UNIVERSITAT DE BARCELONA

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES

Vicerrectorado

Centro Psicopedagógico y de Investigación en Educación Superior

MAESTRIA EN MEDICINA TROPICAL Y SALUD INTERNACIONAL DE LAS BIOREGIONES BOLIVIANAS

"EVALUACIÓN DEL EFECTO PREDADOR DE LAS LARVAS DEL *TOXORHYNCHITES* (DÍPTERA: CULICIDAE), EN LAS POBLACIONES DE LARVAS DE *AEDES AEGYPTI* EN EL MUNICIPIO DE PALOS BLANCOS, SUD YUNGAS DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ-BOLIVIA EN LA GESTION 2014"

Tesis presentada a la Universitat de Barcelona en convenio con la Universidad Mayor de San Andrés para la obtención del grado de Master en Medicina Tropical y Salud internacional

Maestrante: Jhonny Ramos Quispe

Auspicio: AGENCIA DE COOPERACIÓN ESPAÑOLA

La Paz - Bolivia

2015

EVALUACIÓN DEL EFECTO PREDADOR DE LAS LARVAS DEL *TOXORHYNCHITES* (DÍPTERA: CULICIDAE), EN LAS POBLACIONES DE LARVAS DE *AEDES AEGYPTI* EN EL MUNICIPIO DE PALOS BLANCOS, SUD YUNGAS DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ-BOLIVIA EN LA GESTIÓN 2014.

Tesis presentada a la Universitat de Barcelona en convenio con la Universidad Mayor de San Andrés para la obtención del grado de Master en Medicina Tropical y Salud Internacional de las bio-regiones bolivianas.

Maestrante: Jhonny Ramos Quispe

Tutor: Dr. Carlos Ascaso Terren

La Paz - BOLIVIA

2015

CARTA DE COMPROMISO PARA CEDER DERECHO DE PUBLICACION A LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Al presentar esta tesis como uno de los requisitos previos para la obtención del Grado Académico de Magister en Medicina Tropical y Salud Internacional de la Universidad de Barcelona previo convenio con la Universidad Mayor de San Andrés, autorizo al Departamento de Salud Pública de la U.B. o a la Biblioteca de la Universidad, para que se haga de esta tesis un documento disponible para su lectura según las Normas de la Universidad.

Asimismo manifiesto mi acuerdo en que utilice como material productivo, dentro del Reglamento de Ciencia y Tecnología, (convenio interuniversitario) siempre y cuando esta utilización no suponga ganancia económica, ni potencial.

También cedo a la Universidad de Barcelona los derechos de publicación de esta Tesis; o de parte de ella, manteniendo mis derechos de autor, hasta un periodo de 30 meses después de su aprobación

JHONNY RAMOS QUISPE

La Paz, Julio 2015

AGRADECIMIENTO

A la Cooperación Española, por haberme permitido llegar a la culminación de la maestría, por otorgarme las facilidades para estudiar.

Al Ministerio de Salud por darnos la oportunidad de participar en esta maestría.

Al CEPIES Por abrirnos la puerta a los médicos de zonas Rurales.

Al equipo de la Universidad de Barcelona, a su director, Dr. Carlos Ascaso Terren por todo el apoyo, motivación, compartiendo sus conocimientos que inspiran respeto y gran admiración.

A los Docentes Nacionales, Latinoamericanos y Europeos por transmitir sus conocimientos valiosos.

Al INLASA, por el apoyo en la parte de Entomologia.

A todo mi equipo de trabajo del municipio de Palos Blancos.

A la coordinadora de Bolivia Dra. Judith Caballero por brindarme su apoyo incondicional en este paso de la vida profesional.

A Dios por darme la vida y guiarme en mi camino.

DEDICATORIA

A mi familia por su comprensión, confianza y, apoyo incondicional.

RESUMEN

En los últimos 50 años la incidencia del Dengue aumento en 30 veces, con una creciente expansión geográfica en áreas tropicales y subtropicales, el virus del Dengue es transmitido mediante picadura del mosquito *Aedes aegypti, además que este vector también transmite las enfermedades de la Fiebre Amarilla y la Chikungunya. Constituyéndose en un problema de salud pública.* En Bolivia, también se presentan éstas enfermedades. Un claro ejemplo es en la zona de los Yungas del departamento de La Paz. Durante las gestiones 2013-2014 los municipios más afectados fueron: Alto Beni, Mapiri, **Palos Blancos**, etc.

Para prevenir la infección, se debe evitar o eliminar al agente que transmite la enfermedad del reservorio al huésped. Un método alternativo y complementario a los tratamientos físicos y químicos de control para este vector, es el Control Biológico. Un agente potencial es el mosquito del género Toxorhynchites (Díptera Culicidae), debido a que sus larvas son depredadoras de culicidos, entre ellos el Aedes aegypti.

El objetivo del presente estudio es Caracterizar el efecto predador de las larvas del *Toxorhynchites* sobre las larvas del *Aedes aegypti,* en distintas poblaciones larvarias, en el Municipio de Palos Blancos, de la provincia Sud Yungas del Departamento de La Paz, en la gestión 2014.

El método aplicado es experimental, caracterizado como un Ensayo Aleatorio Simple. Se realizo el análisis empleando estimaciones de Kaplan Meier, pruebas log-rank y modelos de regresión de Cox.

Los resultados demuestran que 1 larva de Toxorhynchites devora 50 larvas de *Aedes* aegypti en 43 horas y 3 larvas depredadoras tienen la capacidad de consumir 50 presas en 14 horas. Otro resultado encontrado es que a mayor volumen de agua, mayor será la velocidad de depredación.

En Conclusión: La Acción Predadora, de Las Larvas del Toxorhynchites (Díptera-Culicidae), disminuye a las poblaciones de Larvas de Aedes aegypti, en el Municipio de Palos Blancos, Sud Yungas del Departamento de La Paz en un medio experimental en Laboratorio.

Palabras Claves: Dengue, Aedes aegypti, Control Biológico, Toxorhynchites, efecto predador, método de Kaplan Meier, regresión de Cox.

ABSTRACT

In the last 50 years the incidence of dengue increased 30 times, with increasing geographic expansion in tropical and subtropical areas, Dengue virus is transmitted by bites of Aedes aegypti, besides this table also transmitted diseases yellow fever and Chikungunya. Becoming a public health problem. In Bolivia, these diseases are also presented. A clear example is in the area of the Yungas of La Paz department. During the 2013-2014 negotiations the most affected municipalities were: Alto Beni, Mapiri, Palos Blancos, etc.

To prevent infection, avoid or eliminate the agent that transmits the disease reservoir guests. An alternative and complementary to physical and chemical treatments for this vector control method is the Biological Control. A potential agent is the mosquito of the genus Toxorhynchites (Diptera Culicidae), because their larvae prey on Culicidae, including Aedes aegypti.

The aim of this study is to characterize the effect of predator Toxorhynchites larvae of Aedes aegypti larvae in different larval populations in the municipality of Palos Blancos, Province Sud Yungas of La Paz Department, in 2014 management. The experimental method used is characterized as a simple random test. Analysis using Kaplan Meier estimates, log-rank and Cox regression models were performed tests.

The results show that one larva eats 50 Toxorhynchites larvae of Aedes aegypti in 43 hours and 3 predatory larvae have the ability to consume 50 dams in 14 hours. Another result found is that a larger volume of water, the greater the rate of predation.

In Conclusion: The predatory action, Las Toxorhynchites larvae (Diptera Culicidae) populations decreases Aedes aegypti larvae in the municipality of Palos Blancos, Sud Yungas of La Paz Department in an experimental environment in Laboratory.

Keywords: Dengue, Aedes aegypti, Biological Control, Toxorhynchites, predator effect, Kaplan Meier, Cox regression.

Ch´umsta

Aka qhipa phisqa tunk maranakanxa, Dengue usux kimsatunk Kutiw yapxatawayxi. Ukhamarakiw Khaysa junt´u markanx walja markanakaruw aka usux purxaraki. Uka Dengue usux chhichhillankha Aedes aegyptin mich´ipatw piyi. Ukampirusa, uka laq´ux yaqha usunakw jaqir piyayi. Ukanakax akham sutin chhixi usunakawa: Fiebre amarilla, Chikungunya. Uka usunakax Khitirus katukispawa. Aka Bolivia markanx, uka usunakax utjarakiwa. uñjaraksana wa ukham usunakx khaysa junt´u markanakana. Kha 2013 – 2014 maranakanx Alto Beni, Mapiri, Palos Blancos uka markanakanw uka wunakax uñjasiwayaraki.

Jan uka usunak utjañapatakixa, usun jaqinakar samart´ayañawa. Yaqha kast qhuyapt´ayawix aka usu jan yaqha jaqinakar aynacht´ayañapataxix Control Biológico ukawa. Chhichhillankha Toxorhynchites (Diptera culcidae) ukax yaqha jaqir usuntayirisakiwa. Kunalaykutixa, larvaj ukanakapax wali ñanqha usunakaniwa.

Aka unacht´awinx kunjamaj Toxrhynchites ukan larvanakaapax uñacht´ayasup Aedes Aegypti ukan larvapxaruxa. Uka usunakax Palos Blanco Sud Yungas uka markanakanw yatxatt´asirakini aka 2014 marana.

Ukham yatxatañatakisti, qhan´tayan kast thaqhinchaw apnaqatarakini, ukham yatxa´ttanakampiw yatitanakar yanapt´arakiñani. Kaptan Meir Ukanakamp wakicht´atarakiwa. Ukarux yanapt´atarakiw Long-rank, Cox ukanakampi.

Yatxatatasti ma larva Toxorhynchites phisqa tunk Aedes Aegypti larvanakaruw manq´anti. Taqi ukax pusitunk kimp pachanw kimsa larvanakax phisqa tunkaniruw aynacht´ayi. Ukampirus jilpach aynacht´ayix kunawasati walja um utjk ujkawa.

Tukuyañtaki, Toxorhinchites larvanakax walpunw aynachtiayi Aedes aegyppti Larwanakaru. Ukanakax Palos Blancos, Sud Yungas uka markanakanw uñacht´ayasi.

1 CONTENIDO

1 Contenido 1
2 Introducción 3
3 Antecedentes 6
4 Marco referencial 8
4.1 Aedes aegypti. 8
1.2 Toxorhynchites spp. 15
4.3 Depredación 20
2. Justificación 24
3. Objetivos 25
3.1 Objetivo General 25
3.2 Objetivos Específicos 25
4. Hipótesis 25
5. Material y métodos 26
5.1 Zona de Estudio 26
5.2 Diseño del Estudio 28
5.3 Población y Muestra 28
6. Operacionalización de variables 29
7. Material 30
7.1 Procedimiento Experimental: 30
8. Método estadÍstico 31
9. Resultados 32
9.1 Análisis de Supervivencia entre el Depredador y la Presa 33
9.2 Efecto Volumen de Agua 34
10 Discusión 36
11 CONCLUSION 38
12 RECOMENDACION 39
13 Bibliografía 40
Lista de Abreviaturas, Símbolos e Unidades de Medida. 43
Anexos 45
Anexo 1: Equipo de Trabajo 45
Anexo 2: Cronograma de Actividades para el 2013, 2014 y 2015 46
Anexo 4: Criaderos del *Toxorhynchites* y *Aedes aegypti* 47
Anexo 5: Larvas del *Toxorhynchites* y *Aedes aegypti* 48

Anexo 6: Recolección de los Agentes de Estudio Larvas *de Aedes aegypti* y *Toxorhynchites* 50

Anexo 7: Pecera común de Aislamiento del Larvas de *Aedes aegypti* y *Toxorhynchites* 52

Anexo 8: Armado de las Pesceras en Laboratorio.....53

con el Equipo de Investigacion 53

Anexo 9: Observación del Efecto Depredador en el Laboratorio 56

Anexo 10: Socialización de la Investigación con Autoridades. 57

Ilustración 1 Formas adultas de Aedes 8
Ilustración 2: Ciclo biológico del Aedes 9
Ilustración 3 Ciclo biológico del Toxorhynchites 17
Ilustración 4 Ubicación Geográfica- Municipio de Palos Blancos 26

Gráfica 1: Tiempo de Depredación de Presas según la Cantidad de Depredadores 34
Gráfica 2 Tiempo de Depredación de Larvas según el Volumen de Agua. 35

Tabla 1: Clasificación del Aedes 9
Tabla 2: Clasificación del Toxorhynchites 16
Tabla 3 Operacionalización de las Variables.....29
Tabla 4 Descripción del Tiempo de Depredación entre Larvas. 32
Tabla 5 Tiempo de Depredación de las Presas según la Cantidad de Depredadores. 33
Tabla 6 Medias y Medianas del Tiempo de Supervivencia segùn numero de Predadores.....33
Tabla 7 Tiempo de Depredación de las Presas según el Volumen de Agua.....34
Tabla 8 Medias y Medianas del Tiempo de Supervivencia en Función del Volúmen de Agua.....35

2 INTRODUCCIÓN

Uno de los retos que un microorganismo tiene es poder ser transmitido de un reservorio a un hospedero, ya que requiere de los tres componentes, el reservorio, el vector o mecanismo de transmisión y el hospedero a quien desea infectar.[1] Algunas enfermedades requieren de un vector que transmita la enfermedad del reservorio al hospedero, como es el caso del virus de la Fiebre Amarilla, el virus del Dengue y el virus Chikungunya, que tienen un vector común en su transmisión del reservorio al huésped, el *Aedes aegypti*. [2]

En los últimos 50 años la incidencia del Dengue aumento en 30 veces, con una creciente expansión geográfica a países nuevos, y la infestación de áreas urbanas y rurales, el virus del Dengue es un virus ARN del género Flavivirus, se describen 4 serotipos del virus DEN, y todos estos serotipos son transmitidos mediante picaduras de mosquitos *Aedes* infectados, principalmente el *Aedes aegypti*, también se han atribuido a los *Aedes albopictus, Aedes polynesiensis* y varias especies del complejo *Aedes Scutellaris*. [3]

La Fiebre Amarilla es una infección viral ocasionado por un virus ADN del género Flavivirus, esta enfermedad se ha convertido en una enfermedad reemergente y un problema para la salud pública por la coexistencia del virus, personas no inmunizadas y de una alta densidad de vectores. Tiene dos ciclos de transmisión, uno selvático transmitido por hembras de mosquitos de los géneros *Haemagogus* y *Sabethes*, y un ciclo urbano y periurbano donde el vector descrito clásicamente en América es la hembra del *Aedes aegypti*. [4]

El Chikungunya es una enfermedad endémica en países del sudeste de Asia, África y Oceanía, emergente para la región de las Américas, su nombre deriva de una palabra en Makonde, significa “aquel que se encorva”, el reservorio de la enfermedad es el hombre, en esta enfermedad toda la población es susceptible de enfermar, niños, mujeres y hombres, causada por un virus ARN del género Alfavirus, transmitida por vectores hembras como el *Aedes aegypti* y el *Aedes albopictus*. [5]

La interrupción de la transmisión principalmente del Dengue en gran parte de la región de las Américas de la OMS, fue el resultado de la campaña de erradicación del *Aedes aegypti*, principalmente durante la década de 1960 y principios de la

década de 1970, sin embargo no se mantuvieron las medidas de vigilancia y control del vector y hubo reinfestaciones subsiguientes del mosquito. [3]

El *Aedes aegypti*, es un mosquito que tiene una distribución amplia alrededor del mundo, de áreas tropicales y subtropicales principalmente entre las latitudes 35° N y 35 ° S. Estos límites geográficos corresponden, aproximadamente, a un invierno isotérmico de 10°C. También se lo ha encontrado tan al norte hasta latitudes de 45°N, pero dichas invasiones han ocurrido durante los meses más calientes y los mosquitos no han sobrevivido al invierno. Además, debido a las bajas temperaturas el mosquito es relativamente raro por arriba de los 1000 metros sobre el nivel del mar. Las etapas inmaduras se encuentran en hábitats cubiertos de agua, principalmente en recipientes artificiales estrechamente asociados con viviendas humanas y, a menudo, bajo techo. Los estudios sugieren que la mayoría de las hembras de *Aedes aegypti* pasan su periodo de vida en las viviendas o alrededor de ellas donde emergen como adultos. [6]

Las hembras de los mosquitos *Aedes aegypti*, son las que se alimentan de sangre para la ovoposición, contraen la enfermedad al picar al reservorio que es el hombre o a un individuo con la enfermedad del Dengue, el vector entonces, se infecta por todo el tiempo de vida que tenga y es capaz de transmitir el virus durante cada picadura al hombre. [7] Las larvas y los mosquitos pueden adquirir la infección por transmisión vertical y de esa manera mantener el virus en la naturaleza. [8]

La razón por la que el *Aedes aegypti*, es un buen vector del virus Dengue es que el DNA del vector es compatible con el genoma del virus, pudiendo vivir y albergar al virus en forma simbiótica y no dañar la estructura del virus ni del mosquito. [9]

En general el mosquito del *Aedes aegypti*, cumple un ciclo similar a otros mosquitos de la familia *Culicidae*, tiene los huevos que en el caso del género Aedes, son negros lustrosos (brillosos y rugosos) las hembras los depositan de forma dispersa y no poseen flotadores, tampoco los depositan directamente en el agua, lo depositan en la línea del agua, lodo, árboles huecos u ollas, estos huevos pueden soportar la disecación por periodos prolongados de meses e incluso años, y los huevos no eclosionan en cuanto se inunda, eclosionan de forma sostenida e incluso puede requerir periodos de disecación e inundaciones.[10]

El periodo larvario, que en todos los géneros tiene 4 estadios, todos requieren de agua para su desarrollo, todos los géneros excepto el *Anopheles*, poseen un sifón en la porción más ventral de su abdomen el cual es distinto morfológicamente según la especie, gracias a este sifón es que los mosquitos en el periodo larval se pueden alimentar y respirar, la característica del *Aedes*, es que además se sumerge para buscar los alimentos o como forma de escapar de sus predadores. [11]

La siguiente fase es la pupa, que en todas las especies tienen las mismas características, son acuáticas y tienen forma de coma, en general su tiempo de desarrollo es de 2 a 3 días y contienen trompas respiratorias, no requieren alimentarse y es donde se desarrolla para llegar al último periodo. [11]

La última etapa es el imago o fase adulta, que fue descrita con anterioridad.

3 ANTECEDENTES

Por todo lo descrito anteriormente, “para prevenir la infección de estas enfermedades transmitidas por vectores se debe evitar o eliminar al agente que transmite la enfermedad del reservorio al huésped”. [12]

Para evitar las picaduras del mosquito se realizaron estudios para observar que clases de repelentes eran más efectivos y eviten la picadura por parte de los Aedes, donde se encontró qué los repelentes que tienen de base en su composición los ácidos grasos eran más efectivos que los que poseían metanol u otro compuesto. [13] Otras recomendaciones son el uso de ropa manga larga, y para dormir el uso de mosquiteros. [3]

Sin embargo, eliminar el vector es una de las mejores formas de atacar la enfermedad, esto se puede realizar en los dos periodos más frágiles del mosquito, su fase larval y su fase adulta. [10]

Existen en general dos clases de larvicidas, los biológicos y los químicos, en la presente tesis se estudiarán a los larvicidas biológicos.

Uno de los bio-plaguicidas más utilizados a nivel mundial es el uso del agente *Bacillus thuringiensis* que representa más del 40% de todos los controles biológicos.[14] Esta bacteria Gram-positiva fue aislada por científicos israelitas en 1976, esta bacteria forma esporas en el cual produce una variedad de proteínas tóxicas las cuales se activan cuando las bacterias son ingeridas por la larva del mosquito, estas proteínas producen una disrupción de las membranas celulares del intestino de la larva y produce la muerte de éste. [15]

Otra forma de control biológico de las larvas es el uso de depredadores larvarios, que tiene la ventaja de producir un continuo control del mosquito, un depredador natural es el *Toxorhynchites*, probado en las amazonias de América y en las Filipinas. [16]

Se realizó un estudio en Malasia donde se observó la relación entre la convivencia de la larva del *Toxorhynchites splendens* con la larva del *Aedes albopictus*, se observaron 480 ovitrampas de los cuales 281 tenían *Aedes albopictus*, de estos 281, 255 contenían además, larvas de Toxorhynchites, se

observó estas ovitrampas un periodo de 30 semanas, se obtuvo como resultado una correlación negativa entre ambas larvas (r=-0843, R^2 = 0.7112), donde a mayor densidad de larvas de *Toxorhynchites splendens* menor densidad de *Aedes albopictus* existía [17].

En Tanzania se observaron 381 recipientes donde, 159 tenían solamente al *Aedes aegypti* y 222 recipientes contenían *Toxorhynchites*, y se demostró la actividad depredadora de la larva del Toxorhynchites en estadío 4 en un periodo de 24 horas a una temperatura de 26°C, entonces se observó que bajo estas características una larva de *T. Brevipalpis* en estadio 4 devora un promedio de 16 larvas de *Aedes aegypti* [18].

En Brasil se realizó un estudio similar al que se pretende en la presente tesis, en recipientes de 25 x 30 cm con un contenido de 250 ml. de agua y una temperatura aproximada de 25 $\pm$ 3°C, se colocaron 40 larvas de *Aedes aegypti* a cada larva de *Toxorhynchites violaceus*. Se observaron en periodos de 24 horas para ver cuántas larvas fueron consumidos por los depredadores, se realizó la curva de supervivencia de las larvas de *A. aegypti*, en función de la depredación de *T. violaceus*, la depredación fue total en un promedio de 192 horas y en comparación con los que no contenían los predadores su P valor era menor a 0.05, y la curva muestra que a las 24 horas había el 98%, a las 120 horas quedaba el 47% de las larvas y a las 192 horas queda el 0% [19].

Se ha demostrado especies de mosquito del género *Toxorhynchites*, en Argentina, Brazil, Bolivia, Colombia, Haiti, Suriname, Trinidad y Tobago, Venezuela, Guadalupe, Montserrat, Saba y República Dominicana. [20]

En Bolivia, se conoce muy poco sobre la capacidad depredadora de estas larvas porque no se encontraron estudios al respecto, aunque se sabe que el *Toxorhynchites* habita en las regiones tropicales.

4 MARCO REFERENCIAL

4.1 Aedes aegypti.

Aedes aegypti Linnaeus 1762, es un mosquito cuyo origen se ubica en la region etiopica, que nuclea la mayor cantidad de especies del subgenero stegomyia.[21]

Es un efectivo vector de diversas arbovirosis, pero su mayor importancia epidemiológica está ligada a su papel como transmisor de Fiebre Amarilla, con mayor actualidad, de Dengue y Chikungunya. [21]

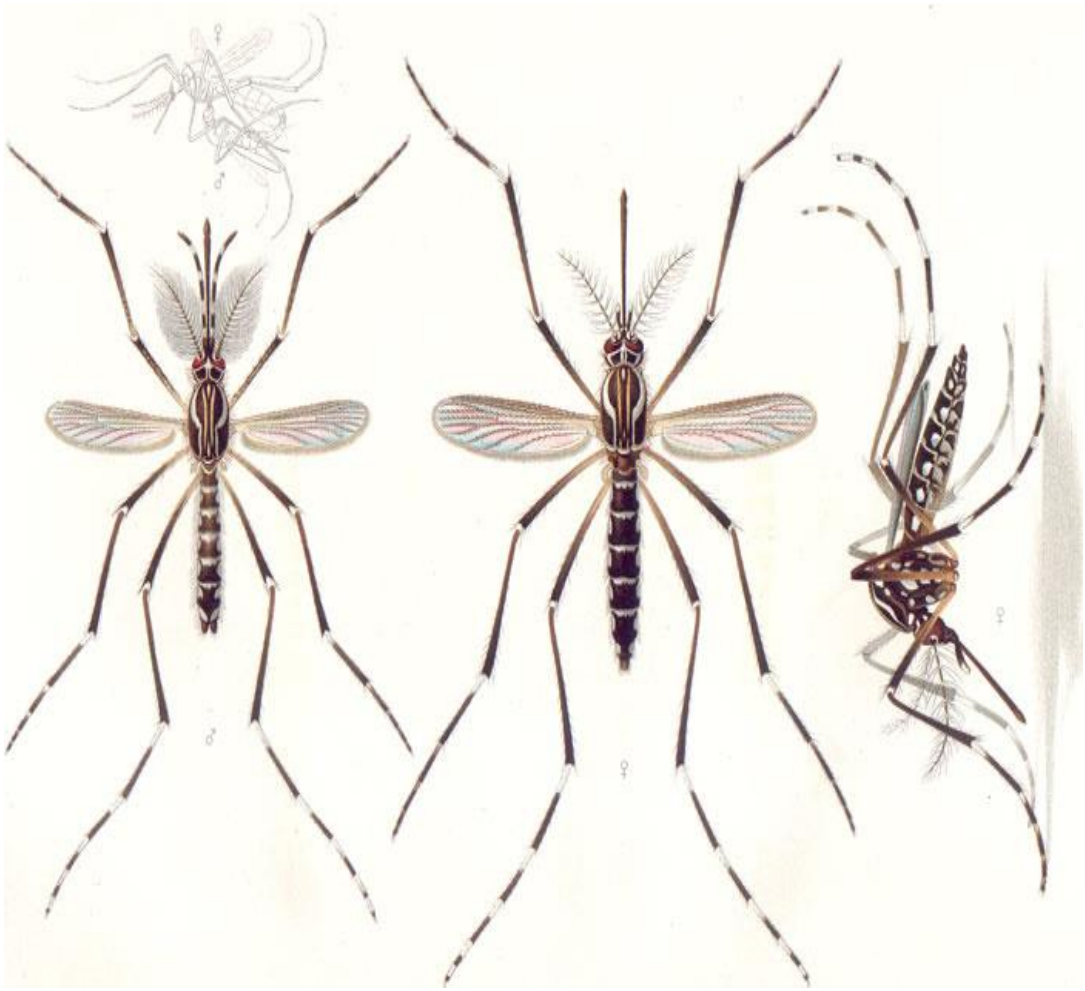


ILUSTRACIÓN 1 FORMAS ADULTAS DE AEDES

Fuente: L. B. F. Ana P. Vilela, «Dengue Virus 3 genotype 1 in Aedes aegypti Mosquitoes and eggs, Brazil, 2005 - 2006,» *Emerging Infectious Diseases,* pp. 989 - 992, 2010.

1.1.1 Clasificación Taxonómica.

TABLA 1: CLASIFICACIÓN DEL AEDES

Reino	Animal
Phylium	Artropoda
Subphylium	Mandibulata
Clase	Insecta
Orden	Diptera
Sub Orden	Nematocera
Familia	Culicidae
Subfamilia	Culicinae
Tribu	Aedine
Género	Aedes
Especie	Aedes aegypti – Aedes Albopictus

Fuente: L. B. F. Ana P. Vilela, «Dengue Virus 3 genotype 1 in Aedes aegypti Mosquitoes and eggs, Brazil, 2005 - 2006,» *Emerging Infectious Diseases,* pp. 989 - 992, 2010.

1.1.2 Ciclo Biológico

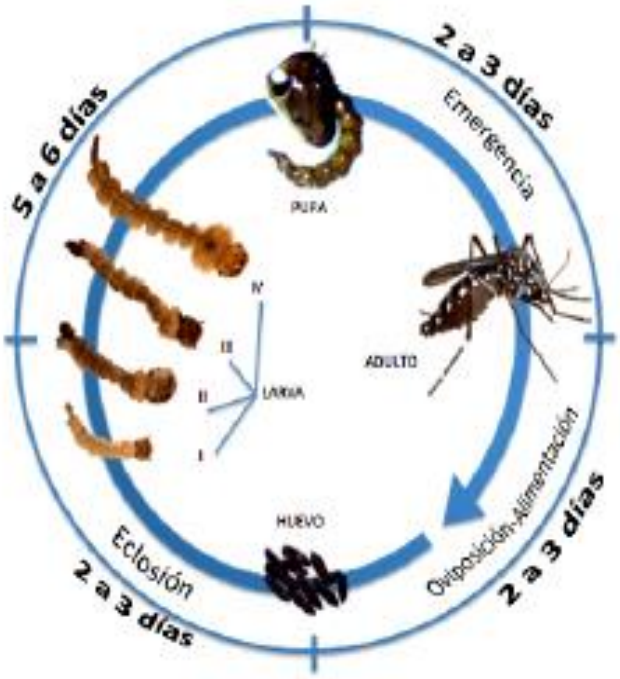


ILUSTRACIÓN 2: CICLO BIOLÓGICO DEL AEDES

Fuente: L. B. F. Ana P. Vilela, «Dengue Virus 3 genotype 1 in Aedes aegypti Mosquitoes and eggs, Brazil, 2005 - 2006,» *Emerging Infectious Diseases,* pp. 989 - 992, 2010.

Su ciclo de vida comprende las etapas de huevo, larva, pupa y adulto:

a) Etapa de Huevo: Luego de una alimentación sanguínea las hembras pueden colocar entre 50 y 150 huevos pequeños (de 0.8 Mm) en las paredes de los recipientes, sobre el nivel del agua; cuando el recipiente recibe agua nuevamente los huevos son inundados y se produce la eclosión de los mismos. Se ha visto que en condiciones ecológicas particulares, las hembras colocan un 10- 20% directamente en el agua y el resto pegado a la superficie del recipiente. Cada vez que sube el nivel del agua en el recipiente eclosiona un grupo de huevos, de este modo, se aseguran una eclosión escalonada que permite la supervivencia aún en condiciones desfavorables (Ej. épocas de sequía). Al momento de la postura son de coloración blanca, casi transparentes, en contacto con el aire van adoptando la coloración oscura característica. Los huevos son formas de resistencia que pueden sobrevivir durante muchos meses en clima adverso hasta que las condiciones ambientales favorezcan su eclosión. Al parecer los sitios, horarios y épocas en que la hembra pone los huevos podrían corresponder a patrones de comportamiento previsibles, útiles para definir acciones de prevención. [22].

b) Etapa Larvaria: Los huevos eclosionan dando lugar a formas larvarias, acuáticas, nadadoras, de respiración aérea, que se alimentan por filtración de material en suspensión o acumulado en paredes y fondo del recipiente, para lo cual utilizan las cerdas bucales en forma de abanico. Se asemejan a otras larvas de mosquitos por la cabeza y tórax ovoides y el abdomen con 9 segmentos. El segmento posterior (anal) del abdomen tiene 4 branquias lobuladas para la regulación osmótica y un sifón corto (que las distingue de otras especies de mosquitos) para la respiración en la superficie del agua. La posición en reposo en el agua es casi vertical y se desplazan en el medio líquido con un movimiento serpenteante característico. Son fotosensibles (sensibles a la luz), al iluminarlas se desplazan al fondo del recipiente casi de inmediato. La fase larval es el período de mayor alimentación, crecimiento y vulnerabilidad en el ciclo de vida de Aedes aegypti. La duración del desarrollo larval depende de la temperatura, la disponibilidad de alimento y la densidad de larvas en el recipiente. En condiciones óptimas (temperaturas de 25°C a

29°C) el período desde la eclosión hasta la pupación es de 5 a 7 días, habitualmente es de 7 a 14 días. Las larvas no pueden resistir temperaturas inferiores a 10°C o superiores a 45°C, a menos de 13°C se interrumpe el pasaje a estado de pupa.[22]

c) Etapa de Pupa: Posteriormente las larvas mudan al estado de pupa, las cuales no se alimentan y tienden a moverse poco, presentan un estado de reposo donde se producen importantes modificaciones y cambios anátomo-fisiológicos que conducirán a la última fase del desarrollo. Reaccionan inmediatamente a estímulos externos y se mantienen en la superficie del agua debido a su flotabilidad, propiedad que favorece la emergencia del insecto adulto. Este período dura de 1 a 3 días en condiciones favorables, en tanto que las variaciones extremas de temperatura pueden prolongarlo. Disponen en la base del tórax de un par de tubos o trompetas respiratorias que atraviesan la superficie del agua para permitir la respiración, en la base del abdomen poseen un par de remos, paletas o aletas que le permiten desplazarse en el agua.[22]

d) Etapa Adulta: El último estado es el adulto alado. Inmediatamente luego de emerger de la pupa permanecen en reposo para lograr el endurecimiento del exoesqueleto y de las alas. Dentro de las 24 horas siguientes, machos y hembras se aparean, generalmente por única vez en el caso de las hembras y se inicia la etapa reproductora. El apareamiento se realiza por lo general durante el vuelo, una sola inseminación del macho es suficiente para fecundar todos los huevos que una hembra produce durante toda su vida.[22]

Las formas adultas tienen dimorfismo sexual, pueden diferenciarse machos y hembras por las características de las antenas (plumosas y palpos más largos en los primeros y desnudas en las segundas). Ambos son fitófagos, la hembra además hematófaga (necesita de proteínas disponibles en la sangre para la producción de sus huevos), y se mantienen siempre en las cercanías de las viviendas del hombre. [22]

Las hembras vuelan siguiendo los olores y gases emitidos por las personas que serán su fuente de alimentación, cuando están cerca disponen de estímulos visuales mientras sus receptores olfativos, táctiles y térmicos las guían hacia el sitio de alimentación, ésta y la ovipostura se realizan por lo general durante el día. La duración del ciclo completo depende de las condiciones ambientales, pero en condiciones óptimas puede variar entre 7 y 14 días aproximadamente. Las formas adultas tienen un promedio de vida de una semana en los machos y aproximadamente de un mes en las hembras. Una hembra, oviponiendo cada tres o cuatro días en condiciones óptimas, puede llegar a poner alrededor de 700 huevos en el curso de su vida.[22]

1.1.3 Morfología e Identificación del Vector Adulto

Aedes aegypti es un mosquito de coloración oscura, con franjas plateadas en sus patas y dorsalmente una estructura en forma de lira, también plateada, sobre el tórax. Es un mosquito huidizo y silencioso, de hábitos diurnos, que reposa habitualmente sobre superficies oscuras y pica preferentemente durante las últimas horas del atardecer y las primeras del amanecer. Cuando una hembra completa su alimentación (2 a 3 cm3 de sangre) desarrollará y pondrá huevos dispersos en distintos lugares lo que asegura la viabilidad de la especie. La hembra es atraída hacia recipientes oscuros o sombreados con paredes duras y lisas, prefiere aguas relativamente limpias con poco contenido de materia orgánica, sin embargo, a la hora de colocar sus huevos, utilizará cualquier recipiente que tenga disponible, independientemente del estado de contaminación del agua. Se han encontrado larvas de Aedes aegypti conviviendo con otras de Culex pipiens quinquefasciatus (mosquito común de las habitaciones) e incluso de Fannia scalanis (mosquita de la letrina), en aguas altamente poluidas. Las partes bucales de los machos no están adaptadas para chupar sangre, procuran su alimento del néctar de plantas que contiene carbohidratos que permiten su alimentación (fitófagos).Cuando los mosquitos no están apareándose, procurando alimento o dispersándose buscan lugares oscuros y tranquilos para reposar, en general prefieren el interior de las viviendas, dormitorios, baños, cocinas, debajo de piletas, detrás de muebles, solo ocasionalmente se los encuentra al aire libre, en la vegetación del jardín o en los fondos de las casas. Las superficies de reposo preferidas son las verticales como

paredes, muebles, objetos colgantes como ropas, toallas, cortinas, también se los puede encontrar bajo las camas y a veces en el cielo raso de las habitaciones. Aedes aegypti puede sobrevivir varios meses en laboratorio, en la naturaleza viven poco tiempo, muchos adultos mueren al momento de la emergencia de la pupa o poco tiempo después. Entre cada ciclo gonotrófico se ha observado que, a diferencia de otros géneros de mosquitos, el Aedes Aegypti pica o se alimenta varias veces de uno o varios huéspedes, hasta satisfacer sus necesidades alimenticias, factor importante en su capacidad como transmisor de enfermedades esta frecuencia de alimentación entre cada ovipostura, especialmente si se le perturba; aumenta las probabilidades de que ingiera y transmita el virus. El intervalo entre la ingestión de sangre y la ovipostura puede ser de sólo 3 días, en condiciones óptimas de temperatura y disponibilidad de huéspedes; además, la hembra puede volver a alimentarse el mismo día de la puesta de los huevecillos. La dispersión del vuelo es muy limitada cuando se la compara con la de otras especies de mosquitos. La hembra pasa a menudo toda su vida cerca del sitio de dónde provino, siempre y cuando disponga de hospederos, lugares de reposo y criaderos para la ovipostura.[22]

1.1.4 Criadero del Aedes Aegypti

a) Sitios de Cría:

La presencia de determinadas condiciones en depósitos de agua favorece el desarrollo de determinadas especies de mosquitos. Hay algunas que viven en aguas salubres, otras son de agua dulce y otras crían en aguas totalmente poluidas. El estudio de los sitios de cría es importante para poder realizar un efectivo control de los insectos. (García, 1977) clasificó en cuatro grupos los criaderos de mosquitos en Cuba, dividiéndolos principalmente por su naturaleza y la permanencia del agua de los mismos, mencionando las especies que crían en cada una de ellas, los grupos son:

- Naturales Permanentes: que incluye lagunas, ciénagas, cuevas de cangrejos, remansos de ríos, etc.
- Naturales Temporarios: que incluye huecos de árboles, piedras y charcos de agua de lluvia, etc.

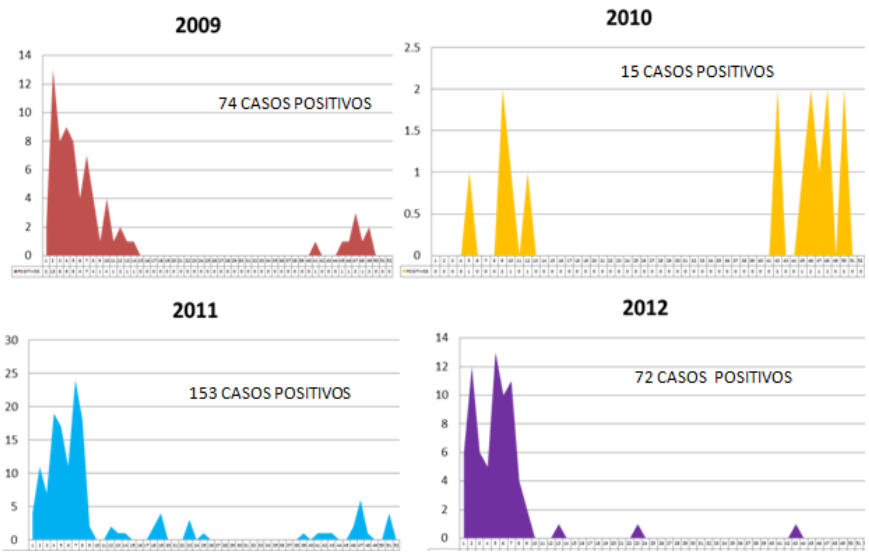
- Artificiales Permanentes: donde se encuentran las presas, zanjas, cisternas, canales, etc.
- Artificiales Temporarios: como arrozales, latas, gomas, etc. [23]

Según el Programa de Enfermedades transmisibles por Vectores 2014, de la Unidad de Epidemiologia del Servicio Departamental de La Paz, los lugares más frecuentes de criaderos del vector son:

- Tanques elevados
- Tanques Bajos: Turril y cantaros.
- Depósitos de Agua: baldes, galones, vasos, bandejas y llantas.
- Depósitos Fijos: Canaletas, piscinas.
- Llantas.
- Desechables: Botellas, Latas y chatarra.
- Depósitos Naturales: rocas, piedras plantas.

1.1.5 El Dengue En El Municipio de Palos Blancos

En Bolivia, en el municipio de Palos Blancos puede apreciarse un comportamiento de la tendencia cíclica de casos de Dengue en semanas epidemiológicas. El 2009 de presentaron 74 casos positivos; el 2010 se presentaron 15 casos positivos; el 2011, 153 casos positivos; el 2012 se presento 72 casos; el 2013, 20 casos y el 2014 15 casos positivos. [35]



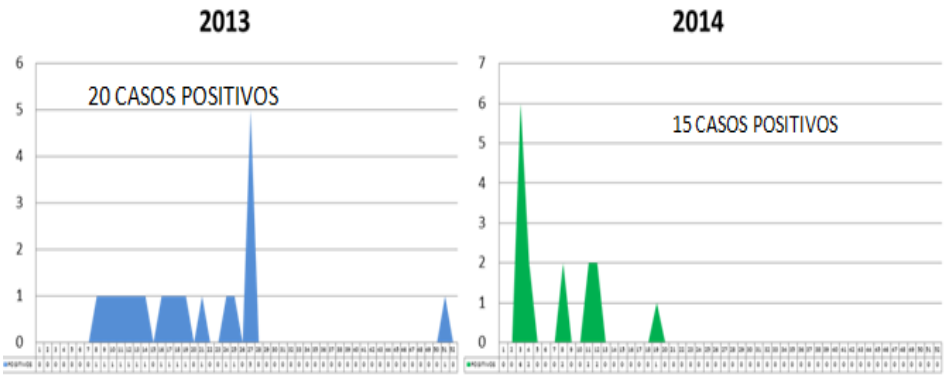


Ilustración 3: Tendencia cíclica de casos de Dengue semanas epidemiológicas comparativo 2009 – 2014 Municipio de Palos Blancos
Fuente: Servicio de Epidemiologia SEDES – La Paz

En los ultimos años el indice de infestacion de viviendas con larvas de Aedes aegypti fue del 73%, como promedio, en épocas de lluvia a principios y a finales de año. [34]

1.2 Toxorhynchites spp.

Toxorhynchites, también llamado "mosquito elefante", es un género cosmopolita de mosquitos. El género incluye las especies más grandes conocidas de mosquito, y es uno de los pocos tipos de mosquitos que no consumen sangre. Los adultos subsisten con materiales ricos en carbohidratos, como la melaza, o savias y jugos de plantas dañadas, basura, frutas y néctar.

Las larvas de Toxorhynchites se aprovechan de las larvas de mosquitos y otras presas nectónicas similares y contrastan con las especies que chupan la sangre de los insectos. Las Larvas Toxorhynchites viven con una dieta rica en proteínas y rica en grasas de animales acuáticos. Ellos no tienen necesidad de arriesgar sus vidas chupadoras de sangre en la edad adulta, que ya han acumulado el material necesario para la ovogénesis y vitelogénesis. La mayoría de las especies se encuentran en los bosques. Las larvas de una variedad selva, Toxorhynchites splendens, consumen larvas de otras especies de mosquitos que se producen en las grietas de los árboles, especialmente Aedes aegypti. Los adultos de estos mosquitos son más grandes que Aedes y son inofensivos para los humanos. Vectores de enfermedades o investigadores de control de toxinas han sugerido que

Toxorhynchites mosquitos se presentó en las zonas fuera de su área de distribución natural para combatir la fiebre del dengue.[24]

1.2.1 Clasificación Taxonómica:

Tabla 2: CLASIFICACIÓN DEL TOXORHYNCHITES

Orden	Diptera
Familia	Culicidae
Subfamilia	Toxorhynchitinae
Género	Toxorhynchites
Sub-género	Toxorhynchites

Fuente: M. Trpis, «Interaction between the predator Toxorhynchites brevipalpis and its prey Aedes aegypti,» *Revista de la OMS Entomologist/Ecologist,* nº 49, pp. 359 - 365, 1973.

El género *Toxorhynchites* se divide en 4 subgéneros y 92 especies:

- *Toxorhynchites bambusicolus* (Lutz and Neiva, 1913)
- *Toxorhynchites brevipalpis* (Theobald)
- *Toxorhynchites grandiosus* (Williston, 1900)
- *Toxorhynchites guadeloupensis* (Dyar and Knab, 1906)
- *Toxorhynchites haemorrhoidalis* (Fabricius, 1787)
- *Toxorhynchites hexacis* (Martini, 1901)
- *Toxorhynchites mariae* (Bourroul, 1904)
- *Toxorhynchites montezuma* (Dyar and Knab, 1906)
- *Toxorhynchites portoricensis* (Roeder, 1885)
- *Toxorhynchites purpureus* (Theobald, 1901)
- *Toxorhynchites pusillus* (Lima, 1931)
- *Toxorhynchitesrajah* (Tsukamoto, 1986)
- *Toxorhynchites rutilus*
- *Toxorhynchites solstitialis* (Lutz, 1904)
- *Toxorhynchites splendens* (Wiedemann)
- *Toxorhynchites theobaldi* (Dyar and Knab, 1906)
- *Toxorhynchites trichopygus* (Wiedemann, 1828)

- *Toxorhynchites violaceus* (Wiedemann, 1821) [24]

1.2.2 Ciclo de vida del Toxorhynchites

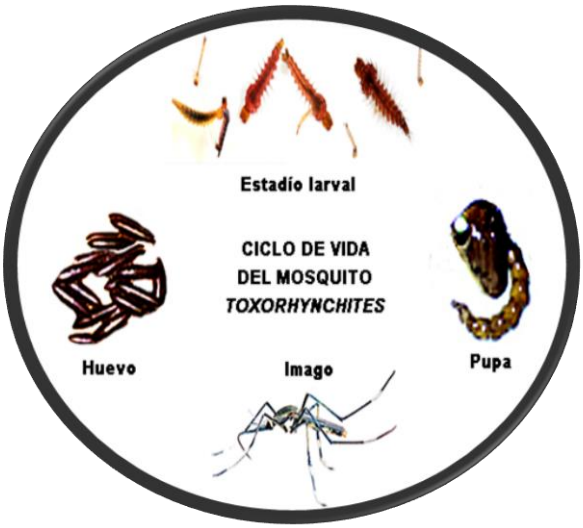


ILUSTRACIÓN 3 CICLO BIOLÓGICO DEL TOXORHYNCHITES

Fuente: Phil Lounibos, Raul E. Campos, Florida Medical Entomology Laboratory, University of Florida 2000.

El ciclo de vida de Toxorhynchites spp. No difiere del ciclo de vida de cualquier otra especie de culícido. Consta de huevo, cuatro estadios larvales (L1, L2, L3 y L4), pupa y adulto.

a) Etapa Huevo: Generalmente los huevos son ovalados, de color amarillo o blanco y no son afines al agua, por lo que se mantienen flotando en la superficie de la misma. El período de incubación es de 40 a 60 horas. La viabilidad de los huevos abarca desde un 57% hasta un 100% y se observa un decremento de dicho valor conforme aumenta la edad de la hembra. Los huevos no son resistentes a la desecación en comparación con otras especies, proporcionando una característica del género. La eclosión de los huevos no es sincronizada y ocurre durante el día. [25]

b) Etapa Larva: se compone de tres partes: cabeza, tórax y abdomen. El cuerpo está compuesto en su mayoría de tejido suave y membranoso, pero algunas partes consisten de placas duras y esclerotizadas. Esto permite el nado característico de la larva, la misma tiene aproximadamente 190 pares de setas y varios tipos de espículas. La cabeza se compone de una cápsula esclerotizada, donde se encuentran las partes bucales y antenas anteriores. La forma de la cabeza es cuadrada. Dorso-lateralmente en ambos lados de las partes bucales hay lóbulos formados de un conjunto de espículas robustas y prensiles; también se pueden observar 16 pares de setas. El tórax es un poco más ancho que la cabeza, consiste en 3 segmentos que son el protórax, mesotórax y metatórax, los cuales se distinguen por las setas que en éstos se encuentran. [26]

El abdomen de la larva consiste en 10 segmentos, los primeros siete son muy similares, los segmentos VIII, IX y X son funcionalmente especializados y morfológicamente diferentes de los otros, el IX segmento no se encuentra diferenciado pero está incorporado en el VIII y X segmento. La larva posee varias placas de soporte tanto en el tórax como en el abdomen, en estas placas se adhieren varias setas y se puede observar 16 una gran placa lateral en el VIII segmento. Las aberturas espiraculares, para la respiración, están localizadas posteriormente en el VIII segmento abdominal. Estas aberturas están rodeadas por el aparato espiracular, que nace al final de un tubo esclerotizado (sifón) [26].

c) Etapa Pupa: se caracteriza por tener una forma de coma, que se divide en dos regiones. La parte agrandada es conocida como cefalotórax, que consiste en la cabeza y el tórax, y la parte delgada que consiste en el abdomen. Proyectándose desde la parte de atrás del cefalotórax está un par de “trompetas” prominentes conocidas como trompetas respiratorias. El abdomen consiste de nueve segmentos aplastados de movimiento libre. En el dorso del primer segmento se encuentran un par de pelos evidentes, que ayudan a mantener a la pupa en una posición recta en la superficie del agua. Al final del abdomen se encuentra un par de pedales, los cuales le ayudan a nadar

(Goma, 1966). El estadío de pupa puede durar de 7 a 8 días. Este estadío, a pesar de ser móvil, no se alimenta ya que es la etapa crítica donde ocurren todos los cambios morfológicos y fisiológicos para que pase a la fase adulta de vuelo.[27]

d) Etapa Adulto: El cuerpo de los adultos está compuesto de placas endurecidas, llamadas escleritos, separados entre sí por líneas conocidas como suturas o por membranas de varios tipos. Estas estructuras comprenden el integumento o cobertura externa del cuerpo. Las hembras, principalmente, presentan una gran variedad de escamas, éstas pueden ser planas, angostas o curvas. El color puede variar y pueden ser negras, cafés, doradas, amarillas, blancas, azules o plateadas.[27]

El cuerpo de los adultos está dividido en 3 principales regiones: la cabeza, el tórax y el abdomen. La cabeza es de forma ovoide y una gran parte está ocupada por los ojos compuestos. En la cabeza se encuentran los siguientes apéndices: 2 antenas, 2 palpos y la probóscide cuya forma es fuertemente curvada hacia abajo, una característica taxonómica importante. [26]

El tórax se divide en protórax, mesotórax y metatórax, cada uno contiene un par de patas, el mesotórax tiene un par de alas funcionales y el metatórax un par de alas modificadas conocidas como halterios. El mesotórax es típicamente agrandado para acomodar los músculos del vuelo asociados a las alas, el protórax y metatórax son más pequeños. Cada ala está compuesta de venas gruesas longitudinales, entre las venas se encuentran celdas membranosas y transparentes. Las patas se forman de 5 partes principales coxa, trocánter, fémur, tibia y tarsos. El tarso se compone de segmentos conocidos como tarsómeros. [26]

El abdomen está compuesto por 10 segmentos de los cuales los primeros 7 son bastante similares en su estructura externa. Los 3 últimos segmentos están especializados para la oviposición y excreción. Cada uno de los 7 primeros segmentos tiene un esclerito dorsal, el tergum, y un esclerito ventral, el sternum. En los últimos segmentos se forma la genitalia externa

comúnmente conocida como terminalia. Las estructuras más prominentes de la terminalia en los machos son los claspers, utilizados como estructuras de sujeción durante la cópula. La genitalia externa de las hembras es inconspicua, consistiendo sólo en un par de estructuras delgadas llamadas cerci. [26]

Las hembras y machos de Toxorhynchites spp. se alimentan únicamente de néctar y otras fuentes de azúcar. Las hembras son capaces de encontrar rápidamente los contenedores con presencia de larvas de mosquitos (principalmente de Aedes aegypti, debido a que las dos especies se desarrollan en condiciones similares) y oviponer en ellos. Rara vez se posan en la superficie del agua para oviponer, en vez de esto realizan un “vuelo de oviposición” que consiste de 6 a 43 vueltas elípticas, en donde los huevos son soltados en la última vuelta. Cada hembra puede llegar a poner entre 80 y 100 huevos, los que distribuye en diferentes estanques. [25][28][29]

Las hembras oviponen en la estación lluviosa. Sobreviven a la estación seca como larvas de cuarto estadío, completan su desarrollo juvenil y emergen en el principio de la época lluviosa. El ritmo de oviposición varía y aún no están muy claras estas variaciones, se cree que se debe a la humedad y a los patrones de lluvia. [25][28]

4.3 Depredación

La depredación es tal vez una de las relaciones entre poblaciones más evidentes para nosotros, "ya que implica el consumo de un organismo presa por parte de otro predador, encontrándose la presa viva cuando el predador la ataca por primera vez".

La depredación es una interacción muy importante en ecología ya que representa una ruta para el flujo de materia y energía en el ecosistema. [32]

1.3.1 Tipos de Depredadores

Existen diferentes clasificaciones para los depredadores, puede hablarse de carnívoros y herbívoros así como de especialistas (aquellos que se concentran en un

tipo particular de recurso), generalistas (aquellos que consumen una amplia gama de recursos), y funcional.

La clasificación Funcional presenta dos aspectos fundamentales de la depredación estos son: intimidad y letalidad. La intimidad se refiere al tiempo en que predador y presa interactúan y la letalidad, como su nombre lo indica hace referencia al efecto del ataque del predador sobre la sobrevivencia de la presa.

Según este sistema tenemos cuatro tipos de depredadores: parásitos, parasitoides, pastoreadores y predadores verdaderos a continuación se describirán cada uno de ellos:

- Pastoreadores: ocasionan baja letalidad en sus presas al igual que tienen una baja intimidad con ella, se alimentan de partes y tienen un gran número de presas a lo largo de sus vidas. En este grupo se encuentran los organismos herbívoros y chupadores de sangre (zancudos y murciélagos) [33].

- Predadores verdaderos: Son altamente letales para sus presas y tienen baja intimidad con ellas, generalmente matan a su presa con el primer ataque o poco después del mismo, al igual que los pastoreadores se alimentan de un gran número de presas. Ejemplos de este grupo son la mayoría de los individuos carnívoros.

- Parásitos: La intimidad con sus presas es alta, por lo general se alimentan de una o pocas presas durante toda su vida, en general consumen solo una o pocas partes de su presa. Un ejemplo de este grupo son las plantas parásitas de la familia Lorantaceae que generan haustorios para tomar savia elaborada de sus hospederos.

- Parasitoides: Consumen lentamente todos los órganos de su presa empezando por los menos necesarios para la supervivencia de la misma, pero finalmente le causan la muerte. Un ejemplo de este grupo son las avispas que se alimentan de larvas de polilla, generalmente estas últimas mueren antes de alcanzar el estado de pupa. Impacto de la depredación sobre las poblaciones del depredador y la presa. [33]

De una manera intuitiva podría pensarse que en general los efectos del predador sobre el crecimiento de la población de la presa son siempre nocivos, es decir, la presencia del predador implica una reducción sustancial de la población de la presa, de igual manera se cree que un aumento en la población de las presas implica una ventaja significativa para el predador, sin embargo veremos que estas afirmaciones no son del todo ciertas, en algunos casos la actividad del predador puede significar ventajas para la población de la presa, así mismo un aumento en el número de presas no necesariamente implica un beneficio para el predador [33] .

Efectos del tamaño de la población de la presa sobre la población del predador.

- Una población de presas muy pequeña, puede llevar a una disminución en el número de predadores, ya que estos necesitan un número mínimo de ellas para mantenerse.
- Una población demasiado grande de presas puede no tener ningún efecto sobre el predador, ya que este se sacia y no puede consumir más aunque las aumente la población de presas.
- Una densidad baja de presas puede afectar la densidad de población del predador, en particular si este es especialista ya que este invertiría mayor cantidad de energía en la búsqueda y sometimiento de su presa de la que obtendría en recompensa. [32]

Como agente de Control Biológico las larvas de Toxorhynchites spp. presentan un comportamiento particular. Se alimentan de otras larvas de mosquitos del mismo tamaño e incluso del doble de su tamaño, además de otros artrópodos, llegando inclusive a alimentarse de detritus. El número de larvas que pueden llegar a ser consumidas por una sola larva de Toxorhynchite ssp, depende de varios factores como el tamaño del contenedor donde se encuentren, el tipo y tamaño de las presas, la temperatura del agua y el nivel de luminosidad.

Durante su desarrollo, una larva de Toxorhynchite ssp. puede llegar a consumir hasta 500 larvas de primer estadío y 300 larvas de cuarto estadío. Aproximadamente dos días antes de pupar, las larvas se comportan de manera asesina matando, sin consumir, todos los otros habitantes del mismo contenedor.

El estadío larval puede durar de 10 a 16 días, dependiendo de la especie y las condiciones ambientales en las que se presenten. [25][27][30]

El comportamiento depredador de las larvas hace que puedan funcionar como agentes de control de mosquitos vectores de enfermedades que se encuentren en el mismo contenedor. Entre algunos se puede mencionar Aedes aegypti, Aedes simpsoni y Aedes albopictus, los cuales se desarrollan en pequeños contenedores que son difíciles de controlar debido a lo pequeño del hábitat, a la dispersión de dicho hábitat y su inaccesibilidad. [28][29]

Si se cuenta con los materiales necesarios, Toxorhynchite ssp. puede ser cultivado en grandes cantidades y ser liberado en puntos estratégicos. [29][28] El uso de las larvas representa una alternativa potencial para disminuir el uso de pesticidas, que generan grandes daños a la salud y al ecosistema. [25]

2. JUSTIFICACIÓN

Varias son las enfermedades transmitidas por el vector *Aedes aegypti*, entre las conocidas en Bolivia son el Virus del Dengue, el virus de la Fiebre Amarilla principalmente, se reportaron casos esporádicos de filariosis y actualmente se reportaron casos de Chikungunya, el Dengue Hemorrágico y la Fiebre Amarilla son enfermedades que pueden causar la muerte. Existen varios factores que permiten la reaparición de la enfermedad, como una mayor invasión del hombre al hábitat del mosquito, la falta de vacunas etc. Estas enfermedades cada año aumenta la casuística, incluso convirtiéndose actualmente en un problema de salud pública mundial.

En Bolivia, en el municipio de Palos Blancos puede apreciarse un comportamiento de la tendencia cíclica de casos de Dengue en semanas epidemiológicas del 2009 con 74 casos y el 2014 con 15 casos positivos. Sin embargo se presenta un alto riesgo de contagio, por ser una zona endémica. En los ultimos años el indice de infestacion de viviendas con larvas de Aedes aegypti fue del 73%, como promedio, en épocas de lluvia a principios y a finales de año.

Controlar la transmisión de la enfermedad reduce los mecanismos de prevención al hecho de eliminar el mosquito que transmite la enfermedad, los dos periodos considerados más frágiles para eliminar al mosquito es el periodo larval y el estadio adulto, de estos dos es mejor actuar en el periodo larval, ya que en este periodo el vector no es capaz de transmitir ninguna enfermedad. Consideramos que la mejor forma de eliminar el mosquito es a través del ***Control Biológico***, el cual se reduce a pocas opciones, como el uso de bacterias que maten a las larvas del mosquito y aprovechar las características predadoras que tienen las ***larvas de Toxorhynchites***.

Con respecto a esta última opción se conoce muy poco sobre la capacidad predadora de estas larvas, en Bolivia no se hicieron estudios al respecto, aunque se sabe que el *Toxorhynchites* habita en las regiones tropicales.

Por todo lo expuesto, la presente tesis pretende brindar conocimiento sobre las características predadoras de las larvas de *Toxorhynchites* sobre las larvas de *Aedes aegypti*.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- Caracterizar el efecto predador de la larva del *Toxorhynchites* sobre las larvas del *Aedes aegypti.* en distintas poblaciones larvarias, en el Municipio de Palos Blancos, de la provincia Sud Yungas del Departamento de La Paz, Bolivia en la gestión 2014.

3.2 Objetivos Específicos

- Comparar el efecto predador de diferentes cantidades de larvas del *Toxorhynchites* sobre las larvas del *Aedes aegypti.*
- Describir el efecto predador de las larvas del *Toxorhynchites* en diferentes volúmenes de agua, sobre las larvas del *Aedes aegypti.*

4. HIPÓTESIS

La capacidad predatoria que tienen las larvas de Toxorhynchites, principalmente de estadio 4, sobre las larvas del Aedes *aegypti* es conocida.

Se sabe que una larva del Toxorhynchites es capaz de depredar completamente 40 larvas de Aedes *aegypti.* en aproximadamente 190 horas. [1]

Por este motivo se plantea las siguientes hipótesis:

Hipótesis 1:

La velocidad (medida con tiempo) con la que el depredador acaba con todas las presas es directamente proporcional a la cantidad de larvas que existen en el recipiente.

Hipótesis 2:

La velocidad de depredación de las presas varía en relación al volumen de agua existente en los recipientes.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Zona de Estudio

a) Ubicación

El municipio de Palos Blancos cuarta sección de la provincia Sud Yungas del departamento de La Paz, se encuentra localizado a 239 Km. de distancia respecto de la ciudad de La Paz , para su acceso desde la sede de gobierno se recorre un primer tramo hasta llegar a Sapecho (Ruta 3 de la Red Fundamental: La Paz-Trinidad), para continuar hacia el desvío que se dirige a la localidad de Covendo y que pasa por la capital del municipio la ciudad de Palos Blancos ubicado a 10 Km. de Sapecho. [36]

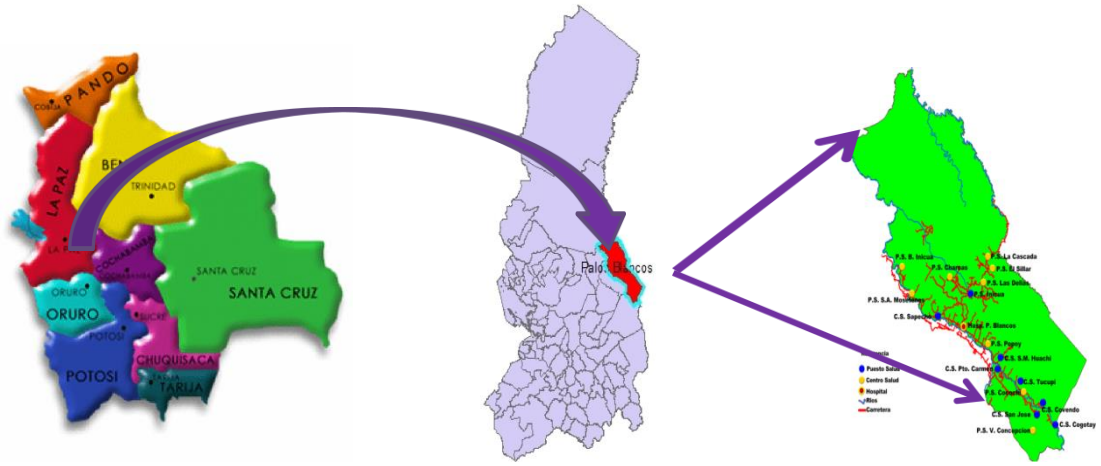


ILUSTRACIÓN 4 UBICACIÓN GEOGRÁFICA- MUNICIPIO DE PALOS BLANCOS

Fuente: Servicio de epidemiologia SEDES - LAPAZ

b) Latitud y Longitud

El municipio a partir de la línea del Ecuador y el meridiano de Greenwich, se ubica entre los paralelos 67º00’81’’ y 71º60’81’’ de latitud, entre 83º33’109’’ y 82º48’90’’ de longitud Oeste, por lo que geográficamente se localiza en la región sub andina. [36]

c) Límites Territoriales

Los límites territoriales del municipio en los cuatro puntos cardinales se encuentran distribuidos de la siguiente manera:

- ✓ Este: Departamento del Beni, con las comunidades Quiquibey, Nueva Esperanza, Pilón y Colonia 6 de Agosto
- ✓ Oeste: Provincia Larecaja con el municipio de Teoponte, provincia Caranavi con las comunidades Puerto Linares, Bella Vista, Pajonal y el Municipio Asunta con las comunidades Puerto Rico y Cotapata.
- ✓ Norte: Departamento del Beni y provincia Franz Tamayo, correspondiente a la Reserva de la Biosfera y territorio indígena Pilón Lajas.
- ✓ Sur: La Asunta y el Departamento de Cochabamba (Santa Elena, Municipio de Morochata). [36]

d) Extensión

La jurisdicción Municipal de Palos Blancos posee una superficie de 3.430,3 Km2 (Fuente: INE-2001) pero, según el mapa de municipios de los Yungas se tiene una superficie de 3.583,3 Km2 (Fuente: ACDI/VOCA) ocupando el 40,41 % del territorio del la provincia Sud Yungas que posee una superficie de 8.489 Km2. [36]

e) Clima

La región de Alto Beni al formar parte de dos ecoregiones: Yungas y Trópico, presenta un clima que va de cálido a templado en ciertas áreas de mayor altura (Delicias, El Sillar y Cascada). Existen elevadas temperaturas y precipitaciones pluviales durante el año.

Este último aspecto se ve influenciado por los cambios globales existentes a nivel mundial, produciéndose en el área fenómenos que generan bajas temperaturas, sequías, lluvias de elevada intensidad y en ocasiones la presencia de granizadas que no son normales en estas regiones. [36].

f) Temperatura

De acuerdo a datos meteorológicos correspondientes a la Estación de Sapecho, se tiene registros para el área una temperatura promedio del ambiente de 27 ºC. Siendo la máxima promedio de 31 ºC y la mínima promedio de 19 ºC. Los meses de bajas temperaturas ocurren entre Junio y Julio llegando a valores menores a los 14 ºC. [36]

5.2 Diseño del Estudio

El presente estudio es de tipo cuantitativo porque posee las siguientes características:

Según el tipo de variable, es un estudio experimental, caracterizado como un Ensayo Aleatorio Simple.

Según su temporalidad, es un estudio longitudinal prospectivo.

5.3 Población y Muestra

La Población de estudio, comprende las larvas de los mosquitos *Aedes aegypti* y larvas de *Toxorhynchites spp.* que habitan en el Municipio de Palos Blancos.

La muestra de estudio comprende 50 larvas del *Aedes aegypti* en cada incubadora. Se utilizo 27 incubadoras, asumiendo un total de 1.350 larvas. Y 54 larvas de *Toxorhynchites spp.*

Los modelos presentaron las siguientes características:

Se consideraron 2 factores: A- B

1 **Factor A.-** Considera 3 cantidades distintas de larvas estadio 4 del mosquito depredador *Toxorhynchite spp.*

a1 = 1 larva de zancudo *Toxorhynchite ssp*.

a2 = 2 larvas de zancudo *Toxorhynchite ssp*.

a3 = 3 larvas de zancudo *Toxorhynchite ssp*.

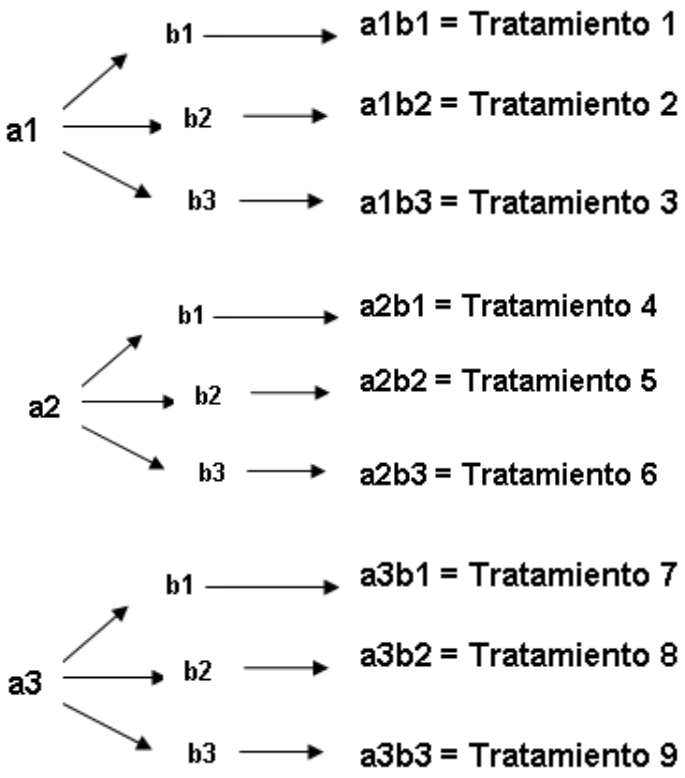
2 **Factor B**.- Considera 3 cantidades distintas de agua en el recipiente de estudio.

b1 = 1 litro de agua.

b2 = 1.5 litros de agua.

b3 = 2 litros de agua.

Entonces, se realizaron 3 pruebas de cada combinación obteniendo las 27 repeticiones descritas a continuación:



La cantidad de larvas presa fueron 50 por cada uno de los frascos observados. La misma fue seleccionada en base a un modelo realizado por los brasileros en el Instituto Oswaldo Cruz [19].

6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

TABLA 3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable independiente (Tipo variable)	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Fuente de verificación
Larva de *Toxorhynchites* (Variable independiente)	Uno de los 4 estadios que presenta un mosquito de la familia Culicidae.	Larva en fase 4 del mosquito predador *Toxorhynchites*	Tiempo de depredación según la cantidad de depredadores en las incubadoras.	Observación.
Larva de *Aedes* (Variable dependiente)	Uno de los 4 estadios que presenta un mosquito de la familia Culicidae.	Larvas del mosquito presa *Aedes aegypti.*		
Tiempo de depredación	Tiempo en el que transcurre un evento de	Tiempo en el que el predador devora el 100%	Medido en horas	Tiempo estándar observado.

	estudio.	de sus presas.		
Cantidad de Agua	Cantidad de agua existente en un recipiente.	Distintas cantidades de agua que sirven para ver si influye en el tiempo en que el depredador acaba con su presa.	Medido en ml.	Cantidad estándar observado.

7. MATERIAL

El equipo de laboratorio empleado:

- Incubadoras o peceras para mosquitos.
- Cronómetros.
- Lupas.
- Estuche de disección entomológica.
- Ovitrampas.
- Cucharones

El equipo de escritorio empleado:

- Formulario de control de depredación.
- Otros materiales de escritorio comunes.

7.1 Procedimiento Experimental:

Paso 1: Recolección de Larvas Aedes aegypti y Toxorhynchites

Se recolectó de los recipientes: llantas, estanques de agua, baldes, turriles, desechables de plástico, etc., de forma manual con el uso de cucharones y posteriormente se los deposito en las incubadoras de plástico (peceras), cerrados y aislados adecuadamente.

Paso 2: Preparación de los recipientes (incubadoras).

Para el confinamiento de las larvas de Aedes aegypti y larvas del Toxorhynchites, se utilizaron recipientes de plásticos desechables con una capacidad de 3 litros, se necesitó 27 recipientes para la elaboración del trabajo experimental.

En cada incubadora se colocó un número determinado y constante de larvas de Aedes aegypti (Presa) y así como también en los mismos recipientes se colocaron un número aleatorio de larvas del Toxorhynchites (Depredador).

Paso 3: Toma de datos

La toma de datos se realizó observando constantemente la depredación de las larvas de Aedes aegypti por larvas del Toxorhynchites y culminó cuando el número de larvas de Aedes aegypti fue igual a cero, y prevaleciendo solo las larvas de Toxorhynchites, se registró la hora de inicio y la hora de depredación total (final).

8. MÉTODO ESTADÍSTICO

Cómo medida de resumen se realizó un registro del tiempo de depredación por cada incubadora observada.

Las variables del resultado se han descrito calculando su media y su desviación típica. Las estimaciones de velocidad de depredación se han estimado con un intervalo de confianza del 95%. Las diferencias entre las situaciones experimentales se han analizado y evaluado empleando estimaciones de Kaplan Meier, pruebas log-rank y modelos de regresión de Cox.

Todos estos datos fueron medidos con índice de confiabilidad del 95% equivalente a un error alfa del 5%, los datos fueron procesados con el paquete estadístico SPSS.

9. RESULTADOS

Se describe la cantidad de tiempo que tardaron las larvas de los depredadores en consumir las larvas de la presa.

TABLA 4 DESCRIPCIÓN DEL TIEMPO DE DEPREDACIÓN ENTRE LARVAS.

Factor A	Factor B	REPETICION	Larvas de Aedes aegypti	Tratamientos	TIEMPO DE DEPREDACION
1 larva Toxorhynchites	1 lt agua	1	50	1	64 h 36 min
1 larva Toxorhynchites	1.5 lt agua	1	50	2	43 h 2 min
1 larva Toxorhynchites	2 lt agua	1	50	3	27 h 38 min
2 larva Toxorhynchites	1 lt agua	1	50	4	45 h 21 min
2 larva Toxorhynchites	1.5 lt agua	1	50	5	52 h 26 min
2 larvas Toxorhynchites	2 lt agua	1	50	6	29 h 36 min
3 larvas Toxorhynchites	1 lt agua	1	50	7	12 h 1 min
3 larvas Toxorhynchites	1.5 lt agua	1	50	8	17 h 36 min
3 larvas Toxorhynchites	2 lt agua	1	50	9	5 h 11 min
1 larva Toxorhynchites	1 lt agua	2	50	1	58 h 1 min
1 larva Toxorhynchites	1.5 lt agua	2	50	2	36 h 2 min
1 larva Toxorhynchites	2 lt agua	2	50	3	18 h 5 min
2 larvas Toxorhynchites	1 lt agua	2	50	4	56 h 7 min
2 larvas Toxorhynchites	1.5 lt agua	2	50	5	60 h 3 min
2 larvas Toxorhynchites	2 lt agua	2	50	6	23 h 3 min
3 larvas Toxorhynchites	1 lt agua	2	50	7	15 h 9 min
3 larvas Toxorhynchites	1.5 lt agua	2	50	8	19 h 2 min
3 larvas Toxorhynchites	2 lt agua	2	50	9	8 h 4 min
1 larva Toxorhynchites	1 lt agua	3	50	1	70 h 19 min
1 larva Toxorhynchites	1.5 lt agua	3	50	2	41 h 45 min
1 larva Toxorhynchites	2 lt agua	3	50	3	24 h 34 min
2 larvas Toxorhynchites	1 lt agua	3	50	4	50 h 3 min
2 larvas Toxorhynchites	1.5 lt agua	3	50	5	47 h 5 min
2 larvas Toxorhynchites	2 lt agua	3	50	6	25 h 45 min
3 larvas Toxorhynchites	1 lt agua	3	50	7	13 h 5 min
3 larvas Toxorhynchites	1.5 lt agua	3	50	8	21 h 45 min
3 larvas Toxorhynchites	2 lt agua	3	50	9	10 h 25 min

Se observa en la Tabla 4 el tiempo que tardó el depredador (Toxorhynchites) en eliminar a la presa (Larvas de Aedes aegypti), con diferentes cantidades (1-2-3) del depredador. Y también se observa los diferentes volúmenes (1 lt.- 1.5 lt.- 2 lt.) de agua en los tratamientos.

9.1 Análisis de Supervivencia entre el Depredador y la Presa.

9.1.1 Cantidad de Depredadores

TABLA 5 TIEMPO DE DEPREDACIÓN DE LAS PRESAS SEGÚN LA CANTIDAD DE DEPREDADORES.

TIEMPO DE DEPREDACION				
Factor A	N	Media	Desv. típ.	p valor[1]
Un predador	9	42.6356	18.24648	-
Dos predadores	9	43.3756	13.83846	0.648
Tres predadores	9	13.6967	5.30246	0.001

Se observa en la Tabla 5, qué el tiempo que tarda en depredar 2 larvas de *Toxorhynchites* a las larvas de *Aedes aegypti* no es diferente al tiempo que tarda 1 sola larva del depredador, sin embargo el tiempo que demoran 3 larvas en depredar todas sus presas es menor, con una media de 13 horas, 33% más rápido, este resultado es significativamente menor que 1 y 2 larvas depredadoras, que en promedio tardan 42.6 horas y 43.4 horas respectivamente, además éste resultado es significativo con un p valor de 0.001.

TABLA 6 MEDIAS Y MEDIANAS DEL TIEMPO DE SUPERVIVENCIA SEGÙN NUMERO DE PREDADORES.

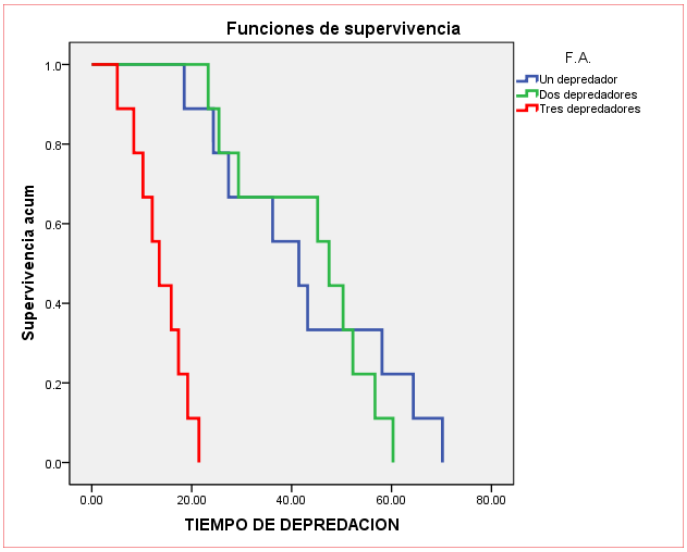
TOXO	**Media**				**Mediana**			
	Estimación	**Error típico**	**Intervalo de confianza al 95%**		**Estimación**	**Error típico**	**Intervalo de confianza al 95%**	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
1,00	42,636	6,082	30,715	54,557	41,450	7,826	26,111	56,789
2,00	43,326	4,608	34,295	52,356	47,050	2,743	41,674	52,426
3,00	13,697	1,767	10,232	17,161	13,500	2,087	9,409	17,591
Global	33,219	3,691	25,985	40,454	27,380	4,344	18,865	35,895

En la tabla 6 se presentan las estimaciones del tiempo esperado necesario para depredar 50 larvas en función de número de predadores. Se observa que los valores de medias y medianas son muy semejantes por lo que se utilizaran los estimadores

[1] El p valor es en relación a 1 depredador.

por intervalo de las medias. Los resultados muestran que con 3 predadores la velocidad de predación es el doble de rápida.

GRÁFICA 1: TIEMPO DE DEPREDACIÓN DE PRESAS SEGÚN LA CANTIDAD DE DEPREDADORES



Se ratifica lo mencionado con anterioridad, que el tiempo de depredación es menor (o sea la velocidad de depredación es mayor) con 3 larvas depredadoras (línea roja).

9.2 Efecto Volumen de Agua

TABLA 7 TIEMPO DE DEPREDACIÓN DE LAS PRESAS SEGÚN EL VOLUMEN DE AGUA.

TIEMPO DE DEPREDACION				
F.B	N	Media	Desv. típ.	p valor[2]
Un L agua	9	42.9289	22.99142	-
Litro y medio de agua	9	37.6578	15.35158	0.218
Dos litros de agua	9	19.1211	9.00094	0.003

Se observa qué la velocidad de depredación de las presas es mayor en recipientes que contenían 2 litros de agua, con un 45% más rápido, siendo esta diferencia significativa con un p valor < 0.05.

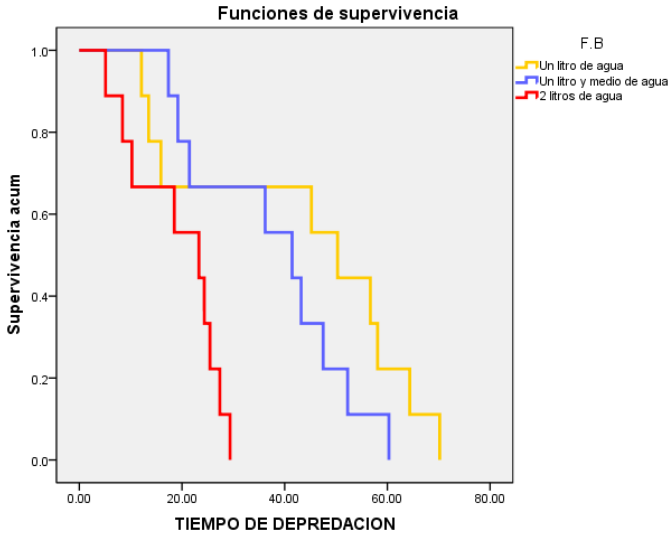
[2] El p valor es en relación a 1 litro de agua.

TABLA 8 MEDIAS Y MEDIANAS DEL TIEMPO DE SUPERVIVENCIA EN FUNCIÓN DEL VOLÚMEN DE AGUA

Medias y medianas del tiempo de supervivencia en función del volumen de agua								
Volumen Agua en litros	**Media**				**Mediana**			
	Estimación	**Error Típico**	**Intervalo de confianza al 95%**		**Estimación**	**Error Típico**	**Intervalo de confianza al 95%**	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
1,00	42,929	7,664	27,908	57,950	50,300	7,588	35,428	65,172
1,50	37,608	5,105	27,601	47,614	41,450	7,826	26,111	56,789
2,00	19,121	3,000	13,241	25,002	23,300	7,155	9,275	37,325
Global	33,219	3,691	25,985	40,454	27,380	4,344	18,865	35,895

En la tabla 8 se presentan las estimaciones del tiempo esperado necesario para depredar 50 larvas en función del volumen de agua. Se observa que los valores de medias y medianas son muy semejantes por lo que se utilizarán los estimadores por intervalo de las medias. Los resultados muestran que con 2 litros de agua la velocidad de predación es como mínimo el doble de rápida.

GRÁFICA 2 TIEMPO DE DEPREDACIÓN DE LARVAS SEGÚN EL VOLUMEN DE AGUA.



Se observa que la velocidad de depredación es mayor (ya que las presas son consumidas en menos tiempo) en recipientes con 2 litros de agua, en comparación a las otras cantidades de agua.

10 DISCUSIÓN

Un punto importante a notar es que existen larvas del *Toxorhynchites* capaces de depredar las larvas del *Aedes spp.*, se ha descrito en varios países que estas larvas son enemigos naturales de las larvas del Aedes. En este experimento hemos demostrando que en la región del Municipio de Palos Blancos se hallan larvas depredadoras del género *Toxorhynchites* además, 1 larva devora 50 larvas de *Aedes* en 43 horas. También, se observó que 2 larvas del *Toxorhynchites* tienen el mismo efecto de depredación que 1, pero 3 larvas tienen la capacidad de consumir 50 larvas en 14 horas, doblando como mínimo la velocidad de depredación de una sola larva.

Por tanto, a mayor cantidad de depredadores, mayor es la velocidad de depredación, siendo este un 33% más rápido que con 1 larva o 2. No se han encontrado estudios que permitan comparar estos resultados, los mas similares son los realizados en Brasil, donde comparan el efecto presencia, ausencia de predador y encontraron que las larvas depredadoras eliminaban a las presas 37% más rápido que cuando no habían depredadores.[19]

Si bien este dato aún no se ha reproducido a mayor escala es interesante observar que las larvas de *Toxorhynchites* es un enemigo natural de las larvas del *Aedes spp.* y que poseen una gran capacidad de depredación dependiente de la cantidad de larvas L4 del *Toxorhynchites.*

Otro resultado encontrado muestra que a mayor volumen de agua, mayor será la velocidad con la que el depredador elimina a sus presas. En 2 litros de agua la velocidad de depredación era 45% más rápido que en un litro de agua, no se encontró otras referencias bibliográficas que describan este resultado, sin embargo se considera que puede ser relevante ya que la reproducción del *Aedes* no sólo es en pequeños charcos o cúmulos de agua, también su reproducción lo hacen en grandes recipientes de agua. No obstante estos resultados se deberían replicar para poder aceptar esta evidencia puesto que al no poder contrastarse incorporan la duda de sesgos de selección de muestra.

Según los resultados se observa que habría dos velocidades de predación, una para incubadoras pequeñas (menores de 2 litros) y otra para recipientes grandes.

En los recipientes que contengan un volumen menor a 2 litros la velocidad es de 17 larvas de Aedes por predador, en 43 horas, si las poblaciones depredadores son de un mínimo de 3 Toxorhynchites.

En los recipientes con un volumen igual a 2 litros la velocidad es de 17 larvas de Aedes por predador en 20 horas, si las poblaciones son de un mínimo de 3 Toxorhynchites. No se encontraron referencias bibliográficas que describan este resultado; sin embargo, un estudio realizado en Guatemala manejó un método de experimentación empleando niveles de agua similares con el fin de observar el control biológico de depredación. [24]. Estas velocidades no pueden extrapolar a poblaciones grande de predadores y presas y es por ello que sería necesario nuevos experimentos de campo para cuantificar la eficacia de esta potencial intervención.

11 CONCLUSION

La Acción Predadora de Las Larvas del Zancudo Toxorhynchites Disminuye a las poblaciones de Larvas de Aedes aegypti, en el Municipio de Palos Blancos, Sud Yungas del Departamento de La Paz. En un medio experimental en Laboratorio.

Se alcanzó los Objetivos Específicos planteados:

- Se comparó el efecto predador de diferentes cantidades de larvas del *Toxorhynchites* sobre las larvas del *Aedes aeggypti.*

- Se describió el efecto predador de las larvas del *Toxorhynchites* a diferentes volúmenes de agua, sobre las larvas del *Aedes aegypti*.

Se acepta la Hipótesis 1, la cual establece que “La velocidad (medida con tiempo) con la que el depredador acaba con todas las presas es directamente proporcional a la cantidad de larvas que existen en el recipiente”

Se acepta la Hipótesis 2, la cual establece que “La velocidad de depredación de las presas varia en relación al volumen de agua existente en los recipientes”.

12 RECOMENDACION

Con los resultados obtenidos y teniendo en cuenta que estas larvas depredadoras viven en los habitads tropicales y subtropicales que tienen como fuente de reproducción las larvas del *Aedes*, parece oportuno proponer a las autoridades sanitarias potenciar en estos habitads mediante medidas especificas ,que amplifiquen el desarrollo de las poblaciones Toxorhynchites para controlar las poblaciones de *Aedes*.

Además, dentro del manejo integral de las enfermedades vectoriales se debería implementar laboratorios entomológicos, en estas zonas afectadas, para el desarrollo y reproducción de esta especie.

Se recomienda investigar sobre otras especies de Toxorhynchites y otros agentes de control natural, en el ecosistema, de la zona de los Yungas del departamento de La Paz.

A la población y autoridades en general se sugiere que para eliminar al vector no solo se aplique el control químico y físico, sino también el control biológico aplicado, como alternativa de tratamiento y por ende para cuidar el medio ambiente.

La investigación realizada debería considerarse como referencia para futuros estudios en otras zonas tropicales de nuestro país.

13 BIBLIOGRAFÍA

[1] C. A. I. John L. Ingraham, Introducción a la Microbiología, Barcelona: Reverté, 1998.

[2] J. G. H. H. H. Hagedorn, Molecular insect science, Arizona - Estados Unidos: Spring Street, 2000.

[3] O. M. d. l. Salud, Dengue, guias para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control, La Paz - Bolivia: Banco Mundial, PNUD, 2009.

[4] H. Echenique, Fiebre amarilla, Guía para el equipo de salud., Buenos Aires: Ministerio de salud de Argentina, 2010.

[5] Y. T. Villaman, Guía de manejo clínico para la infección por el virus Chikungunya, Santo Domingo: Ministerio de Salud República Dominicana, 2014.

[6] G. P. Wallace Peters, Atlas de Medicina tropical y parasitología, Madrid - España: El sevier, 2008.

[7] L. B. F. Ana P. Vilela, «Dengue Virus 3 genotype 1 in Aedes aegypti Mosquitoes and eggs, Brazil, 2005 - 2006,» *Emerging Infectious Diseases,* pp. 989 - 992, 2010.

[8] M. M. J. P. -. I. D. Günther J, «Evidence of vertical transmission of dengue virus in two endemic localities in the State of Oaxaca,» *Intervirology,* pp. 347 - 352, 2007.

[9] A. M. G. L. Julian M. Crampton, Molecular characterization and genome manipulation of the mosquito, Aedes aegypti, Arizona: 1 - 25, 1989.

[10] O. P. S. Ilias C. Papanikolau, Clinical Practice in Tropics, Oxford - London - Inglaterra: El Sevier - Novena edición, 2013.

[11] M. Service, Medical Entomology for students, Cambridge - New York - EEUU: Chapman Hall, Quinta Edición, 2012.

[12] G. D. García, E. Estrella y J. Navarro, «El Código Sanitario Panamericano: hacia una política de salud continental.,» *Current Topics, Rev. Panamericana de Salud Pública,* pp. 350 - 361, 1999.

[13] A. Ali, C. L. Cantrell, U. R. Bernier y S. O. Duke, «Aedes aegypti, Biting deterrence: Structure Activity Relationship of Saturated and Unsaturated Fatty Acids,» *Entomological Society of America,* pp. 1368 - 1378, 2012.

[14] B. Carreras, «Aplicaciones de la bacteria entomopatógena Bacillus thuringiensis en el control de fitopatógenos,» *Revista Corpoica,* pp. 129 - 133, 2011.

[15] A. L. A. K. R. V. R. Boyce, «Bacillus thuringiensis israelisensis for the control of dengue vectors: systematic literature review,» *Tropical medicine and international health,* vol. 18, nº 5, pp. 564 - 577, 2013.

[16] P. K. Mittal, «Biolarvicidas en control del vector: challenges and prospects,» *Centre Malaria Research,* pp. 20 - 32, 2003.

[17] S. S. O. B. Nyamah M.A., «Fiel obsevation on the efficacy of Toxorhynchites splendens as a biocontrol agent against Aedes albopictus larvae in a cemetery,» *Tropical biomedicine,* vol. 28, nº 2, pp. 312 - 319, 2011.

[18] M. Trpis, «Interaction between the predator Toxorhynchites brevipalpis and its prey Aedes aegypti,» *Revista de la OMS Entomologist/Ecologist,* nº 49, pp. 359 - 365, 1973.

[19] G. F. M. M. R. A. R. F. K. E. F. V. Daniel S. Albeny, «Aedes aegypti survival in the presence of Toxorhynchites violaceus fourth instar larvae,» *Sociedad Brasileira de Zoología,* vol. 28, nº 4, pp. 538 - 540, 2011.

[20] F. S. M. d. B. P. T. Nildimar A. Honorio, «Occurrence of Toxorhynchites guadeloupensis in oviposition trap of Aedes aegypti,» *Neutropical entomology,* vol. 36, nº 5, pp. 809 - 811, 2007.

[21] N. V, W. JR, L. D y e. al, «Genome sequence of Aedes aegypti, a major arbovirus vector,» *Science (journal),* p. 1718–23, 2007.

[22] Triplehorn y C. &. Johnson, de *Borror and Delong's Introduction to the Study of Insects*, California-Estados Unidos, Editorial Thomson Brooks/Cole, 2005, p. 864.

[23] S. –. L. P. –. M. D. SALUD., « Manual operativo de vigilancia y control entomológico de Aedes aegypti, vector del dengue,» La Paz, 2011.

[24] C. A. M. Quiñonez, «Control biológico de larvas de Aedes aegypti, vector del dengue, con larvas depredadoras de Toxorhynchites sp. (Diptera: Culicidae), en los cementerios municipales de Villa Nueva y Amatitlán, Guatemala,» Villa Nueva-Amatitlán- Guatemala, 2008.

[25] Collins y Blackwell, «Color cues for oviposition behaviour in Toxorhynchites moctezuma and Toxorhynchites amboinensis mosquitoes,» *Journal of Vector Ecology,* p. 9, 2000.

[26] Darsie y Morris, «Keys to the adult females and fourth-instars larvae of the mosquitoes of Florida (Diptera, Culicidae),» *Technical bulletin of the Florida Mosquito Control Association.,* p. 159, 2000.

[27] Badii, Garza, Landeros y Quiroz, « Diversidad y Relevancia de los Mosquitos,» *CULCyT/Bionomía-México,* pp. 4-16, 2006.

[28] Bay y e. al., «Mosquito Control Some Perspectives for Developing Countries,» *National Academy of Science. Washington,* p. 52, 1973.

[29] Reyes, «El Dengue, Bionomía del vector, transmisión y opciones para su control en México,» *Ciencia-México,* pp. 45-55, 1990.

[30] Bay y e. al., «Mosquito Control Some Perspectives for Developing Countries,» *National Academy of Science. Washington,* p. 52, 1973.

[31] B. CE y e. al., «Mosquito Control Some Perspectives for Developing Countries,» *National Academy of Science. Washington,* p. 52, 1973.

[32] Clark &Darsie, 1983; Ibánez& Gómez, 1995;Salvatella, 1996; Tabaru et. al., 1998; Diéguez et. al., 2006.

[33] Sanchez Manuel y Col., “El uso de Insectos Depredadores en el Control Biológico Aplicado” p. 141-149, 1997.

[34] Servicio de Epidemiologia SEDES La Paz. Boletin Informativo 2012

[35] Servicio de epidemiologia SEDES La Paz, Boletìn Informativo 02-04-2014.

[36] USAID, “Plan de Desarrollo Municipal Palos Blancos” 2012

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Unidades de Medida.

Abreviatura	Significado
DEN	Dengue
Min	Ministerio
Etc.	etcetera
OMS	Organización Mundial de la Salud
IH	Inhibición-hemaglutinación
FC	Fijación de complemento
NT	Neutralización
MAC-ELISA.	Prueba de inmunocaptura enzimática de la inmunoglobulina
ARN:	Acido Ribonucleico
RT-PCR:	Métodos serológicos y virológicos
PPM	Parte por millón
Ssp	Sin especificar
ml	mililitro
Factor A	Cantidad de Larvas
a1	1 larva de zancudo Toxorhynchites
a2	2 larvas de zancudo Toxorhynchites
a3	3 larvas larva de zancudo Toxorhynchites.
Factor B	volúmenes de agua

b1	1litro de agua.
b2	1. 5 litros de agua.
b3	2 litros de agua.

Anexos

Anexo 1: Equipo de Trabajo

Lorenzo Ticona [1.1], Felix Forra [1.2], Martha Layme [1.3], Claudio Parada [1.4]

Anexo 2: Cronograma de Actividades para el 2013, 2014 y 2015

ACTIVIDADES	2013								2014					2015
	MAR	ABR	MAY	JUN	SEP	OCT	NOV	DIC	JUL	AGO	SEP	OCT	DIC	ENE
Recopilación de datos bibliográficos y metodología para el estudio de campo en coordinación con tutor.														
Recojo de información en el municipio de palos blancos sobre la infestación de Aedes Aegipty.														
Elaboración del perfil del trabajo de investigación.														
Trabajo de Laboratorio, levantamiento de base de datos en el municipio de palos blancos.														
Elaboración de resultados														
Presentación de documento final.														
Defensa del proyecto de tesis														

Anexo 4: Criaderos del *Toxorhynchites* y *Aedes aegypti*

Anexo 5: Larvas del *Toxorhynchites* y *Aedes aegypti*

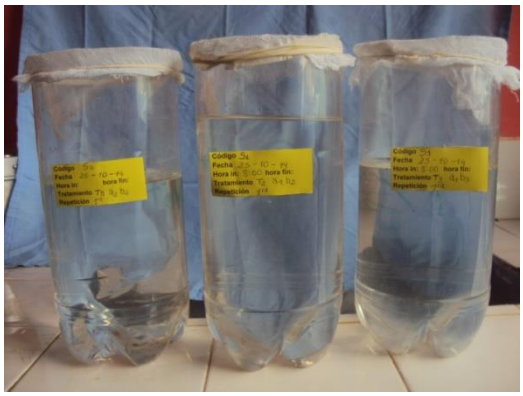
***Toxorinchites* Adulto**

Anexo 6: Recolección de los Agentes de Estudio Larvas *de Aedes aegypti* y *Toxorhynchites*

Anexo 7: Pecera común de Aislamiento del Larvas de *Aedes aegypti* y *Toxorhynchites*

Anexo 8: Armado de las Pesceras en Laboratorio

con el Equipo de Investigacion



Tratamientos (Peceras) en Laboratorio

LABORATORIO DE
EXPERIMENTACION
TOXORHYNCHITES
AEDES

Anexo 9: Observación del Efecto Depredador en el Laboratorio

Anexo 10: Socialización de la Investigación con Autoridades.