. Universidad Nacional de Misiones / CONICET. (En línea) 2008. (Referido el 10 de julio, 2013) Disponible en: URL: http://exactasunam.dyndns.org/~museovirtual/index.php?option=com_content&task=view&id=36&Itemid=31
- Mingxin, B. (Ed.) (2007) Vietnam reports more Dengue fever cases. http://news.xinhuanet.com/english/2007-09/24/content_6784831.htm [viewed 2013/01/20].
- Ministerio de Salud. (2011) Reporte epidemiológico de dengue. El Salvador. (En línea) [Salud.gob.sv](http://www.salud.gob.sv) (Referido el 11 de julio de 2013) Disponible en: URL: http://www.salud.gob.sv/archivos/vigi_epide2011/Dengue2011/Dengue52_2011-sig.pdf
- Ministerio de Salud. (2012) Reporte epidemiológico de Dengue. El Salvador. (En línea) [Salud.gob.sv](http://www.salud.gob.sv) (Referido el 5 de septiembre de 2013) Disponible en: URL: http://www.salud.gob.sv/archivos/vigi_epide2012/dengue2012/dengue33_2012-sig.pdf
- Ministerio de Salud. (2013) Reporte epidemiológico de Dengue. El Salvador. (En línea) [Salud.gob.sv](http://www.salud.gob.sv) (Referido el 5 de septiembre de 2013) Disponible en: URL: http://www.salud.gob.sv/archivos/vigi_epide2013/dengue2013/dengue16_2013.pdf
- Mourya, D.T., Hemingway J., & Leake C.J. (1993) Changes in enzyme titres with age in four geographical strains of *Aedes aegypti* and their association with insecticide resistance. *Med. Vet. Entomol.* Vol. 7. pp. 11-16.
- Mullin, C.A. & Jeffrey G.S. (Eds) (1992) *Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance*. Washington DC: Am. Chem. Soc.
- Nam NV, de Vries PJ, Toi LV, Nagelkerke N (2005) Malaria control in Vietnam: the Binh Thuan experience. *Trop Med Int Hlth* Vol. 10. pp. 357-365.

- Narahashi, T. (1996) Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacol. Toxicol.* Vol. 78. pp. 1–14.
- Nau, C. & Wang, G.K. (2004) Interactions of local anesthetics with voltage-gated Na⁺ channels. *J. Membr. Biol.* Vol. 201. pp. 1–8.
- O'Reilly et al. (2006) Modelling insecticide binding sites at the voltage-gated sodium channel. *Biochemical Journal.* Vol. 396. pp. 255-263.
- Orellano PW, Pedroni E. (2008) Análisis costo-beneficio del control de vectores en la transmisión potencial de Dengue. *Rev Panam Salud Pública.* 2008;24(2):113–9.
- Peters W. & Pasvol G. (2007) *Atlas of Tropical Medicine and Parasitology.* 6ta edición. London, United Kingdom: Elsevier Mosby.
- Report of the 5th WHOPES Working Group meeting. (2001) Review of: OLYSET NET, BIFENTHRIN 10% WP. WHO/CDS/WHOPES.2001.4.
- Richard, H. et al. Why are there so few resistance-associated mutations in insecticide target genes? in: Denholm, I., Pickett, J.A. & Devonshire, A.L. (Ed.) (1999) *Insecticide Resistance: from Mechanisms to Management.* Harpenden, UK: CABI Publishing in association with The Royal Society.
- Rodrigues H. S. et al. (2011) Optimal Control of a Dengue epidemic model with vaccination. *Portugal. Math.OC.* 15 agosto 2011.
- Rodríguez, M M et al. (2003). Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malation. *Rev. Cubana Med Trop [online].* Vol.55, n.2, pp. 105-111. ISSN 1561-3054.
- Santacoloma V L. et al. (2010) Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. *Rev. Panam Salud Publica [online].* Vol.27, n.1, pp. 66-73. ISSN 1020-4989.
- Sugiura, M. (2008) Insect spiracle as the main penetration route of pyrethroids. *Insecticide Biochemistry and Physiology.* Vol. 91. pp. 135-140.
- Schechter, M.S. et al. (1982) Action of Pyrethroid Insecticides on the Vertebrate Nervous System. *Journal American Chemical Society.* Vol. 71 pp. 3165-3173.
- Service, M.W. (2004) *Medical Entomology for Students.* UK: Cambridge University Press. pp. 51-78.
- Ujihara, K. et al. (2004) Metofluthrin a potent new synthetic pyrethroid with high vapor activity against mosquitoes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* Vol. 68. pp. 170-174.
- Unidad de Control de Vectores. 2013. *Formulación de Plaguicidas.* Dirección de Control y Vigilancia Epidemiológica. MINSAL.
- Valencia-Mendoza. Et al. (2011) Costo-efectividad de prácticas en salud pública: revisión bibliográfica de las intervenciones de la Iniciativa Mesoamericana de Salud. *Salud Pública Mex* 2011; 53 supl 3:S375-S385.

Van Emden H.F. & Service. M.W. (2004). *Pest and Vector Control*. Cambridge, London: Cambridge University Press.

Villar L. A. (2001) Retos para la evaluación de las vacunas contra el Dengue. XV congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. *Biomédica* 2011; 31(sup.3):3-315.

Vork D. & Connelly C. R. (2012) *Entomology and Nematology*. *Culex pilosus*. EENY-521 Universidad de Florida.

Wang, S.Y. et al. (2006) How batrachotoxin modifies the sodium channel permeation pathway: Computer modeling and site-directed mutagenesis. *Mol. Pharmacol.* Vol. 69. pp. 795

Williamson, M.S. et al. (1996) Identification of mutations in the housefly para type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.* Vol. 252. pp. 51-60.

WHO (1992) Vector resistance to pesticides. Fifteenth report of the expert committee on vector biology and control. in: WHO Tech. Rep. Ser. 818:1-55

Yanola, J. et al. (2008) A novel point mutation in the *Aedes aegypti* voltage-gated sodium channel gene associated with permethrin resistance. The 2nd International Conference on Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever, Oct. 15-17, 2008, Phuket, Thailand.

Yuill T. (2011) *Virosis Emergentes*. XV congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Colombia. *Biomédica* 2011;31 (sup.3):3-315.

Zaim, M. & Jambulingam, P. (2007) *Global Insecticide Use for Vector-Borne Disease Control*. 3rd Ed. World Health Organization.

Zlotkin, E. (1999) The Insect Voltage-Gated Sodium Channel as Target of Insecticides. *Annual Review*. Vol. 44. pp. 429-455.

ANEXOS

Anexo 1.

VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Variables	Definición	Instrumento	Items (Particularidades)	Valor
Variable independiente	Las diferentes concentraciones de deltametrina a la cual las larvas serán expuestas.	Tabla de salida	Concentración 1: 40 µl de deltametrina al 2.555% en 100 ml de agua destilada; concentración 2: 40 µl de deltametrina al 2.555%; concentración 3: 80 µl de deltametrina al 2.555%; concentración 4: 120 µl de deltametrina al 2.555%.	Nada que reportar
Variable dependiente	El tiempo que las larvas manifiesten su “knock down” o efecto de derribo ¹ a la exposición con al deltametrina.	Tabla de salida	Marcar lo observado de las larvas a los 5 min, 10 min, 20 min, 30 min y a las 24 horas la mortalidad.	Marcar el número de larvas que se hunden y pierden movilidad

¹ El efecto derribo se considera cuando las larvas disminuyen su movilidad y se hunden en el recipiente del bioensayo.

Anexo 2.

Cronograma de actividades

Actividad	2012					2013								
	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun-Jul	Ago	Sept	Oct
Revisión bibliográfica														
Diseño del instrumento														
Completar anteproyecto														
Asignación del asesor														
Aprobación del asesor														
Colección de datos														
Introducción de datos														
Análisis de datos														
Discusión, conclusiones y recomendaciones														
Entrega de reporte final para revisión														

Anexo 3.
Presupuesto en dólares de EE.UU. El Salvador, 2013

<u>Encabezado</u>	<u>Números/Cantidad</u>	<u>Costo por unidad</u>	<u>Total Costo</u>
Recursos Humanos			
Investigador principal	2	875.00**	1750.00
Introducidos de datos	2	0.00	0.00
Entomólogo	1	0.00	0.00
Estadístico	1	200.00*	200.00
Subtotal		1,075.00	1,950.00
Materiales			
Papel Bond (8 1/2 x 11")	(500 hojas x3)	5.08	15.24
Lápiz/Lapicero	2/ Nº2	2.65	5.30
Materiales para imprimir (Color laser printers)	1 Impresor laser and toners Samsung CLP-320N	270.00	270.00
Comunicación (internet and teléfono)	Wireless USB internet. Servicio por contracto, basado en \$24.99 por mes por 4 meses.	24.99	99.96
Materiales de oficina	(Folders etc.)	25.00	25.00
Brochure y fotocopias	Todos gastos incluidos	150.00	1,350.00
Subtotal		477.72	1,765.50
Gran Total		1,552.72	3,715.50

*Pendiente

**Pago Seminario especialización

Anexo 4.

Instrumento de control de bioensayo con larvas de zancudo recolectados en llantas encontradas en la carretera, en las cinco regiones del país, 2013

Cuadro de bioensayo con larvas y **deltametrina** a los **5 minutos**

Concentración	Oriental	Paracentral	Central	Occidental	Metropolitana
0.4µl 1					
40ml 2					
80ml 3					
120ml 4					

Cuadro de bioensayo con larvas y **deltametrina** a los **10 minutos**

Concentración	Oriental	Paracentral	Central	Occidental	Metropolitana
0.4µl 1					
40ml 2					
80ml 3					
120ml 4					

Cuadro de bioensayo con larvas y **deltametrina** a los **20 minutos**

Concentración	Oriental	Paracentral	Central	Occidental	Metropolitana
0.4µl 1					
40ml 2					
80ml 3					
120ml 4					

Cuadro de bioensayo con larvas y **deltametrina** a los **30 minutos**

Concentración	Oriental	Paracentral	Central	Occidental	Metropolitana
0.4µl 1					
40ml 2					
80ml 3					
120ml 4					

Cuadro de bioensayo con larvas y **deltametrina** a los **24 horas mortalidad**

Concentración	Oriental	Paracentral	Central	Occidental	Metropolitana
0.4µl 1					
40ml 2					
80ml 3					
120ml 4					

Fuente Primaria.

Anexo 5.
Ciclos de vida *Aedes aegypti* y *Culex sp.*



Anexo 6.
Control de cloro

