

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
UNIVERSIDAD DE BARCELONA
VICERRECTORADO
CENTRO PSICOPEDAGÓGICO Y DE INVESTIGACIÓN EN
EDUCACIÓN SUPERIOR**



**ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA A
LOS INSECTICIDAS DEL *Aedes aegypti*, VECTOR DEL
DENGUE EN BOLIVIA**

Tesis presentada al Programa de Posgrado en Salud Internacional a la Universidad de Barcelona en convenio con la Universidad Mayor de San Andrés para la obtención del grado de Magister en Medicina Tropical y Salud Internacional

MAESTRANTE: RONALD WILY LÓPEZ RODRÍGUEZ

AUSPICIO: AGENCIA ESPAÑOLA DE
COOPERACIÓN INTERNACIONAL PARA
EL DESARROLLO



LA PAZ - BOLIVIA

2015

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
UNIVERSIDAD DE BARCELONA
VICERRECTORADO
CENTRO PSICOPEDAGÓGICO Y DE INVESTIGACIÓN EN
EDUCACIÓN SUPERIOR**



**ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA A
LOS INSECTICIDAS DEL *Aedes aegypti*, VECTOR DEL
DENGUE EN BOLIVIA**

Tesis presentada al Programa de Pos graduación en Salud Internacional a la Universidad de Barcelona en convenio con la Universidad Mayor de San Andrés para la obtención del grado de Magister en Medicina Tropical y Salud Internacional

MAESTRANTE: RONALD WILY LÓPEZ RODRÍGUEZ

TUTORES:

DRA. TAMARA CHÁVEZ

DR. FREDERIC LARDEUX

LA PAZ - BOLIVIA

2015

CARTA DE COMPROMISO PARA CEDER LOS DERECHOS DE PUBLICACIÓN 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 Universidad de Barcelona 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 se 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

Ronald López Rodríguez
La Paz, marzo de 2015

AGRADECIMIENTOS

- A la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo.
- Al Ministerio de Salud.
- Al Centro Psicopedagógico y de Investigación en Educación Superior.
- Al Dr. Carlos Ascaso Terren y a todo el equipo de trabajo de la Universidad de Barcelona por el empeño y esfuerzo en la programación de cada módulo de clases.
- A la coordinación del Programa por todo el apoyo en este proceso de formación académica.
- A los docentes nacionales y extranjeros por las enseñanzas y experiencias compartidas.
- A la Dra. Tamara Chavéz y al Dr. Frederic Lardeux por su apoyo permanente en el desarrollo de este trabajo.
- A todos los compañeros del Laboratorio de Entomología Médica del INLASA por su constante ayuda.

DEDICATORIA

**Dedico el presente trabajo
con gratitud y admiración a mí
Mamá estar siempre ahí cuando
necesito su ayuda y sus consejos.**

RESUMEN

El dengue es la enfermedad viral de más rápida propagación en el mundo, es una arbovirosis producida por cuatro serotipos (DENV-1 a DENV-4), generalmente transmitida por mosquitos de la especie *Aedes aegypti*. No existe un tratamiento específico ni están disponibles vacunas contra esta arbovirosis; por lo que la más eficiente opción para combatir esta enfermedad es el control del vector mediante el uso de insecticidas. Como resultado, en muchos países se han detectado poblaciones de *Aedes aegypti* resistentes a los insecticidas. La Organización Mundial de la Salud define a la resistencia como “el desarrollo de la habilidad de una cepa de algún organismo de tolerar dosis de insecticida que son letales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie”. Para contrarrestar la carga de esta enfermedad, la evaluación de la resistencia a los insecticidas, estrategias alternativas de control y el ensayo de nuevos insecticidas de otras familias y formulaciones se deben probar. El presente estudio pretende evaluar la respuesta de poblaciones de *Aedes aegypti* de varios lugares del país a las diferentes familias de insecticidas mediante la realización de bioensayos estandarizados por la OMS; haciendo énfasis en los utilizados para su control por el Programa de Control Vectorial del Ministerio de Salud. Se encontró que todas las cepas probadas al larvicida Temephos presentan una resistencia baja al mismo con excepción de tres cepas que presentan una resistencia media. En relación a los insecticidas piretroides, se determinó que todas las cepas son resistentes a la Deltametrina y a la Lambdacyhalotrina con excepción de tres cepas que muestran un estatus de cepas a vigilar a la Deltametrina. Todas las cepas probadas fueron sensibles al Malatión y al Propoxur. Finalmente todas las cepas mostraron una marcada resistencia al DDT. Los resultados obtenidos nos muestran que todavía se puede utilizar el temephos para el control de las formas inmaduras del *Aedes aegypti*, sin embargo se debe tener mucho más cuidado con la aplicación de los insecticidas piretroides puesto que las cepas estudiadas no responden de la misma manera poniendo en riesgo las estrategias del Programa para el control de la enfermedad. La resistencia de todas las cepas al DDT nos indica la presencia de un mecanismo bioquímico de resistencia que debe ser esclarecido en futuros estudios.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, Resistencia a insecticidas, bioensayos, Temephos, Deltametrina, Lambdacyhalotrina

SUMMARY

Dengue is a viral disease of fast propagation in the world, is an arbovirosis produced by four serotypes (DENV-1 to DENV-4), that generally is transmitted by mosquitos of the *Aedes aegypti* species. A specific treatment does not exist nor are available vaccines against this arbovirosis; reason why the most efficient option to fight this disease is the vector control with the use of insecticides. These activities have produced resistant populations of this insect to insecticides in many countries. Resistance is defined by the World Health Organization as “the development of an ability in a strain of some organism to tolerate doses of a toxicant that would prove lethal to a majority of individuals in a normal population of the same species.” In order to avoid the load of this disease, the evaluation of the resistance to insecticides, alternative strategies of control and the evaluation of new insecticides of other families and formulations are need to probe. The present study tries to evaluate the answer of populations of *Aedes aegypti* of several places from the country to different insecticide families by the realization of bioassays standardized by the WHO; making emphasis in the insecticides used by the Vectorial Control Program of the Ministry of Health. All the strains where proven to the larvicide Temephos, showing a low resistance except for three strains that offer a medium resistance. In relation to piretroid insecticides, it was determined that all the stocks are resistant to Deltamethrin and Lambdacyhalothrin except for three strains that show a status of strains to watch to Deltamethrin. All the proven strains were sensible to Malathion and Propoxur. Finally all the stocks showed an important resistance to DDT. The obtained results shows that Temephos could be used for the control of the immature forms of *Aedes aegypti*, however it has to take much care with the application of piretroid insecticides because in the studied strains do not respond in the same way putting in risk the strategies of the Program for the control of the disease. The resistance of all the strains to DDT indicates the presence of a biochemical mechanism of resistance that must be clarified in future studies.

Key words: *Aedes aegypti*, Insecticide resistance, bioensayos, Temephos, Deltametrina, Lambdacyhalotrina

ARU LAKSU

Dengue ukax ma jan wali usuwa makiwa uraqpachan miranti ukatxa pusi kasta serotipos (DENV-1 a DENV-4) ukat sartaraki, juk`ampachasa *Aedes aegypti* uka jisk`a laq`unakaw uka jiskà apnaqapxaraki, arbovirosis uka usunakat jarkàqañatakixa janiwa kuna vacunas, ukhamarak qullanakas utjkiti, maysa tuqitxa jan uka usump usuntañatakixa control de vector sataki ukampikirakiw jark`aqassna, juk`ampachasa insectidas ukampipixa walja jach`a markanakanwa uka usut jark`aqasipxi. Organización Mundial de la Salud ukankirinakaxa sapxiwa janchinakasaxa suma k`umar uñjatañapawa, ukhakiwa kuna qullanakasa jank`aki uka usunakata qullarakispa. Maysa tuqitxa aka ñanqha usunakat qullañatakixamay maya tuqit yant`ataspa kunalaykutixa kast kasta kullanakampiwa qullaraksna. Aka yatxatawixa uksa tuqir chiqañ`atarakiwa, kunalaykutixa *Aedes aegypti* uka markankirinakarux waljachaqt`anakaruw jan walt`aykiti. Ukatxa OMS ukan janapt`apampix kunayman bioensayos kast qullanakampiw qullanataraki, juk`ampachasa chiqacht`ayatawa Programa de Control Vectorial del Ministerio de Salud uksa tuqita. Uka kipkaraki aka usunakaxa kast kastarakiw utji, yaqhipanakax wali ch`ullqhinaka yaqhipanakasti makiw chhaqapxarakispa. Insectidas piretroides ukamp kikiptr`aytaxa ukanakax wali ch`ullqhinakawa, Deltametrina ukhamarak Lambdacyhalotrina uka kimsa yaqhnakampixa wali ch`ullqhinakaw jikqhatasipxi ukanakax wali jak`at uñakipataskiwa deltametrina ukana aka jink`a laqunakax turpatakikipxiwa DDT. *Aedes aegypti* uksataphapit uka jisk`a laq`unakaxa suma uñakipañatakiwa. Ukhamaraki usunakata qullañatakixa suma uñakipt`añawa, janiwa aka kast kasta usunakat qullañatakix suma tukuchatakiti, ukhamarusa janiw sum qullkiti uka ñanqha usunkaruxa. Aka kasta kasta laq`unakar qullsuñatakixa suma yatxatañawa taqha yatxatawinakaw utjañapa.

Yagat arunaka: *Aedes aegypti*, ch`ullqhi laq`unaka, bioensayos, temephos, deltametrina, Lambdacyhalotrina

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 EL DENGUE EN EL PASADO.....	1
1.2 INTRODUCCION DEL DENGUE EN LAS AMÉRICAS.....	1
1.3 PLAN CONTINENTAL PARA LA ERRADICACIÓN DEL <i>Aedes aegypti</i>	2
1.4 REINFESTACION DEL <i>Aedes aegypti</i> (1971 – 1999)	3
1.5 REINFESTACIÓN DEL <i>Aedes aegypti</i> en BOLIVIA.....	4
1.6 EPIDEMIOLOGÍA DEL DENGUE.....	5
1.6.1 DENGUE EN LAS AMÉRICAS	5
1.6.2 DENGUE EN BOLIVIA.....	7
1.7 CLASIFICACIÓN DE LOS CASOS DE DENGUE	8
1.8 EL VIRUS	8
1.9 EL VECTOR	9
1.10 CICLO BIOLÓGICO DEL <i>Aedes aegypti</i>	10
1.10.1 FASE DE HUEVOS.....	10
1.10.2 FASE LARVAL	11
1.10.3 FASE PUPAL	12
1.10.4 MOSQUITO ADULTO	12
1.11 RESISTENCIA A LOS INSECTICIDAS	13
1.12 DESARROLLO DE LOS INSECTICIDAS	14
1.13 CLASIFICACIÓN DE LOS INSECTICIDAS	15
1.13.1 ORGANOCLORADOS	15
1.13.2 ORGANOFOSFORADOS.....	16
1.13.3 CARBAMATOS	16
1.13.4 PIRETROIDES	16
1.14 OTROS TIPOS DE INSECTICIDAS	18
1.14.1 REGULADORES DE CRECIMIENTO	18
1.14.2 INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE QUITINA	18
1.15 MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS INSECTICIDAS	18
1.15.1 RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN.....	19
1.15.2 SITIO INSENSIBLE O SITIO BLANCO ALTERADO.....	19
1.15.3 REDUCIDA SENSIBILIDAD EN EL SISTEMA NERVIOSO.....	19
1.15.4 RESISTENCIA METABÓLICA.....	20
1.16 VIGILANCIA ENTOMOLÓGICA	20
1.7 ESTRATEGIAS DE CONTROL DE <i>Aedes aegypti</i>	21
1.17.1 ELIMINACIÓN DE CRIADEROS DE <i>Aedes aegypti</i>	21
1.17.2 CONTROL QUÍMICO.....	22
1.17.3 TRATAMIENTOS ESPACIALES CON EQUIPOS PESADOS	22
1.17.4 TRATAMIENTOS ESPACIALES INTRADOMICILIARIOS CON EQUIPO PORTÁTIL.....	23
2 JUSTIFICACIÓN	24
3. OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GENERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	27

4.1 COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	27
4.2 AMPLIFICACIÓN DE LAS CEPAS EN EL LABORATORIO	27
4.3 BIOENSAYOS CON LARVAS DE MOSQUITOS	28
4.3.1 CRITERIO DE ACEPTACIÓN DEL ENSAYO	29
4.3.2 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES INSECTICIDAS CON ETANOL	29
4.3.3 NÚMERO DE CONCENTRACIONES A UTILIZAR.....	30
4.3.4 NÚMERO DE RÉPLICAS DEL ENSAYO	30
4.3.5 RECOMENDACIONES	30
4.4 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES INSECTICIDAS.....	31
4.4.1 IMPREGNACIÓN DE PAPELES CON SOLUCIONES INSECTICIDAS	31
4.5 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA DE MOSQUITOS A LOS INSECTICIDAS, PROTOCOLO DE LA OMS	32
4.5.1 BIOENSAYOS INSECTICIDAS DE TIPO DOSIS DIAGNÓSTICA	33
4.5.2 BIOENSAYOS INSECTICIDAS DE TIPO DOSIS-MORTALIDAD	34
4.5.3 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DEL ENSAYO	35
4.5.4 NÚMERO DE CONCENTRACIONES A USAR.....	35
4.5.5 LAVADO DEL MATERIAL.....	35
4.5.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS MOSQUITOS	35
4.5.7 CONDICIONES DE REALIZACIÓN DEL ENSAYO	35
5. RESULTADOS	37
5.1 CEPAS DE <i>Aedes aegypti</i> ESTUDIADAS.....	37
5.2 RESULTADOS DE BIOENSAYOS LARVARIOS	38
5.3 RESULTADOS DE BIOENSAYOS DE TIPO DOSIS DIAGNÓSTICA	39
5.3.1 RESULTADOS OBTENIDOS A LOS INSECTICIDAS PIRETROIDES.....	40
5.3.2 RESULTADOS A INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS	41
5.3.3 RESULTADO OBTENIDO AL INSECTICIDA ORGANOCOLORADO.....	42
5.4 RESULTADOS DE BIOENSAYOS DE TIPO DOSIS MORTALIDAD	42
6. DISCUSIÓN	44
7. CONCLUSIONES.....	51
8. RECOMENDACIONES	52
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de dengue en el mundo	5
Figura 2. Incremento de casos de dengue en América 1980 - 2010.....	6
Figura 3. Incremento de casos de dengue en Bolivia 1997 - 2014	7
Figura 4. Ciclo biológico de <i>Aedes aegypti</i>	11
Figura 5. Estructura química de las principales familias insecticidas.....	17
Figura 6. Ubicación geográfica de cepas de <i>Aedes aegypti</i>	37
Figura 7. Gráfica de bioensayos con Temephos	39
Figura 8. Gráfica de bioensayos con Deltametrina.....	43
Figura 9. Distribución de la resistencia al Temephos	45
Figura 10. Variación del factor de resistencia de Trinidad al Temephos.....	46
Figura 11. Distribución de la resistencia a la Deltametrina.....	47
Figura 12. Variación del factor de resistencia de Trinidad a la Deltametrina	48

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cepas de <i>Aedes aegypti</i> estudiadas	38
Tabla 2. Resultados de los bioensayos larvarios.....	38
Tabla 3. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para la Deltametrina	40
Tabla 4. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para la Lambdacyhalotrina...	40
Tabla 5. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para el Malation.....	41
Tabla 6. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para el Propoxur.....	41
Tabla 7. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica a para el DDT	42
Tabla 8. Resultados obtenidos del factor de resistencia para la Deltametrina	43

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
DDT	Dicloro Difenil tricloroetano
OPS	Organización Panamericana de la Salud
DENV-1	Virus del dengue 1
DENV-2	Virus del dengue 2
DENV-3	Virus del dengue 3
DENV-4	Virus del dengue 4
FHD	Fiebre hemorrágica por dengue
OMS	Organización Mundial de la Salud
ARN	Ácido ribonucleico
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
IGRs	Reguladores del crecimiento
Kdr	Resistencia por Knock down
HR	Humedad relativa
DL 50	Dosis letal 50
FR	Factor de resistencia
LIN	Laboratoire de Lutte contre les Insectes nuisibles

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EL DENGUE EN EL PASADO

La primera referencia de un caso de Dengue, aparece en una enciclopedia médica china publicada en la dinastía Jin (265 – 420 d. c.), formalmente editada durante la Dinastía Tang en el año 610, y publicada nuevamente durante la Dinastía Song del norte, el año 992, que describe una especie de “agua envenenada” asociada a insectos voladores, que tras su picadura provocaban unas fiebres muy elevadas. (1)

El Dengue, se extendió fuera de África entre los siglos XV y XIX, debido al desarrollo de la marina mercante y la creciente migración de personas, especialmente en los siglos XVIII y XIX, lo que ocasionó que las ciudades portuarias crecieran y se urbanizaran, creando condiciones ideales para el hábitat del mosquito vector, *Aedes aegypti*. Durante los viajes marítimos, el mosquito se mantenía vivo en los depósitos de agua de las bodegas. De esta forma, tanto el mosquito como el virus se expandieron a nuevas áreas geográficas causando epidemias separadas por intervalos dados por los viajes marítimos. (1)

Las primeras epidemias de dengue reportadas datan de 1779 a 1780 en Asia, África y América del Norte. La ocurrencia casi simultánea de los brotes en tres continentes indica que estos virus y el mosquito vector que los transporta han estado ampliamente distribuidos en las áreas tropicales y subtropicales durante más de 200 años. Durante gran parte de este tiempo, se pensaba que el dengue era una enfermedad leve y no mortal, que afectaba a las personas que visitaban las áreas tropicales. En general, se dieron largos intervalos (10 a 40 años) entre las epidemias más importantes, principalmente porque la introducción de un nuevo serotipo en una población susceptible se daba solamente si los virus y su mosquito vector podían sobrevivir el lento transporte en veleros entre los centros poblados. (1)

1.2 INTRODUCCION DEL DENGUE EN LAS AMÉRICAS

La primera epidemia que se sospecha que fue producida por dengue fue reportada primero en 1635 en Martinica y Guadalupe y posteriormente en 1699 en Panamá; sin embargo, es muy difícil atribuir estos brotes al dengue sin una descripción clínica detallada. Durante el siglo XIX, los brotes de dengue fueron

comunes en las ciudades portuarias del Caribe y el continente americano, principalmente relacionadas a actividades comerciales. Para finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX se observó una más amplia distribución de la enfermedad, la cual incluía ciudades tan al norte en Estados Unidos o tan al sur como Chile o Argentina. (2)

1.3 PLAN CONTINENTAL PARA LA ERRADICACIÓN DEL *Aedes aegypti*

La era moderna de la investigación en dengue comenzó en 1943 cuando los virus que causaban el dengue fueron aislados por primera vez y se pudieron desarrollar pruebas de diagnóstico; la descripción de la mayoría de las epidemias de este periodo se basaba en características clínicas y epidemiológicas. (2)

La primera iniciativa para eliminar el *Aedes aegypti* fue llevada a cabo por William Gorgas en la Habana Cuba en 1901 influenciado por la teoría de Carlos Finlay sobre el papel del mosquito como vector de la fiebre amarilla. La técnica se basó en el control del mosquito mediante fumigación y la eliminación de los sitios de cría. (2)

Posteriormente, la Fundación Rockefeller estableció una intensiva campaña contra el vector en colaboración con el gobierno del Brasil, eliminando a los mosquitos en grandes áreas del país. Resultados similares fueron obtenidos en otros países como Bolivia, Colombia, Ecuador, Paraguay y Perú. Junto con el descubrimiento del DDT, se reforzó la idea de la erradicación del mosquito no solo a lo largo del país, sino a escala continental. Esto llevó a la aprobación del plan continental de erradicación del *Aedes aegypti* en 1947 para combatir la fiebre amarilla. (2)

El trabajo de erradicación del *Aedes aegypti* por la Fundación Rockefeller en Bolivia se inició en 1932 en 65 localidades distribuidas en 5 Departamentos: Santa Cruz, Cochabamba, Beni, Tarija y Pando. Inicialmente se comenzó el trabajo de erradicación en el Departamento de Santa Cruz, culminando en la localidad de Yacuiba del Departamento de Tarija. En 1948 se oficializó la declaratoria de libre del vector. (3). En esa campaña fue Bolivia fue el primer país en eliminar la presencia del vector en las 65 localidades donde inicialmente fueron reportadas. (4)

Sin embargo, a pesar de los esfuerzos para eliminar el vector, este no fue erradicado de Cuba, Estados Unidos, Venezuela y varios países caribeños. Por lo que posteriormente, dos epidemias sucedieron en estas regiones: la primera entre 1963 y 1964 que comenzó en Jamaica y se expandió a Puerto Rico, las Antillas Menores y Venezuela. La segunda epidemia sucedió entre 1968 a 1969, que también comenzó en Jamaica, que se expandió a Puerto Rico y Haití, (2)

Desafortunadamente, décadas de esfuerzos sin precedentes para erradicar el *Aedes aegypti*, fracasaron rápidamente. Entre 1962 y 1972, solo tres países más eliminaron al vector a pesar de las políticas de erradicación llevadas por la OPS. El deterioro del programa de erradicación se debió principalmente a la pérdida de apoyo político en la mayoría de los países que habían logrado esta erradicación. Más aún, la vigilancia entomológica gradualmente fue declinando de tal manera que las pequeñas reinfestaciones ya no podían ser detectadas y la estructura de los programas respondía muy lentamente a estas. (2)

Además, del insuficiente saneamiento ambiental de los grandes centros urbanos y la rápida expansión de los viajes domésticos e internacionales favoreció la dispersión pasiva del mosquito. Otros factores que contribuyeron al deterioro de los programas de erradicación incluyeron: el desarrollo de la resistencia al DDT por parte del mosquito y otros insecticidas organoclorados, costos elevados para el control, insuficiente apoyo de la población o apoyo del sector salud y el rechazo por parte de algunos gobiernos para unirse a la campaña. (2)

1.4 REINFESTACION DEL *Aedes aegypti* (1971 – 1999)

El deterioro de los programas de control durante la década del 60 permitió la reintroducción y expansión geográfica del mosquito con los subsecuentes brotes producidos por diferentes serotipos en varios países de la región. A comienzos de la década de 1980 el número de casos reportados comenzó a incrementarse considerablemente y esta tendencia se mantuvo durante las siguientes décadas. En 1981, Cuba reportó una epidemia con 344000 casos que incluyó 10300 casos de dengue hemorrágico y 158 muertos, 101 de los cuales fueron niños, fue la primera epidemia con casos dengue hemorrágico reportado en la región, la misma que fue considerada una de las peores en este periodo debido al número fallecidos. (2)

En 1986 el serotipo DENV-1 fue introducido en Rio de Janeiro, el cual se expandió rápidamente, causando brotes en países que estuvieron libres de dengue por décadas o que no tuvieron experiencia en tratar la enfermedad como Bolivia (1987), Paraguay (1988), Ecuador (1988) y Perú (1990). A pesar del incremento del número de casos en la región, la incidencia de dengue hemorrágico permaneció bajo hasta 1989 cuando una nueva epidemia fue reportada en Venezuela entre 1989 a 1990 con más de 6000 casos y 73 muertes, esta epidemia se relacionó con los serotipos DENV-1, DENV-2 y DENV-4, siendo el serotipo 2 el más predominante y específicamente asociado con casos fatales. (2)

1.5 REINFESTACIÓN DEL *Aedes aegypti* en BOLIVIA

Entre 1948 y 1957 la vigilancia de este mosquito estuvo a cargo del Servicio de Endemias Rurales. Desde 1958 la vigilancia fue ejercida por el Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (SNEM). A partir de 1966, esta actividad fue transferida al Instituto Nacional de Enfermedades Transmisibles (INET). En 1971 se reestructuró el programa de vigilancia con la participación de la OPS/OMS y el INET, elaborando un plan para la vigilancia del *Aedes aegypti* con encuestas entomológicas esporádicas en algunas localidades del Beni, Tarija, siendo las mismas interrumpidas en 1977 (5)

El 7 de febrero de 1980, durante las prácticas sobre el terreno de “Vigilancia del *Aedes aegypti*”, en el adiestramiento de personal para encuestas entomológicas efectuado en Santa Cruz, se encontraron larvas y mosquitos adultos del vector, que fueron identificados por el personal que practicaba en el curso. Posteriormente se identificó el género y especie en el Centro de Enfermedades Tropicales (CENETROP) y en el laboratorio del Programa Regional de Erradicación del *Aedes aegypti* en Bogotá, Colombia. Conocida la reinfestación en Santa Cruz, se informó oficialmente a la OMS y países vecinos. Las medidas inmediatas fueron el trabajo de saneamiento (recolección y tratamiento de desechos sólidos), educación en salud; tratamiento de criaderos con petróleo y kerosene (5)

1.6 EPIDEMIOLOGÍA DEL DENGUE

El dengue es la enfermedad viral de más rápida propagación en el mundo. En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con la creciente expansión geográfica hacia nuevos países y en la actual década de áreas urbanas a rurales. Anualmente ocurre un estimado de 50 millones de infecciones por dengue y, aproximadamente 2500 millones de personas viven en países que tienen dengue endémico (1). El dengue es una arbovirosis producida por 4 serotipos (DENV-1 a DENV-4), que es transmitida por mosquitos de la especie *Aedes aegypti*. La mayoría de las infecciones por dengue son asintomáticas; sin embargo, el virus también puede causar una ligera fiebre o más severas formas de la enfermedad (2).



Fuente: Organización Mundial de la Salud

Figura 1. Distribución de dengue en el mundo

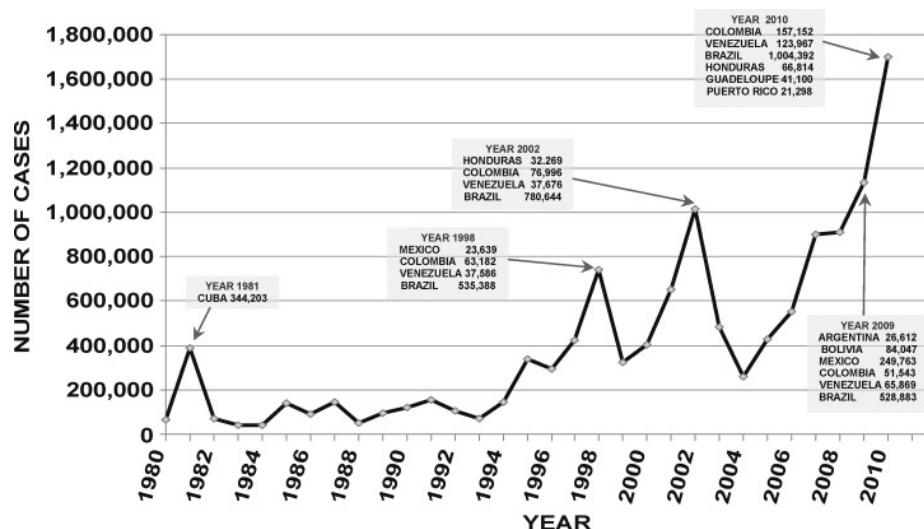
1.6.1 DENGUE EN LAS AMÉRICAS

En las Américas, la enfermedad tiene un patrón endemoepidémico e incluye la circulación de los cuatro serotipos del virus; durante los últimos 25 años, las epidemias se han sucedido cada tres a cinco años y su impacto ha ganado en fuerza con el tiempo, llevando a una situación de hiperendemicidad (3). Esto generó a que el continente Sudamericano una vez más se haya convertido en el epicentro de la diseminación de esta epidemia con un incremento de casos detectables de dengue durante las últimas tres décadas. Es así que Bolivia experimentó el primer caso reemergente de dengue en 1987, seguida de Paraguay en 1988 y Perú en 1990; teniendo en cuenta que en aquella época solo el serotipo DENV-1 del virus estaba presente. (6)

De 2001 a 2007, más de 30 países notificaron más de 4 millones de casos de dengue. El número de casos de fiebre hemorrágica por dengue (FHD) en el mismo período fue de 106037. El número total de muertes por dengue de 2001 a 2007 fue de 1.299, con una tasa de letalidad por la forma hemorrágica de 1,2%. Los cuatro serotipos del virus del dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4) circulan en la región. (7)

En Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay en el período comprendido entre 2001 y 2007, 64,6% (2798601) de todos los casos de dengue fueron reportados en esta subregión, de los cuales 6733 fueron fiebre hemorrágica por dengue con 500 muertes. Alrededor de 98,5% de los casos correspondieron a Brasil, que también informó la tasa de letalidad más alta en la subregión. (7)

En Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela, se reportó un 19% (819 466) de los casos de dengue de 2001 a 2007. Es la subregión con el mayor número de casos notificados de fiebre hemorrágica por dengue: 58% de todos los casos (61 341) en las Américas y 306 muertes. Colombia y Venezuela tienen la mayoría de los casos de la subregión (81%), y la mayoría de muertes por dengue se dio en Colombia (225 o 73%). En Colombia, Perú y Venezuela se identificaron los cuatro serotipos del dengue. (7)



Fuente: The history of dengue outbreaks in the Americas. Am J Trop Med Hyg. 2012; 87(4): 584-593.

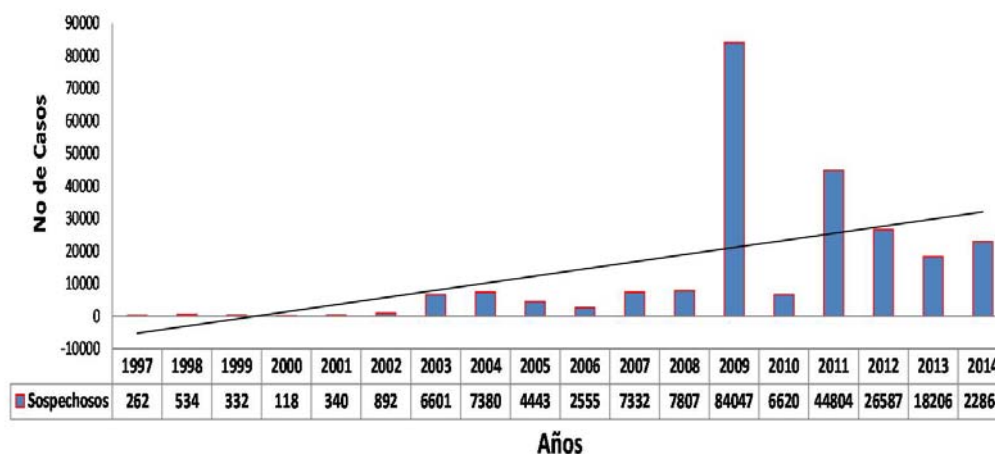
Figura 2. Incremento de casos de dengue en América 1980 - 2010

1.6.2 DENGUE EN BOLIVIA

En Bolivia la epidemia más importante de dengue tuvo lugar el año 2009; sin embargo el comienzo del problema tuvo lugar en marzo de 2007 cuando más casos de los habituales para la temporada fueron reportados, principalmente en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra. Ese año muchas áreas de Bolivia fueron inundadas a causa del fenómeno de El Niño lo que generó la formación de innumerables criaderos donde se pudo reproducir fácilmente el insecto vector y para el final del año se reportaron 7332 casos de dengue de los cuales 109 casos correspondían a dengue hemorrágico y un fallecido. El año 2008 se reportaron 3004 casos de dengue; sin embargo, la incidencia de casos comenzó a incrementarse. Recién a mediados del año 2009 la epidemia estaba bajo control con más de 84000 casos reportados, de los cuales 198 casos fueron de dengue hemorrágico y 25 fallecidos. La mayoría de los casos (71%) se concentraron en el Departamento de Santa Cruz. Durante esta epidemia fueron detectados los serotipos DENV-1, DENV-2 y DENV-3.

(7)

Tendencia secular de casos sospechosos de Dengue Bolivia - 1997 - 2014



Fuente: Programa Nacional de Dengue – Unidad de Epidemiología – Ministerio de Salud.

Figura 3. Incremento de casos de dengue en Bolivia 1997 - 2014

1.7 CLASIFICACIÓN DE LOS CASOS DE DENGUE

El dengue tiene un amplio espectro de presentaciones clínicas, a menudo con evolución clínica y resultados impredecibles. Aunque la mayoría de los pacientes se recuperan después de un curso clínico benigno y de resolución espontánea, una pequeña proporción progresa a una enfermedad grave, caracterizada principalmente por aumento de la permeabilidad vascular, con hemorragia o sin ella. La rehidratación intravenosa es el tratamiento de elección; esta intervención puede reducir la tasa de letalidad a menos de 1% en los casos graves. Resulta difícil determinar cuál grupo progresa de la forma no grave a la grave de la enfermedad, lo que genera una gran preocupación pues el tratamiento apropiado puede evitar que se desarrollen condiciones clínicas más severas. (7)

El *triage* (orden por prioridades), el tratamiento apropiado y el lugar donde se debe administrar (en un centro de atención médica o en casa), se determina según la clasificación de los casos de dengue. Esto es así especialmente durante los frecuentes brotes de dengue a escala mundial, cuando los servicios de salud necesitan acomodarse para enfrentar el repentino incremento de la demanda. (7)

Actualmente, la clasificación de fiebre por dengue, fiebre hemorrágica por dengue, síndrome de choque por dengue continúa utilizándose ampliamente. Se coordinó un estudio multicéntrico clínico prospectivo apoyado por OMS/TDR en las regiones con dengue endémico, con el fin de recopilar información sobre los criterios para la clasificación del dengue de acuerdo con su gravedad. Los hallazgos del estudio confirmaron que, utilizando una serie de parámetros clínicos, de laboratorio o ambos, se puede observar una diferencia bien definida entre el dengue grave y el no grave. Sin embargo, por razones prácticas fue conveniente dividir el gran grupo de pacientes con dengue no grave en dos subgrupos: dengue con signos de alarma y dengue sin signos de alarma. (7)

1.8 EL VIRUS

El virus del dengue (DEN) es un virus de ácido ribonucleico (ARN), pequeño monocatenario que abarca cuatro distintos serotipos (DEN-1 a DEN-4). Estos serotipos del dengue están estrechamente relacionados y pertenecen al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. La partícula madura del virus del dengue es esférica,

con un diámetro de 50 nm, y contiene múltiples copias de las tres proteínas estructurales, una membrana de doble capa derivada del huésped y una copia única de un genoma de ARN monocatenario de polaridad positiva. El genoma está hendido por proteasas virales y del huésped en tres proteínas estructurales: cápside (C), el precursor de membrana (prM) y la envoltura, (E) y siete proteínas no estructurales (secuencia de nucleótidos) dentro de cada serotipo, lo que destaca la extensa variabilidad genética de los serotipos del dengue. La selección parece ser un tema dominante en la evolución del virus del dengue pero de manera tal que solamente se mantienen los virus que son "adecuados" tanto para seres humanos como para los vectores. (7)

1.9 EL VECTOR

El papel de este mosquito como vector de enfermedades víricas, fue descrito por primera vez por el científico cubano Carlos J. Finlay en 1881. Los primeros años del siglo XX en estudios de fiebre amarilla realizados en Cuba se demostró este postulado, donde se comprobó el papel Vectorial de *Aedes aegypti* a esta enfermedad. Durante siglos la fiebre amarilla fue una grave enfermedad de los trópicos de América y África, que se extendía durante los veranos a las áreas templadas con elevada mortalidad. (8)

Este mosquito se ubica en la Orden Díptera, dentro del Suborden Nematocera, se incluye en la Familia *Culicidae*, donde se encuentran todos los mosquitos, su género es *Aedes*, el subgénero *Stegomyia* y la especie *aegypti*, descrita por Linneaus hace varios siglos. (9)

El *Aedes aegypti* es una especie tropical y subtropical ampliamente distribuida alrededor del mundo, especialmente entre las latitudes 35°N y 35°S. Estos límites geográficos corresponden, aproximadamente, a un invierno isotérmico de 10 °C, también se ha encontrado en áreas tan al norte como 45°C, pero dichas invasiones han ocurrido durante los meses más calientes y los mosquitos no han sobrevivido los inviernos. Además, debido a las bajas temperaturas, el *Aedes aegypti* es relativamente raro por encima de los 1000 metros sobre el nivel del mar. (10)

El *Aedes aegypti* (del Latín *Aedes* = casa) es una especie del subgénero *Stegomyia* que se originó probablemente en África, donde ocurren formas selváticas y domésticas. En las Américas sólo existen las formas domésticas. Su transporte del Viejo al Nuevo Mundo probablemente se llevó a cabo en barriles de agua en los buques durante las primeras exploraciones y colonizaciones europeas. (10)

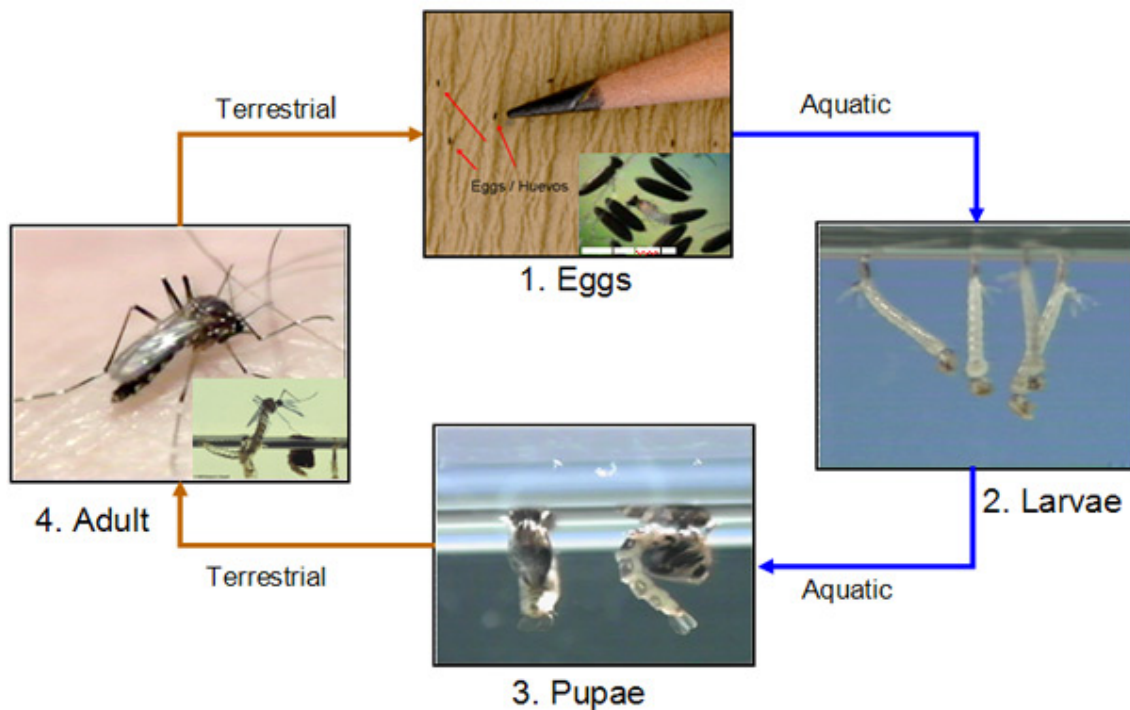
En el Nuevo Mundo, el *Aedes aegypti* es principalmente una especie doméstica, infestando los recipientes artificiales o naturales encontrados en o cerca de las viviendas humanas. La hembra se alimenta mayormente de sangre humana o de animales domésticos. Este mosquito raras veces se encuentra a más de 100 metros de las casas, aunque se han encontrado excepciones en las Indias Occidentales y en la parte meridional de los Estados Unidos, donde se encontraron larvas de *Aedes aegypti* en las cisternas de captación de agua de los techos para el ganado, a más de 400 metros de las viviendas humanas. (10)

1.10 CICLO BIOLÓGICO DEL *Aedes aegypti*

1.10.1 FASE DE HUEVOS

Los huevos de *Aedes aegypti* miden aproximadamente un milímetro de longitud, tiene forma de un óvalo y son más tersos que los huevos de la mayoría de las especies que se crían en recipientes. Los huevos son depositados individualmente por encima del nivel del agua en las paredes del recipiente. En el momento de la postura los huevos son blancos, pero muy rápidamente adquieren un color negro brillante. Los huevos son fecundados durante la postura y el desarrollo embrionario generalmente se completa en 48 horas, si el ambiente es húmedo y cálido, pero puede prolongarse hasta por cinco días a temperaturas más bajas. Una vez que se ha completado el desarrollo embrionario, los huevos son capaces de resistir largos periodos de desecación, que pueden prolongarse por más de un año en algunas ocasiones, esta condición permite que los huevos puedan transportarse a grandes distancias en recipientes secos. (11)

Cuando los huevos quedan por fin inundados, la mayoría de ellos eclosionan rápidamente. La capacidad de los huevos para resistir la sequía fue uno de los obstáculos mayores en la erradicación del *Aedes aegypti* (los huevos pueden transportarse a grandes distancias en envases secos). La eliminación de los adultos y las larvas de una localidad durante muchos meses no impide la reinfestación mediante la aparición de huevos recientemente inundados que habían estado escondidos en envases secos. (10)



Fuente: http://www.cdc.gov/Dengue/entomologyEcology/m_lifecycle.html

Figura 4. Ciclo biológico de *Aedes aegypti*

1.10.2 FASE LARVAL

Las larvas y pupas de *Aedes aegypti* son exclusivamente acuáticas. Como en la mayoría de los insectos holometabólicos, la fase larval es el periodo de alimentación y crecimiento. Las larvas pasan la mayor parte del tiempo alimentándose de material orgánico sumergido o acumulado en las paredes y el fondo del recipiente. (11)

El primer estadio larval es la forma que emerge del huevo, luego de uno o dos días de alimentarse y crecer, ocurre la muda y surge el segundo estadio. Inmediatamente después de la muda aparecen la cápsula cefálica y el sifón. (11). Las larvas pasan por cuatro estadios de desarrollo. La duración del desarrollo larval depende de la temperatura, la disponibilidad de los alimentos y la densidad larval en el receptáculo. (10)

1.10.3 FASE PUPAL

Las pupas no se alimentan, su función es la metamorfosis del estadio larval al de adulto. Las pupas de los mosquitos son diferentes a las de otros insectos holometabólicos por que reaccionan inmediatamente a estímulos externos tales como vibraciones y se desplazan activamente por todo el recipiente. (11). Bajo condiciones óptimas, el tiempo desde la incubación hasta convertirse en pupas puede ser de tan sólo ocho días, y en condiciones adversas de temperatura o escasez de alimentos puede tomar varias semanas. (10)

1.10.4 MOSQUITO ADULTO

Cerca de uno a dos días después de emerger, los mosquitos se aparean y las hembras se alimentan de sangre. Estas actividades a menudo ocurren casi simultáneamente porque, aunque los machos no se alimentan de sangre, son atraídos hacia los mismos huéspedes que las hembras; esto facilita los encuentros entre hembra y macho. Las hembras se alimentan de la mayoría de los vertebrados, pero demuestran una marcada preferencia por los humanos y se le considera uno de los animales más activos y prolíficos que existen, siendo capaz de infestar áreas nuevas con velocidad asombrosa. La alimentación sanguínea proporciona una fuente de proteína vital para el desarrollo de los huevos y ocurre principalmente durante horas diurnas, excepto al mediodía. (10)

Por lo general se desarrolla un lote de huevos después de cada comida sanguínea. Sin embargo, el *Aedes aegypti*, más que otras especies de mosquitos, con frecuencia se alimenta más de una vez entre oviposuras, especialmente si es perturbado antes de completar su ración de sangre. Esta característica aumenta las probabilidades de ingerir y transmitir el virus. (10)

El intervalo entre la ingestión de sangre y la postura de los huevos puede ser de un mínimo de tres días bajo condiciones óptimas de temperatura y disponibilidad de huéspedes. La hembra puede volver a alimentarse el mismo día que pone los huevos. La mayoría de las posturas ocurren a la caída de la tarde. La hembra grávida es atraída hacia la oscuridad en busca de envases sombreados con paredes ásperas en los cuales puede depositar los huevos. La hembra suele distribuir cada lote de huevos entre varios envases diferentes. (10)

El *Aedes aegypti* en reposo se encuentra más comúnmente en el interior de las casas, en las habitaciones, en los baños y en las cocinas, y sólo ocasionalmente al aire libre en la vegetación del jardín. Las superficies preferidas de reposo son las paredes, muebles y artículos colgantes como ropa, toallas, cortinas y mosquiteros. Muchos de los sitios de reposo están aislados, en los armarios de los dormitorios, debajo de las camas y otros muebles. El *Aedes aegypti* adulto puede vivir durante varios meses en el laboratorio, pero generalmente vive sólo unos pocos días en la naturaleza. A pesar de la corta vida promedio, algunos adultos viven el tiempo suficiente para transmitir el virus. (10)

1.11 RESISTENCIA A LOS INSECTICIDAS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la resistencia como: “el desarrollo de la habilidad de una cepa de un organismo de tolerar dosis de insecticida que son letales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie”. Siendo esta resistencia una característica genética inherente cuya frecuencia se incrementa en la población del vector como resultado directo de los efectos selectivos del insecticida. (12)

El desarrollo económico, pruebas de seguridad y el mercadeo de los insecticidas significan que nuevos compuestos químicos no son desarrollados específicamente para el control de vectores de enfermedades. Todos los insecticidas son desarrollados principalmente para el campo de la agricultura y las formulaciones desarrolladas como agroquímicos son posteriormente utilizadas para su uso en salud pública. Esta interrelación con el mercado de la agricultura, efectivamente significa que hay un limitado número de insecticidas que pueden ser utilizados para el control vectorial y estas poblaciones podrían ya haber estado expuestas a estos

insecticidas en los sitios de cría y reposo en áreas de cultivo antes que sean desplegados en los programas de salud pública. (12)

Una exposición extensiva de los insectos vectores a los insecticidas, eventualmente los selecciona para la resistencia; por lo tanto un buen entendimiento de que clases químicas están disponibles, sus modos de acción y que mecanismos de resistencia son seleccionados es esencial si el control químico va a ser usado, ya sea de manera aislada o como una parte de un programa integrado de control de plagas. (12)

1.12 DESARROLLO DE LOS INSECTICIDAS

El empleo de los insecticidas es tan antiguo como el desarrollo de las antiguas civilizaciones. Su origen se remonta a varios siglos antes de nuestra era, donde las diferentes ciudades y pueblos lo utilizaban para proteger sus cosechas del ataque de las plagas, así se empezaron a conocer las propiedades insecticidas del azufre y del anhídrido sulfuroso por los griegos. (13)

Los primeros pesticidas incluían compuestos botánicos naturales, tales como la nicotina, la rotenona y el piretrum, acompañados con otros químicos tales como los sulfuros, el arsénico, el mercurio y diferentes jabones. El desarrollo científico de los insecticidas comenzó en 1867 con la formulación del compuesto químico verde de París; pero no fue hasta 1939 cuando Müller descubrió las propiedades insecticidas del DDT (diclorofeniltricloroetano). El potencial de este nuevo insecticida fue demostrado en 1943 cuando una epidemia de tifo fue controlada en Nápoles. Posteriormente, el DDT tuvo un rol importante en la Segunda Guerra Mundial al controlar los brotes de tifo y fiebre de trinchera al espolvorear directamente este insecticida en los soldados y su ropa; sin embargo, el principal beneficio del DDT vino con el control de la malaria. (12)

Mientras que el uso en agricultura del DDT ha cesado debido a su persistencia en el medio ambiente y reducida eficacia contra insectos resistentes, todavía tiene un papel importante en el control de la malaria donde continúa siendo parte del limitado grupo de insecticidas en el rociado residual intradomiciliario. Su capacidad residual le permite ser rociado en las paredes internas de los domicilios,

donde los mosquitos que toman contacto con el mueren antes de poder transmitir la malaria. (12)

En 1945, fue descubierto el primer insecticida organofosforado, seguido posteriormente por los carbamatos en 1953 y casi una década después por los piretroides. Estas cuatro clases de insecticidas todavía componen más del 90% del mercado de insecticidas utilizados en salud pública; a estos se les unieron los insecticidas bacterianos como el *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) y los reguladores del crecimiento (IGRs), aunque el uso de estos compuestos es limitado debido a su elevado costo. (12)

1.13 CLASIFICACIÓN DE LOS INSECTICIDAS

Los insecticidas se clasifican de acuerdo a su estructura química (Figura N° 5) en:

1.13.1 ORGANOCLORADOS

Un compuesto organoclorado o compuesto orgánico clorado es un compuesto químico orgánico, es decir, compuesto por un esqueleto de átomos de carbono, en el cual, algunos de los átomos de hidrógeno unidos al carbono, han sido reemplazados por átomos de cloro, unidos por enlaces covalentes al carbono. Su amplia variedad estructural y las propiedades físicas divergentes conducen a una amplia gama de aplicaciones. Muchos derivados clorados son controvertidos debido a los efectos de estos compuestos en el medio ambiente y la salud humana y animal, siendo en general dañinos para los seres vivos pudiendo llegar a ser cancerígenos. Muchos de ellos se emplean por su acción insecticida o pesticida otros son subproductos de la industria. (14)

La mayoría de estos compuestos son inhibidores del normal funcionamiento del sistema nervioso. El DDT y sus análogos actúan sobre los canales de sodio de la membrana nerviosa, mientras que los ciclodienos como el dieldrin actúan sobre los receptores GABA. A pesar de la similitud, de sus estructuras químicas, los insecticidas en este grupo difieren ampliamente en su toxicidad y estabilidad. La simplicidad química de este grupo hace del mismo barato y fácil de fabricar, sin embargo su persistencia en el medio ambiente, vida salvaje y los humanos ha reducido drásticamente su uso desde la década de 1970. (12)

1.13.2 ORGANOFOSFORADOS

Un compuesto organofosforado es un compuesto orgánico degradable que contiene enlaces fósforo-carbono (excepto los ésteres de fosfato y fosfito), utilizados principalmente en el control de plagas como alternativa a los organoclorados que persisten en el medio ambiente. (15)

Estos insecticidas comparten una estructura química pero difieren en sus propiedades físicas y farmacológicas, generalmente son menos estables que los organoclorados; inician como un compuesto inactivo (fosfotriato) y a través de la acción de las enzimas monooxigenasas en presencia de agua se activan en el insecto a su forma organofosforada. No se almacenan en la materia grasa de los animales, siendo degradados rápidamente y eliminados a través del riñón. (12)

Esta clase de insecticidas actúa al unirse con la enzima acetilcolinesterasa a nivel de las uniones nerviosas; una vez unidos, esta enzima no puede remover la acetilcolina de la membrana nerviosa y los nervios continúan descargando de una manera descontrolada llevando a una parálisis y muerte del insecto. Estos insecticidas generalmente son inhibidores de la colinesterasa y actúan de manera similar en los humanos. Algunos insecticidas organofosforados utilizados en el control vectorial son: temephos, malatión, fenitrotión, etc. (12)

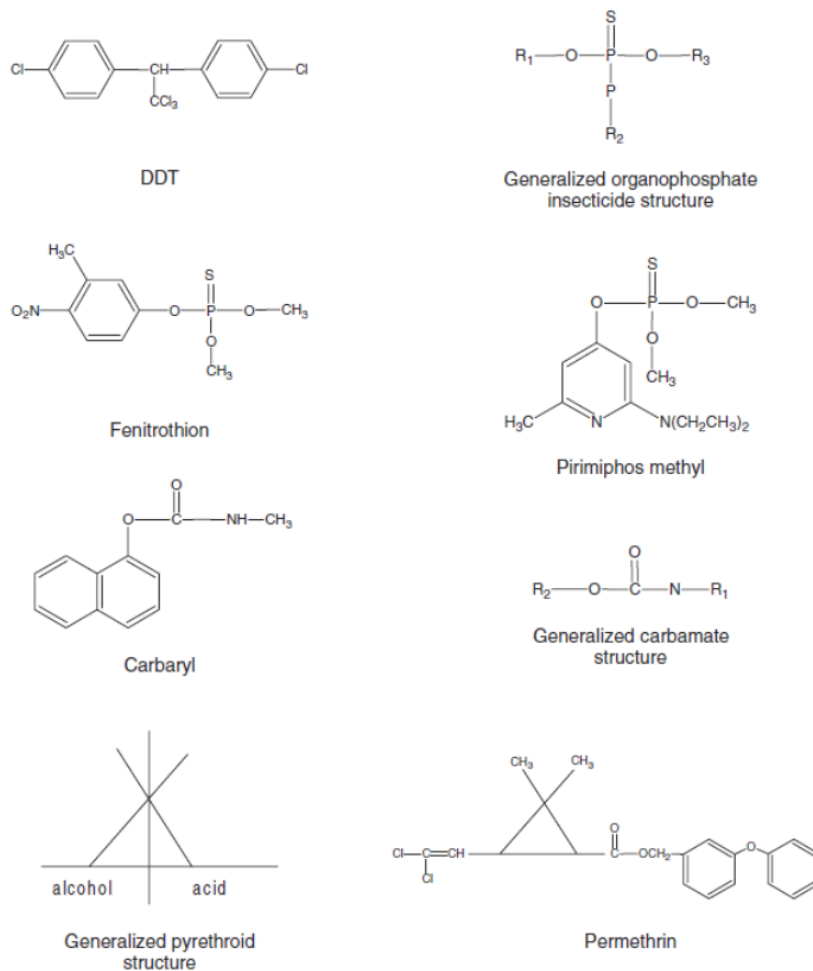
1.13.3 CARBAMATOS

Estos insecticidas tienen un mecanismo de acción idéntico a los organofosforados; sin embargo su toxicidad en los mamíferos varía bastante. Todos ellos tienen una estructura general que se limita por su requerimiento para actuar como un inhibidor de la colinesterasa. (12)

1.13.4 PIRETROIDES

Los componentes activos de este insecticida provienen de las flores de pyrethrum que son conocidas como piretrinas; su falta de persistencia en el medio ambiente las hace unos agentes "Knock down" seguros y son usados generalmente en aerosoles mezclados con el sinergista piperonil butóxido, el cual incrementa su actividad insecticida y reduce su costo. (12)

Los piretroides fueron desarrollados a partir de las piretrinas. Su estructura química básica presenta grupos ácido-alcohólicos. Este grupo de insecticidas desarrolló cuatro “generaciones químicas”, haciendo de este el grupo comercial más exitoso, siendo en la actualidad muy estables a la luz, haciendo de ellos insecticidas de acción residual ideales; también actúan en los insectos a concentraciones muy bajas haciendo de ellos también relativamente seguros a concentraciones operacionales. Los piretroides presentan un mecanismo de acción similar al DDT y sus análogos. Algunos insecticidas piretroides utilizados en el control vectorial son: deltametrina, permetrina, alfacipermetrina, etc. (12)



Fuente: Biology of Disease Vectors. Second Edition 2005. Chapter 41

Figura 5. Estructura química de las principales familias insecticidas

1.14 OTROS TIPOS DE INSECTICIDAS

1.14.1 REGULADORES DE CRECIMIENTO

Estos compuestos actúan a nivel de los sistemas hormonales de los insectos que controlan la muda y la metamorfosis. Tienen la ventaja de ser poco tóxicos para los mamíferos; sin embargo entre sus desventajas se encuentran las de ser especie específicos, necesitan mayor tiempo para su accionar además de tener un elevado costo comparado con los insecticidas comunes. Entre este tipo de insecticidas se encuentran el pyriproxyfen y el buprofezin. (12)

1.14.2 INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE QUITINA

Estos compuestos interfieren con la formación de la quitina, el principal elemento constitutivo del exoesqueleto de los insectos. Como los vertebrados y la mayoría de las plantas no forman quitina, estos compuestos son seguros para las personas, animales domésticos y plantas. Un ejemplo de este grupo químico que fue desarrollado a principios de la década de 1970, siendo el diflubenzuron su principal representante. (12)

1.15 MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS INSECTICIDAS

Para entender el proceso por el cual la resistencia evoluciona, debemos entender los mecanismos que producen y seleccionan a los individuos resistentes. Las variaciones genéticas y fenotípicas que afectan a la resistencia surgen en los individuos como resultado de una mutación que modifica algunos aspectos fenotípicos normales fisiológicos o morfológicos. Algunos de estos cambios fenotípicos típicamente incrementan el proceso de detoxificación de los insecticidas, reducen la sensibilidad del sistema nervioso central a los insecticidas o incrementan la habilidad del insecto de evitar el contacto con el tóxico. Cuando se aplican los insecticidas, los individuos que poseen tales mutaciones tienen una ventaja considerable sobre los demás individuos sensibles de la población y como resultado los genes que confieren resistencia se incrementarán en frecuencia en la población en el tiempo. (12)

La resistencia a los insecticidas puede ser detectada e investigada en muchos niveles, desde la caracterización molecular de los genes que confieren resistencia y sus productos bioquímicos, al papel de los productos genéticos sobre los efectos tóxicos de los insecticidas, a los estudios sobre los factores ecológicos y evolucionarios que afectan la dinámica de los genes que confieren la resistencia a las poblaciones de insectos. (12)

Se clasifican en 4 categorías:

1.15.1 RESISTENCIA A LA PENETRACIÓN

También se conoce como mecanismo físico de resistencia y contempla muchos casos de penetración reducida que causan resistencia en los insectos. La velocidad de penetración depende de las características moleculares del insecticida y de las propiedades del tegumento del insecto, las cuales varían considerablemente entre los estadios de vida y de una especie a otra. Una penetración demorada provee un mayor tiempo para la detoxificación de una dosis tomada. (16)

1.15.2 SITIO INSENSIBLE O SITIO BLANCO ALTERADO

La resistencia se atribuye también a un mecanismo en el cual los sitios blancos se alteran y esto hace que disminuyan la sensibilidad al ataque del tóxico. Un ejemplo de esto es el de la enzima acetilcolinesterasa (Ache) y la reducida sensibilidad en el sitio de acción. (16)

1.15.3 REDUCIDA SENSIBILIDAD EN EL SISTEMA NERVIOSO

Se presenta fundamentalmente en DDT y piretroides. En general el fenómeno de la resistencia se da cuando los nervios son menos sensibles. Un ejemplo del mecanismo de sitio insensible en la resistencia por knockdown (kdr), es la inducida por selección con DDT, que confiere resistencia cruzada a los piretroides y viceversa. Según Shono (1985) la resistencia tipo kdr se debe a la presencia del gen kdr, el cual posee varias características: (16)

- Causa baja sensibilidad hacia el DDT y hacia los piretroides.
- Confiere resistencia a todos los piretroides conocidos hasta ahora.
- Aun solo, puede proveer una elevada resistencia.
- Este gen es recesivo

1.15.4 RESISTENCIA METABÓLICA

Estudios recientes de detoxificación en insectos revelan que la versatilidad en la adaptación de los insectos a su medio es provista por el fenómeno de inducción. Este es un proceso en el cual un estímulo químico promueve la actividad del sistema de detoxificación mediante la producción de enzimas adicionales. Los 3 sistemas de detoxificación más importantes que constituyen la resistencia metabólica en insectos son: las oxidasas microsomales, la glutatión s-transferasa, de importancia en el metabolismo de insecticidas organofosforados, y las carboxilesterasas, las cuales degradan carbamatos, organofosforados y piretroides. (16)

El insecticida sufre dentro del organismo del insecto una serie de reacciones mediante las cuales adquiere grupos funcionales que le permiten en una segunda fase, conjugarse con sustancias endógenas y dar como resultado compuestos más polares de menor solubilidad en lípidos y como consecuencia más fácilmente excretables. No siempre es necesario que el insecticida se transforme mediante reacciones de la primera fase, porque en su estructura puede poseer grupos funcionales que le permitan experimentar directamente las reacciones de la segunda fase. (16)

1.16 VIGILANCIA ENTOMOLÓGICA

La vigilancia entomológica es el conjunto de acciones regulares y continuas de observación e investigación del vector. Permite cuantificar la presencia del vector, conocer su dispersión, cambios en la distribución geográfica, así como orientar las actividades de educación para la salud. Por razones prácticas, las metodologías de encuestas más comunes emplean los procedimientos de muestreo larvario o el uso de ovitrampas, en lugar de las recolecciones de adultos cuyos resultados nos permiten (17):

1. Establecer índices de infestación o reinfestación en cada localidad.
2. Conocer la distribución de *Aedes aegypti* para definir el riesgo de transmisión del dengue.
3. Determinar la importancia relativa de los diferentes tipos de recipientes en la producción de mosquitos.

4. Monitorear el nivel de susceptibilidad de los mosquitos *Aedes* a los insecticidas.

Los principales métodos de vigilancia de infestación usados hasta el momento son la inspección de casas y el empleo de trampas de ovipostura (ovitrapas y larvitrapas). La inspección de casas consiste en examinar todos los recipientes dentro y fuera de las casas e identificación microscópica de las larvas encontradas. Los resultados se expresan como Índice de Viviendas (el porcentaje de las casas con estadíos larvarios de *Aedes. aegypti*), Índice de recipientes (el porcentaje de recipientes con estadíos larvarios) e Índice Breteau (el número de recipientes infestados por 100 casas inspeccionadas). (17)

Las ovitrapas son recipientes con agua colocados por los inspectores en las casas para atraer mosquitos para que depositen huevos. Los 2 tipos de trampas más comunes son hechas con secciones radiales de llantas y frascos de plástico o vidrio. Son especialmente útiles para detección, de nuevas infestaciones o reinfestaciones, y son más económicos en términos de tiempo. Los resultados se expresan como porcentaje de trampas positivas. Para determinar el nivel de infestación, no es necesario inspeccionar todas las casas en la localidad. (17)

1.7 ESTRATEGIAS DE CONTROL DE *Aedes aegypti*

Las estrategias de control, tienen como base evitar epidemias y muertes por dengue. Se identifican las áreas con mayor riesgo y se concentran los esfuerzos en estas áreas para reducir la transmisión de la enfermedad, estas actividades son las siguientes (17)):

1.17.1 ELIMINACIÓN DE CRIADEROS DE *Aedes aegypti*

El control de recipientes artificiales como envases desechables, llantas y barriles donde se cría el mosquito vector, es la piedra angular de cualquier esfuerzo para prevenir el dengue. El control efectivo de estos criaderos incluye el saneamiento ambiental, la participación social, la comunicación y educación en salud y el control químico y biológico. El desarrollo de una estrategia efectiva requiere el concurso de varias disciplinas como entomología, ingeniería, psicología de comportamiento, comunicación/educación en salud y sociología/antropología médica. La base de cualquier acción efectiva es conocer los criaderos principales al

nivel local y los factores que permiten o favorecen su existencia. El combate químico debe ser considerado como un componente complementario más allá de la eliminación física de los criaderos del vector. (17)

1.17.2 CONTROL QUÍMICO

Las operaciones de combate al mosquito *Aedes aegypti* deben desarrollarse, en lo posible, con un empleo mínimo de insecticidas; se escogen aquellos productos más seguros, de alta eficacia, con grado de toxicidad muy bajo y con posibilidad mínima o nula de contaminación del ambiente. El tratamiento focal es la operación fundamental de la fase de ataque de un programa de combate al *Aedes aegypti*. El tratamiento focal incluye la eliminación o modificación de los criaderos, con participación de la comunidad y la aplicación de larvicida en aquellos depósitos que no es posible destruir. Cuando el trabajador de salud realiza el tratamiento focal casa por casa, es importante una adecuada inspección de las áreas que rodean la vivienda y el interior de esta. Se utilizan larvicidas como el temephos en granos de arena 1 %. Se aplicará en todos aquellos depósitos de agua que no pueden ser eliminados y/ o destruidos dentro y alrededor de las casas en dosis de 1 ppm. Estos depósitos o reservorios pueden ser clasificados de acuerdo con su uso, en útiles para el hombre, inservibles o eliminables y naturales. (17)

Los adulticidas deben emplearse fundamentalmente durante brotes epidémicos de alguna de las enfermedades que transmite el vector. El control del adulto se realiza mediante el empleo de compuestos químicos, casi siempre como medida de emergencia. El empleo de insecticidas para combatir al vector queda reducido al empleo durante las epidemias, pero no debe aplicarse como medida de rutina. Es adecuado que el programa adquiera y mantenga en previsión, un cierto número de unidades de equipo pesado, portátil e insecticidas para los tratamientos espaciales de la siguiente manera (17):

1.17.3 TRATAMIENTOS ESPACIALES CON EQUIPOS PESADOS

En situaciones de emergencia creadas por la aparición de brotes epidémicos de dengue, las aplicaciones espaciales de aerosoles de insecticidas fríos Ultra Bajo Volumen (UBV) o calientes (nebulización térmica), constituyen las medias apropiadas para disminuir rápidamente las densidades del mosquito, al dar muerte a

las hembras infectadas. Estos tratamientos se aplican desde la calle, por máquinas pesadas instaladas en vehículos. Deben aplicarse ciclos de corta duración (3 a 5 días) que se repiten sucesivamente, hasta que se alcance una disminución consistente del número de enfermos. Las horas más apropiadas para los tratamientos son la madrugada, hasta las primeras horas de la mañana y el anochecer, cuando hay reversión de temperatura. Los tratamientos espaciales UBV son apropiados para áreas urbanas en ciudades de tamaño medio o grande, con calles planas, pavimentadas. El mantenimiento y la limpieza de los equipos son esenciales para el buen funcionamiento y larga vida de las máquinas. (17)

1.17.4 TRATAMIENTOS ESPACIALES INTRADOMICILIARIOS CON EQUIPO PORTÁTIL

Estos tratamientos adulticidas se realizan durante las horas del día como medida de apoyo a las aplicaciones con equipo pesado, en las áreas inaccesibles al vehículo. Las aplicaciones se realizan habitación por habitación, lanzando un chorro de aerosol de 3 s de duración hacia la parte alta de cada cuarto y en el patio posterior o corral. (17)

2 JUSTIFICACIÓN

No existe un tratamiento específico ni están disponibles vacunas contra esta arbovirosis; por lo que la más eficiente opción para combatir esta enfermedad es el control del *Aedes aegypti*. Desde su desarrollo, los insecticidas se han utilizado ampliamente para el control de los vectores del dengue. Como resultado, en muchos países se han detectado poblaciones resistentes a los insecticidas, documentándose niveles de resistencia operativamente significativos a las diferentes familias de insecticidas: organofosforados, piretroides, carbamatos y organoclorados.

La resistencia a los insecticidas se debe considerar como una amenaza potencialmente grave al control efectivo del vector del dengue y de la enfermedad. Para contrarrestar la carga de esta enfermedad, se debe realizar la evaluación de la resistencia a los insecticidas, proponer estrategias alternativas de control y el ensayo de insecticidas de otras familias o probar nuevos insecticidas.

Los esfuerzos de control pueden verse comprometidos seriamente por este fenómeno; por tanto, el presente estudio pretende investigar el nivel de resistencia a los insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* de diferentes lugares endémicos de Bolivia; basados en estudios anteriores donde comenzaron a detectarse ciertas alteraciones en la respuesta de las poblaciones a los insecticidas utilizados por el Programa Nacional de Dengue.

Se ha observado que la aplicación de químicos a nivel nacional ya no tiene el mismo impacto que años anteriores, por lo que es importante evaluar la respuesta de poblaciones de *Aedes aegypti* a los insecticidas. Para tal fin existen diferentes métodos, uno de éstos son los bioensayos larvarios protocolizados por la OMS que determina la sensibilidad/resistencia de larvas al Temephos (insecticida organofosforado) que es utilizado para el control de estadios inmaduros del vector.

Los datos preliminares, nos motivan para estudiar el nivel de susceptibilidad de poblaciones de *Aedes aegypti* a los insecticidas utilizados por el Programa Nacional de Control de Dengue para de esta manera proveerles con información práctica que permita implementar un efectivo control del vector, una mejor vigilancia de la evolución de la resistencia a los insecticidas y proponer una estrategia de gestión de la resistencia del mosquito a los insecticidas, tomando en cuenta que la mejor estrategia planteada para el control de esta enfermedad es el saneamiento ambiental pero que lamentablemente no se realiza en nuestro país.

La información que se genere con el presente estudio puede ayudar al Programa Nacional de Dengue a plantear un mejor control del vector, reduciendo significativamente el riesgo de que exista un elevado número de casos de la enfermedad en el país, así como un mejor manejo de los recursos tanto económicos, humanos y materiales que son destinados cada año para combatir este problema.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la sensibilidad y/o resistencia de *Aedes aegypti* a los insecticidas en zonas endémicas de Bolivia

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar una cepa sensible de referencia de *Aedes aegypti* a los insecticidas deltametrina y temephos
- Determinar el grado de resistencia a los insecticidas de diferentes cepas de *Aedes aegypti*.
- Determinar el grado de resistencia al larvicida temephos de diferentes cepas de *Aedes aegypti*.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO

La colecta de las cepas de *Aedes aegypti* para el presente estudio, se realizó en su estado larval mediante la técnica de “colecta larval” que consiste en la extracción de las larvas de los criaderos donde se puedan encontrar con el empleo de un cucharón entomológico (con fondo blanco y con capacidad de 150 a 250 ml) o mediante el empleo de pipetas desechables de plástico de 3 ml. Las larvas capturadas fueron transferidas a envases plásticos para su almacenamiento. (18)

Se realizó la búsqueda de las larvas en llantas, tanques de agua y todo tipo de recipiente que puede contener agua de lluvia generalmente en el peridomicilio de las viviendas inspeccionadas. Las colectas larvales se realizaron con la colaboración de los técnicos entomólogos de los Servicios Departamentales de Salud de los lugares donde se recolectaron las muestras. (18)

Estas muestras fueron llevadas al insectario del Laboratorio de Entomología Médica donde se obtendrán los adultos (generación F0), los cuales servirán para amplificar la cepa, siendo los adultos obtenidos de la (generación F1) los que serán utilizados para la realización de los diferentes bioensayos insecticidas debido a que los mismos mantienen las características genéticas de la población de campo. (9)

De igual manera para poder comparar los resultados se utilizará una cepa sensible de referencia siendo la cepa Bora – Bora la que se utiliza en el Laboratorio la cual es susceptible a todas las familias de insecticidas. (18)

4.2 AMPLIFICACIÓN DE LAS CEPAS EN EL LABORATORIO

La amplificación de las cepas de campo (generación F0) se realizó en el insectario de dípteros del Laboratorio de Entomología Médica en condiciones climáticas homogéneas de temperatura y humedad relativa (27 °C +/- 2 °C y 70 % HR +/- 10 % de HR) y fotoperiodos luz y oscuridad de 12 horas. (19)

Las larvas que fueron recolectadas se colocaron en bandejas plásticas de acuerdo a la cantidad obtenida en cada lugar con agua de vertiente y se alimentó a las mismas con alimento para gatos (Gatty) molido, cuando las larvas pasaron al estado de pupa, fueron colocadas en vasos plásticos desechables de 180 ml y fueron colocadas en jaulas entomológicas. (19)

Todos los adultos que emergieron fueron alimentados con una solución azucarada al 10 % empapada en algodones; al tercer día, todas las hembras fueron alimentadas con sangre de ratón para el desarrollo y maduración de sus huevos. A las 48 horas de la alimentación sanguínea se colocaron dentro de las jaulas vasos de oviposición (vasos desechables de 160 ml forrados en su interior con papel filtro y llenos con agua hasta la mitad), para que las hembras comiencen a depositar sus huevos y de esta manera poder obtener la (generación F1), con la cual se realizarán los bioensayos. (19)

Los huevos obtenidos se colocaron en sobres debidamente etiquetados con el nombre de la cepa, el número de generación y la fecha de oviposición y fueron cuidadosamente guardados en el insectario hasta el momento de volver a sembrarlos volviendo a realizar la técnica descrita para obtener la cantidad suficiente de mosquitos (generación F1) para la realización de los bioensayos insecticidas. (19)

4.3 BIOENSAYOS CON LARVAS DE MOSQUITOS

Para la realización de los bioensayos se amplificó la generación F1 de las cepas capturadas en el terreno y se procedió de la siguiente manera:

Se alistaron vasos de plástico desechables: 5 vasos para los testigos y 5 vasos para cada concertación. Los mismos que fueron identificados con la concentración del insecticida y el número del vaso (de 1 a 5) y se llenar los vasos con 99 ml de agua desionizada. (20)

Con la ayuda de una pipeta desechable plástica de 3 ml, se colocaron 20 larvas de tercer estadio final o cuarto inicial de cada cepa de *Aedes aegypti* a ser evaluada a cada baso, con la ayuda en un pequeño bastidor con malla tul extrafina, depositando delicadamente las larvas al interior de los vasos. (20)

Una vez colocadas las larvas en todos los vasos a ser utilizados en el bioensayo, se colocaron 1 ml de etanol p.a. en los 5 vasos de testigos, y se añadió en los vasos de las concentraciones insecticidas, 1 ml de solución insecticida de tal manera que en cada vaso se encuentre la concentración deseada de insecticida (se añade una cantidad de solución insecticida y la cantidad necesaria de etanol p.a. hasta completar el ml de solución). Después se colocaron los vasos en una estufa con temperatura y humedad constante ($27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura y 70 % de humedad relativa). Finalmente se realizó la lectura de mortalidad a las 24 horas. (20)

4.3.1 CRITERIO DE ACEPTACIÓN DEL ENSAYO

Si más del 10% de las larvas en los vasos testigos se transforman en pupas, se debe anular el bioensayo y se debe volver a realizarlo completamente. Si más del 20% de las larvas mueren en los vasos testigos, hay que anular el ensayo y volver a realizarlo completamente. (20)

Las larvas consideradas como muertas son: las que no se mueven cuando se las toca con una aguja cerca del cuello o del sifón. Las larvas moribundas son las que no pueden subir hasta la superficie del agua (en un tiempo razonable), o que no pueden bajar normalmente o que presentan un tipo de decoloración anormal, posiciones raras, espasmos, movimientos desordenados o un estadio anormal de rigidez. (20)

4.3.2 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES INSECTICIDAS CON ETANOL

Calcular la cantidad de insecticida necesaria para obtener la concentración deseada, tomando en cuenta el grado de pureza del insecticida. Pesar el insecticida en una cubeta de aluminio desechable, anotar el resultado en el cuaderno de trabajo. (20)

Introducir la cubeta de aluminio con el insecticida en un frasco de vidrio. Colocar sobre el frasco una etiqueta con el código, el nombre del insecticida, la concentración y la fecha de preparación y determinar el volumen de Etanol p. a. a añadir para tener la concentración deseada. (20)

Para la preparación de las diluciones adicionales, pipetear del frasco que contiene la solución madre el volumen necesario de la solución insecticida. Colocar en otro frasco etiquetado (con el código, el nombre del insecticida, la concentración y la fecha de preparación). Añadir el volumen de Etanol p. a. necesario. Por ejemplo, para hacer una dilución al 1/10, pipetear 1/10 del volumen final que se necesita, y añadir 9/10 de volumen con Etanol p. a. Repetir hasta obtener todas las soluciones adicionales necesarias para los bioensayos. La solución madre preparada se puede almacenar en los frascos de vidrio en el refrigerador a 4°C durante 6 meses como máximo. (20)

4.3.3 NÚMERO DE CONCENTRACIONES A UTILIZAR

Para obtener una buena recta es recomendable realizar el bioensayo con un mínimo de 6 concentraciones, distribuyéndolas 3 concentraciones debajo de la DL 50 y tres por encima de la misma, esto debido a que los valores calculados más fiables están situados alrededor de la DL 50, por lo que es necesario trabajar con concentraciones encima y debajo de esta. (20)

4.3.4 NÚMERO DE RÉPLICAS DEL ENSAYO

Generalmente, para tener una línea de base, se deben realizar por lo menos 3 réplicas del ensayo, en las mismas condiciones y con las mismas concentraciones. Si los resultados de los ensayos son concordantes, se pueden promediar para tener una línea de base. (20)

4.3.5 RECOMENDACIONES

Se deben utilizar siempre los mismos tipos de vasos desechables de plástico; debido a que el insecticida puede interactuar de manera diferente con otros tipos de plásticos. La temperatura del agua en los vasos debe estar lo más constante posible, pero nunca debajo de 20°C tampoco encima de 30°C. Siempre se debe empezar a llenar los vasos con la solución insecticida de menor concentración; empezando por los testigos con el etanol puro. (20)

4.4 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES INSECTICIDAS

Se calculó la cantidad de insecticida necesaria para obtener la concentración deseada para la impregnación de los papeles filtro Whatman N° 1, tomando en cuenta el grado de pureza del insecticida (en este caso el insecticida utilizado es grado técnico). Luego se pesó el insecticida en bandeja de aluminio desechable. Posteriormente se introdujo la bandeja de aluminio con el insecticida pesado en un frasco de vidrio debidamente etiquetado con el nombre del insecticida, la concentración y la fecha de preparación. Finalmente se añadió el volumen necesario de la mezcla de acetona /silicona para obtener la concentración deseada. (21)

Cuando fue necesario preparar soluciones adicionales, se pipeteó del frasco que contiene la solución madre el volumen necesario de la solución insecticida y se colocó en otro frasco etiquetado (con el código, el nombre del insecticida, la concentración y la fecha de preparación). Finalmente se añadió el volumen de la mezcla de acetona/silicona necesario, repitiéndose esto hasta obtener todas las soluciones adicionales necesarias para impregnar todos los papeles necesarios para la realización de los bioensayos. (21)

4.4.1 IMPREGNACIÓN DE PAPELES CON SOLUCIONES INSECTICIDAS

Preparar todas las soluciones insecticidas necesarias al momento de realizar las impregnaciones. Alistar los papeles filtro Whatman N° 1, cortados en el tamaño 12 cm x 15 cm, identificar en uno de los lados del papel la fecha de impregnación, el insecticida y la concentración a ser impregnada. Posteriormente se colocó el papel sobre la plancha de impregnación con la cara identificada del mismo hacia abajo. De esta manera, el insecticida estará sobre la cara interna en el tubo OMS, la inscripción visible estará en la cara externa del tubo OMS. (21)

Luego se distribuyeron 2 ml de la solución insecticida gota por gota, con una pipeta desechable de vidrio de 2ml sobre la totalidad de la superficie del papel, de manera homogénea. Para facilitar la distribución del insecticida con la ayuda de una propipeta de goma. Y posteriormente se colocaron los papeles impregnados sobre una rejilla de secado. Se debe cambiar de pipeta para cada cambio de concentración de insecticida y se dejan secar los papeles sobre la rejilla durante 24 horas. (21)

Finalmente se empaquetaron los papeles por grupos de 4 (de la misma concentración) en un papel aluminio, anotándose sobre el papel aluminio las características de los papeles (insecticida, concentración, fecha de impregnación), y se los sella en bolsas de plástico herméticas y se guardaron en el refrigerador a 4°C. (21)

4.5 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y/O RESISTENCIA DE MOSQUITOS A LOS INSECTICIDAS, PROTOCOLO DE LA OMS

Primero se alistaron 4 tubos por concentración y 4 tubos para los testigos: (1 tubo consiste en 2 sub-tubos: uno con punto “verde” de **observación** y uno con punto “rojo” de **exposición**, y una ventana entre estos dos tubos). Luego se colocaron dentro de cada tubo **verde** una hoja de papel filtro común y sujetó la misma con 2 anillas plateadas y se cerró el mismo con la ventana por el extremo inferior y por el extremo superior con una malla tul extrafina. (22)

Posteriormente se sacaron los mosquitos de la jaula con la ayuda de un capturador bucal y se colocaron en grupos de 25 hembras a cada tubo verde por medio de la abertura presente en la ventana que se encuentra en la parte inferior; se dejaron reposar durante una hora en un ambiente controlado (temperatura y humedad constante, en posición vertical, para controlar la mortalidad. (22)

Pasada la hora de reposo se colocaron los tubos de exposición con las hojas de papel filtro Whatman N° 1 impregnadas con insecticida, la cara impregnada al interior y la cara con los datos de la hoja legibles hacia el exterior para su fácil identificación y se enroscó en la ventana. Luego se identificó cada tubo verde con una etiqueta en la cual se colocó el número del tubo, el nombre del insecticida y su concentración. (22)

Al momento de comenzar el bioensayo se abrió la ventana de tal manera que ambos tubos estén completamente en comunicación y se sopló delicadamente para hacer pasar los mosquitos del tubo de observación (verde) al tubo de exposición (rojo), cerrando después la ventana. Una vez pasados los mosquitos se separó el tubo verde dejándolo al lado de su tubo rojo durante una hora de exposición. Al final del periodo de exposición se enroscaron de nuevo los tubos de observación sobre

su tubo de exposición y se hicieron pasar de nuevo los mosquitos del tubo rojo al tubo verde. (22)

Finalmente se dejar los tubos de observación en posición vertical durante 24h en una estufa de incubación con temperatura y humedad constantes (según la especie estudiada). Sobre cada tubo se colocó una torunda de algodón embebido con una solución azucarada al 10 %. A las 24 horas de incubación se realizó el recuento del número de mosquitos muertos en cada tubo. (22)

4.5.1 BIOENSAYOS INSECTICIDAS DE TIPO DOSIS DIAGNÓSTICA

La OMS define a la dosis diagnóstica como el doble de la concentración que mata al 100% de una cepa sensible. Para determinar la susceptibilidad de las poblaciones de *Aedes aegypti* se utilizará el método estandarizado por la OMS mediante el uso papeles impregnados con los siguientes insecticidas: DDT (organoclorados); Malathion (organofosforados); Bendiocarb (carbamatos) y Deltametrina, Lambdacyhalotrina para los piretroides. (12)

Para tal efecto, se realizará el cálculo y preparación de diluciones insecticidas, las cuales serán impregnadas en papeles filtro Whatman; posteriormente mosquitos hembras adultos con tres a cinco días de nacidos serán expuestos mediante contacto tarsal a estos papeles a las siguientes dosis diagnósticas (12):

- Deltametrina: 0,05%;
- Lambdacyhalotrina: 0,03%;
- Malathion: 0,8%,
- Propoxur: 0,1%
- DDT: 4%.

Se realizarán un mínimo de tres réplicas para cada cepa en días sucesivos donde se expondrán 100 mosquitos a cada dosis diagnóstica y 100 mosquitos como controles en papeles sin insecticida manteniendo una temperatura de 27 °C +/- 2 °C y una humedad relativa del 70 %. La mortalidad se registrará a las 24 horas de exposición y se aplicará el criterio de la OMS para determinar si las cepas en estudio son sensibles, para lo cual se establece que si en una población expuesta existe una mortalidad superior al 98%, la misma es sensible al insecticida expuesto; si la

población en estudio presenta un porcentaje de mortalidad presenta entre 97 y 80 %, esta presenta una condición de cepa a vigilar; sin embargo si la población en estudio presenta una mortalidad menor al 80%, la cepa se considera resistente al insecticida probado. (12)

4.5.2 BIOENSAYOS INSECTICIDAS DE TIPO DOSIS-MORTALIDAD

Las cepas de *Aedes aegypti* que muestran resistencia a la dosis diagnóstica, serán expuestas a un gradiente de concentraciones del insecticida; lo cual produce un rango de mortalidades que nos permiten construir una recta de tipo dosis-mortalidad. Las cepas de estudio generalmente se caracterizan a las dosis que matan el 50%, dosis letal 50 (DL 50) y el 90% de los individuos dosis letal 90 (DL 90) de los individuos. Para este tipo de estudios es importante determinar la DL 50 de las cepas de estudio y de la cepa sensible de referencia, lo que nos permitirá establecer el factor de resistencia de cada cepa. (12)

De igual manera que en los ensayos de tipo dosis diagnóstica, se realizarán un mínimo de tres réplicas para cada cepa en días sucesivos donde se expondrán a un gradiente de concentraciones lo cual nos permitirá determinar el factor de resistencia manteniendo una temperatura de 27 °C +/- 2 °C y una humedad relativa de 70 %, siendo la mortalidad registrada a las 24 horas de exposición como en el caso de las dosis diagnósticas. (12)

Los resultados obtenidos de los bioensayos de tipo dosis mortalidad serán llevados al análisis estadístico, para definir la DL 50 y de esta manera se calculará el factor de resistencia al dividir la DL 50 de la cepa en estudio entre la DL 50 de la cepa sensible de referencia y se aplicará el criterio de Mazzari y Georghiou para clasificar el rango de resistencia obtenido como: (12)

>10 = Resistencia elevada

Entre 5 y 10 = Resistencia media

5< = Resistencia Baja

4.5.3 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN DEL ENSAYO

Los resultados son válidos si la mortalidad en los tubos testigos es menor al 20%; si se puede, es recomendable volver a realizar el ensayo si la mortalidad es mayor al 10%. (22)

4.5.4 NÚMERO DE CONCENTRACIONES A USAR

Se recomienda trabajar con un mínimo de 4 concentraciones (2 debajo de la DL 50 y 2 encima de la DL 50). Para los cálculos, lo ideal es tener 5 concentraciones o más concentraciones que no den ni 0% o 100%. (22)

4.5.5 LAVADO DEL MATERIAL

Los tubos y ventanas son remojados por lo menos 24 horas dentro de una solución detergente fuerte (tipo: TFD 4; Franklab S.A., B.P. 63 – 78185 St Quentin en Yvelines, Cedex France). Se deben separar los tubos verdes de los tubos rojos (más contaminados) en 2 bandejas diferentes. Después de 24h, el material debe ser enjuagado, secado y lavado una última vez con alcohol potable. Las anillas metálicas pueden entrar en este proceso de lavado, o ser lavados con acetona o alcohol simplemente. Se puede controlar el lavado de los tubos introduciendo mosquitos sensibles en tubos limpios y observar la mortalidad. Si los tubos están limpios, ningún mosquito debe morir (a excepción de una mortalidad natural). (22)

4.5.6 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS MOSQUITOS

Para tener resultados fiables, es recomendable utilizar mosquitos **hembras no alimentadas, preferiblemente de 3 a 5 días de edad** (después de la emergencia), proveniente de larvas de la F1 criada en laboratorio. Si las hembras tienen menos de 2 días de edad, son más frágiles y su mortalidad puede ser elevada. Al contrario, hembras de más de 5 días pueden dar resultados con una variabilidad más elevada. (22)

4.5.7 CONDICIONES DE REALIZACIÓN DEL ENSAYO

Los ensayos deben ser realizados fuera de los insectarios, en un ambiente controlado (temperatura y humedad constante). Una temperatura demasiado elevada da una menor eficacia a los piretroides y puede llegar a sobre-estimar la

resistencia. Los ensayos con piretroides nunca deben ser realizados a una temperatura mayor de 30°C. Idealmente, los ensayos deben ser realizados en condiciones de laboratorios, con temperaturas de 25°C (\pm 2°C) y humedad relativa de 70-80%. (22)

5. RESULTADOS

5.1 CEPAS DE *Aedes aegypti* ESTUDIADAS

En el presente trabajo se estudiaron 11 cepas de *Aedes aegypti* capturadas en diferentes lugares del país intentando tener muestras que abarque tanto ciudades importantes en la región amazónica así como comunidades en los valles y el chaco en diferentes departamentos intentando cubrir una gran parte del país donde se haya evidenciado la presencia del vector del dengue en Bolivia (Tabla N° 1)



Fuente: Laboratorio de Entomología Médica – INLASA. Imagen: bolivialand.com

Figura 6. Ubicación geográfica de cepas de *Aedes aegypti*

Tabla 1. Cepas de *Aedes aegypti* estudiadas

DEPARTAMENTO	PROVINCIA	CIUDAD / COMUNIDAD
Beni	Cercado	Trinidad
	Antonio Vaca Diez	Guayaramerín
	Antonio Vaca Diez	Riberalta
Chuquisaca	Zudañes	Surima
	Hernando Siles	Monteagudo
	Luis Calvo	Tiguipa Estacion
Cochabamba	Carrasco	Ivrgarzama
	Campero	Eje Pampa
	Campero	Mataral
Pando	Nicolás Suárez	Cobija
Tarija	Gran Chaco	Yacuiba

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

5.2 RESULTADOS DE BIOENSAYOS LARVARIOS

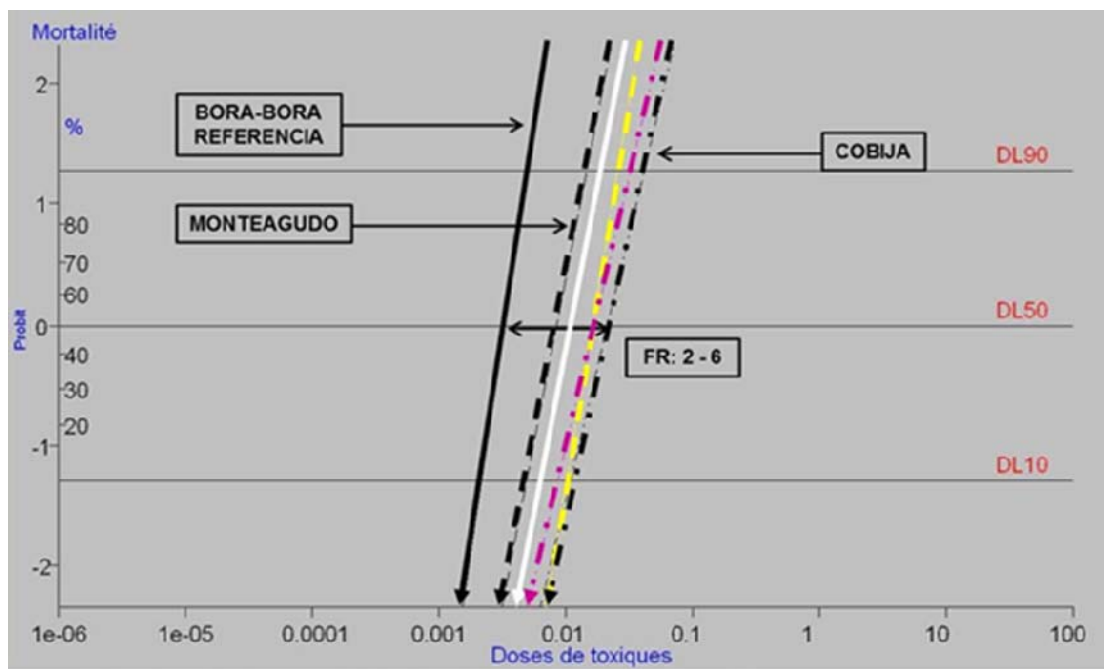
En el presente estudio se determinó que no existe una elevada resistencia al insecticida utilizado para el control de las formas larvarias de *Aedes aegypti* que es el Temephos, se encontró que todas las cepas estudiadas presentan una resistencia baja, observándose factores de resistencia que varían entre 2 y 4 a este insecticida a excepción de las cepas de Trinidad, Eje Pampa y Yacuiba que presentan una resistencia media con un factor de resistencia de 6. (Tabla N° 2)

Tabla 2. Resultados de los bioensayos larvarios

DEPARTAMENTO	CEPA	DL 50	FR*	RESULTADO
	Bora-Bora (Referencia)	0,0033		
Beni	Trinidad	0,018	6	Resistencia media
	Guayaramerin	0,013	3	Resistencia baja
	Riberalta	0,012	3	Resistencia baja
Chuquisaca	Surima	0,014	4	Resistencia baja
	Monteagudo	0,0095	2	Resistencia baja
	Tiguipa Estación	0,0093	2	Resistencia baja
Cochabamba	Ivrgarzama	0,013	3	Resistencia baja
	Eje Pampa	0,017	6	Resistencia media
	Mataral	0,013	3	Resistencia baja
Pando	Cobija	0,021	6	Resistencia media
Tarija	Yacuiba	0,016	4	Resistencia baja

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

La gráfica que se obtenida muestra que los gradientes de concentración de las cepas evaluadas un ligero desplazamiento hacia la izquierda de todas las cepas evaluadas.



Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

Figura 7. Gráfica de bioensayos con Temephos

5.3 RESULTADOS DE BIOENSAYOS DE TIPO DOSIS DIAGNÓSTICA

Se evaluaron mediante la técnica de papeles impregnados con insecticidas a las dosis diagnósticas establecidas por la OMS cinco insecticidas pertenecientes a 4 familias abarcando a todos los insecticidas disponibles para su uso en salud pública, haciendo énfasis en los que piretroides que son utilizados para el control de los vectores del dengue en el país.

Fueron evaluados los siguientes insecticidas:

Deltametrina y Lambdacyhalotrina para los insecticidas piretroides

Malation para los insecticidas Organofosforados

Propoxur para los insecticidas Carbamatos

DDT para los insecticidas Organoclorados

5.3.1 RESULTADOS OBTENIDOS A LOS INSECTICIDAS PIRETROIDES

Los bioensayos realizados con los dos insecticidas piretroides a la dosis diagnóstica, nos muestran que todas las cepas probadas son resistentes tanto a la Deltametrina como a la Lambdacyhalotrina con excepción de las cepas de Tiguipa Estación, Mataral y Cobija, que son cepas a vigilar a la Deltametrina; sin embargo las mismas tampoco presentan una mejor respuesta a este insecticida. (Tablas N° 3 y 4)

Tabla 3. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para la Deltametrina

DEPARTAMENTO	CEPA	% MORTALIDAD DELTAMETRINA	RESULTADO
Beni	Trinidad	57 %	Resistente
	Guayaramerin	79 %	Resistente
	Riberalta	78 %	Resistente
Chuquisaca	Surima	16 %	Resistente
	Monteagudo	68 %	Resistente
	Tiguipa Estación	85 %	A vigilar
Cochabamba	Ivirgarzama	76 %	Resistente
	Eje Pampa	42 %	Resistente
	Mataral	94 %	A vigilar
Pando	Cobija	92 %	A vigilar
Tarija	Yacuiba	78 %	Resistente

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

Tabla 4. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para la Lambdacyhalotrina

DEPARTAMENTO	CEPA	% MORTALIDAD LAMBACYHALOTRINA	RESULTADO
Beni	Trinidad	12 %	Resistente
	Guayaramerin	6 %	Resistente
	Riberalta	16 %	Resistente
Chuquisaca	Surima	1 %	Resistente
	Monteagudo	18 %	Resistente
	Tiguipa Estación	51 %	Resistente
Cochabamba	Ivirgarzama	26 %	Resistente
	Eje Pampa	5 %	Resistente
	Mataral	53 %	Resistente
Pando	Cobija	18 %	Resistente
Tarija	Yacuiba	29 %	Resistente

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

5.3.2 RESULTADOS A INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS

Los bioensayos realizados tanto con Malation y Propoxur, nos muestran que todas las cepas probadas son sensibles a ambas familias de insecticidas. (Tablas N° 5 y 6)

Tabla 5. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para el Malation

DEPARTAMENTO	CEPA	% MORTALIDAD MALATION	RESULTADO
Beni	Trinidad	98 %	Sensible
	Guayaramerin	99 %	Sensible
	Riberalta	100 %	Sensible
Chuquisaca	Surima	99 %	Sensible
	Monteagudo	100 %	Sensible
	Tiguipa Estación	100 %	Sensible
Cochabamba	Ivirgarzama	99 %	Sensible
	Eje Pampa	99 %	Sensible
	Mataral	100 %	Sensible
Pando	Cobija	100 %	Sensible
Tarija	Yacuiba	100 %	Sensible

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

Tabla 6. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica para el Propoxur

DEPARTAMENTO	CEPA	% MORTALIDAD PROPOXUR	RESULTADO
Beni	Trinidad	100 %	Sensible
	Guayaramerin	100 %	Sensible
	Riberalta	100 %	Sensible
Chuquisaca	Surima	99 %	Sensible
	Monteagudo	99 %	Sensible
	Tiguipa Estación	99 %	Sensible
Cochabamba	Ivirgarzama	100 %	Sensible
	Eje Pampa	100 %	Sensible
	Mataral	99 %	Sensible
Pando	Cobija	100 %	Sensible
Tarija	Yacuiba	99 %	Sensible

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

5.3.3 RESULTADO OBTENIDO AL INSECTICIDA ORGANOCOLORADO

Por último los resultados obtenidos cuando se sometieron las cepas de *Aedes aegypti* al insecticida organocolorado DDT nos muestra que todas son resistentes al mismo, mostrando un porcentaje muy elevado de resistencia. (Tabla N° 7).

Tabla 7. Resultados obtenidos a la Dosis Diagnóstica a para el DDT

DEPARTAMENTO	CEPA	% MORTALIDAD DDT	RESULTADO
Beni	Trinidad	0 %	Resistente
	Guayaramerin	0 %	Resistente
	Riberalta	0 %	Resistente
Chuquisaca	Surima	0 %	Resistente
	Monteagudo	1 %	Resistente
	Tiguipa Estación	1 %	Resistente
Cochabamba	Ivirgarzama	0 %	Resistente
	Eje Pampa	1 %	Resistente
	Mataral	1 %	Resistente
Pando	Cobija	1 %	Resistente
Tarija	Yacuiba	0 %	Resistente

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

5.4 RESULTADOS DE BIOENSAYOS DE TIPO DOSIS MORTALIDAD

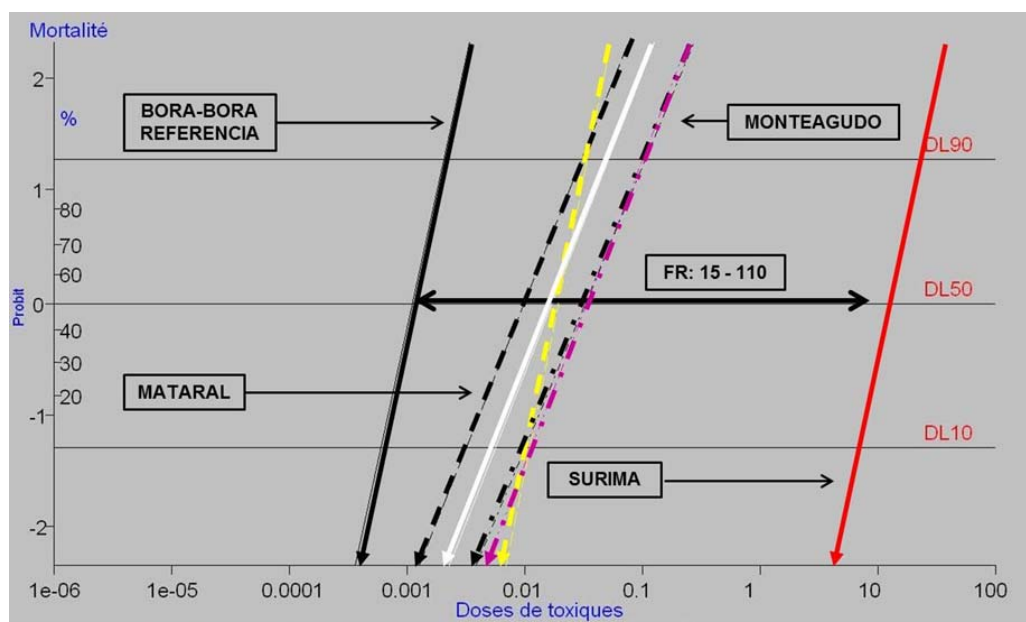
Finalmente todas las cepas de *Aedes aegypti* estudiadas, fueron expuestas a un gradiente de concentraciones para el insecticida Deltametrina, lo que nos permitió obtener la DL 50 de cada cepa y posteriormente su factor de resistencia (FR) al compararlo con la DL 50 de la cepa sensible de referencia, obteniéndose de esta manera, que todas las cepas son resistentes en comparación con la cepa sensible de referencia de igual manera como se hizo con las larvas de las cepas sometidas al insecticida Temephos. (Tabla N° 8).

Tabla 8. Resultados obtenidos del factor de resistencia para la Deltametrina

DEPARTAMENTO	CEPA	DL 50	FR*	RESULTADO
	Bora-Bora (Referencia)	0,001		
Beni	Trinidad	0,03	30	Resistencia elevada
	Guayaramerin	0,024	24	Resistencia elevada
	Riberalta	0,023	23	Resistencia elevada
Chuquisaca	Surima	0,11	110	Resistencia elevada
	Monteagudo	0,034	34	Resistencia elevada
	Tiguipa Estación	0,045	45	Resistencia elevada
Cochabamba	Ivirgarzama	0,017	17	Resistencia elevada
	Eje Pampa	0,033	33	Resistencia elevada
	Mataral	0,015	15	Resistencia elevada
Pando	Cobija	0,02	20	Resistencia elevada
Tarija	Yacuiba	0,02	20	Resistencia elevada

Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

También se realizó la gráfica de los gradientes de concentración de las cepas estudiadas donde se observa nítidamente la diferencia de las mismas en relación a la cepa sensible de referencia, siendo la cepa de Surima la que presenta un mayor desplazamiento hacia la izquierda, debido a su elevado FR en relación a los otros obtenidos.



Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

Figura 8. Gráfica de bioensayos con Deltametrina

6. DISCUSIÓN

El presente estudio abarcó diferentes áreas geográficas del país donde se encuentra el vector del dengue, tratando de abarcar las áreas de mayor incidencia de la enfermedad como la Amazonía boliviana representadas por las capitales de Beni y Pando, Trinidad y Cobija respectivamente, así como comunidades de la región del valle y del chaco del país como Mataral en Cochabamba o Yacuiba en Tarija, pudiendo de esta manera tener la información sobre la respuesta del *Aedes aegypti* de una gran parte del país a las diferentes familias de insecticidas que son utilizadas en salud pública tanto para el control de los mosquitos adultos y las larvas presentes en los criaderos que se pueden encontrar en las viviendas.

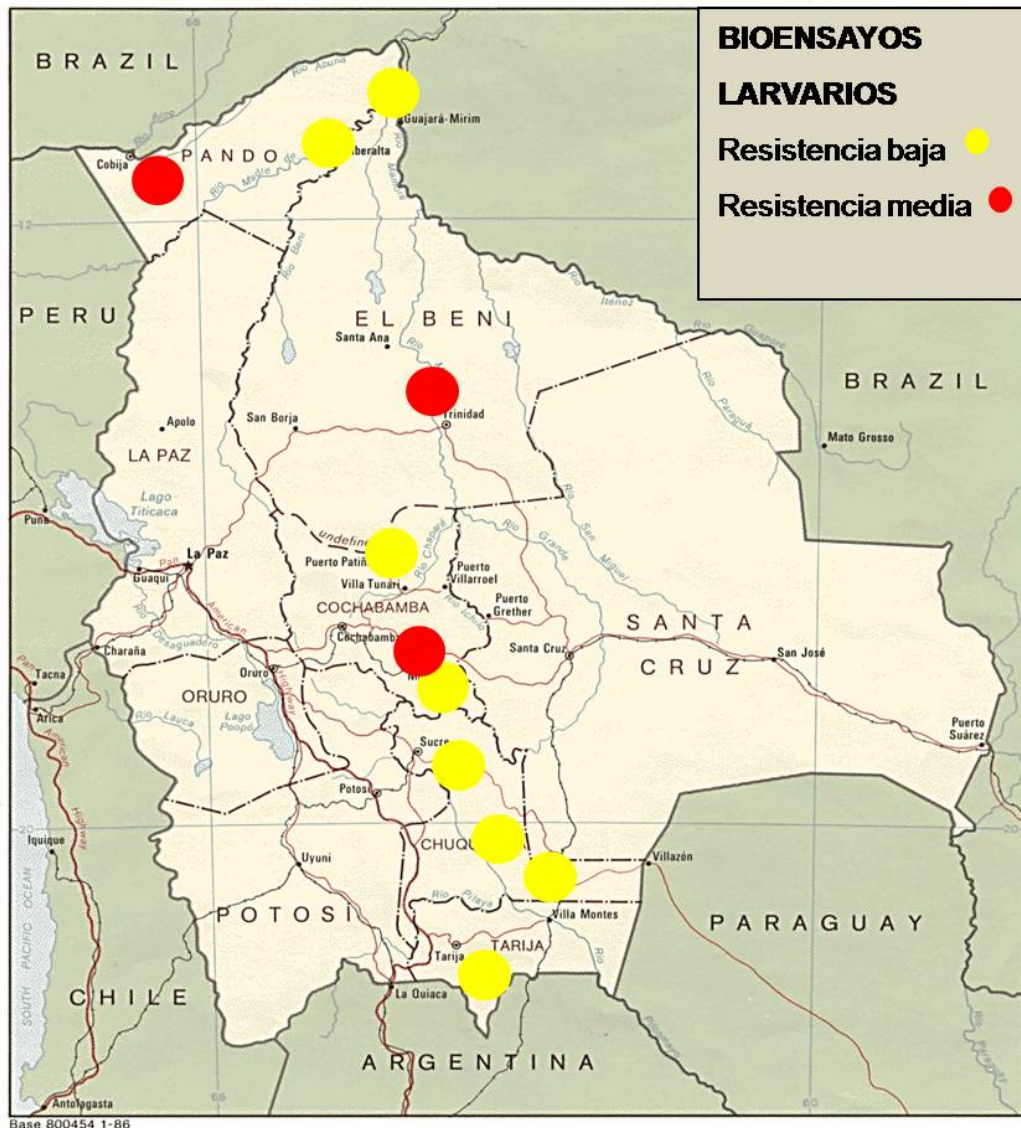
El primer paso a ser realizado fue la caracterización de una cepa sensible de referencia que fue la cepa: Bora - Bora, la cual fue facilitada por el Laboratoire de Lutte Contre les Insectes Nuisibles de Francia (LIN), laboratorio externo de referencia para el Laboratorio de Entomología Médica de INLASA.

Se realizó la caracterización de esta cepa a los insecticidas utilizados en el país para el control del *Aedes aegypti* que en la actualidad son los insecticidas piretroides para las formas adultas del mosquito, siendo la Deltametrina el insecticida caracterizado y el insecticida organofosforado Temephos que es utilizado para el control de la etapa larvaria del mosquito.

En ambos casos, se sometió a la cepa sensible de referencia a un gradiente de concentraciones, lo que nos permitió determinar en primer lugar la DL 50, que posteriormente nos permitió determinar el factor de resistencia de cada una de las cepas estudiadas.

En el caso de los bioensayos larvarios, se determinó que pese al uso de este larvicida, se observa que las cepas estudiadas todavía presentan una resistencia baja, con excepción de tres cepas que presentan una resistencia media lo que todavía lo hace un insecticida que se puede ser utilizado en el control de las formas inmaduras del vector, esperando buenos resultados cuando este larvicida se utiliza de manera correcta aplicándose en los tanques de agua de consumo humano presentes en las viviendas. (Figura 9)

Llama la atención que la cepa de la comunidad de Eje Pampa presente una resistencia media al Temephos porque de acuerdo los datos del Programa de Control de Dengue, es un lugar en el que no se aplicó este insecticida para el control de las formas inmaduras del mosquito, por lo que se puede suponer que hubo un transporte pasivo de los huevos del vector de otra región donde ya presentaba este nivel de resistencia colonizándose en la región.

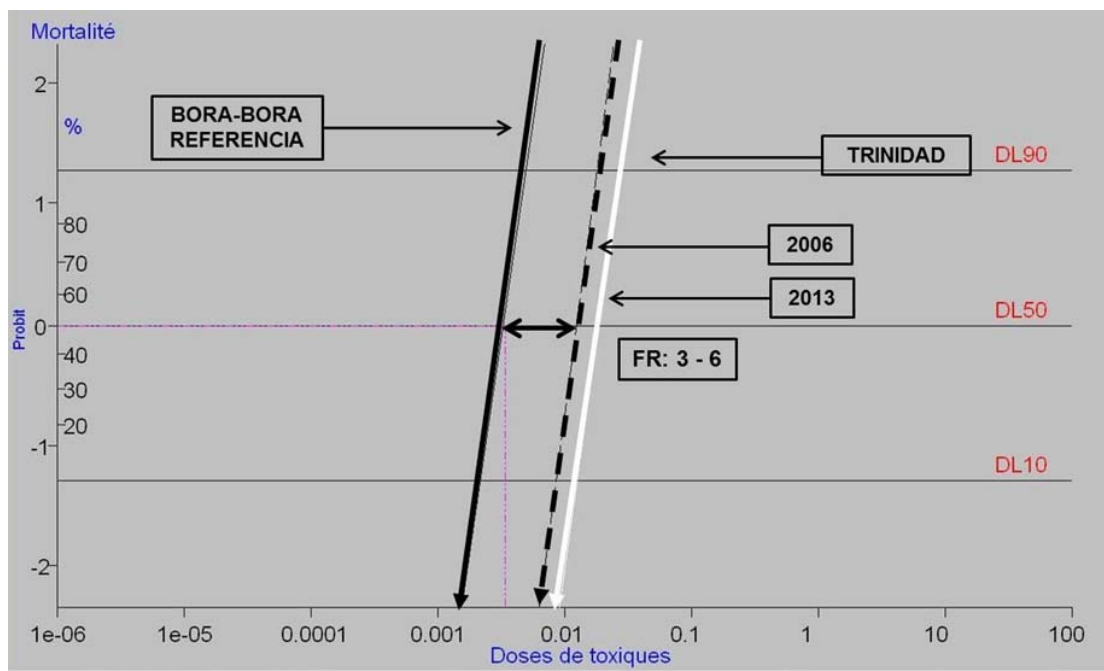


Fuente: Laboratorio de Entomología Médica - INLASA

Figura 9. Distribución de la resistencia al Temephos

Sin embargo esta situación puede modificarse en el corto tiempo si no se realiza la aplicación de este larvicida con una adecuada supervisión y respetando las concentraciones y frecuencia de aplicación, como es el caso en varios municipios de del Estado de Rio de Janeiro de Brasil, donde se observan factores de resistencia que varían entre 10 a 18 (23), o en algunas regiones de Colombia donde estos factores de resistencia varían entre 10 y 15 (24), lo que nos muestra que el uso de este insecticida para el control de las larvas genera una presión de selección generando en el tiempo poblaciones resistentes al mismo lo que puede comprometer el control vectorial del dengue en una región determinada.

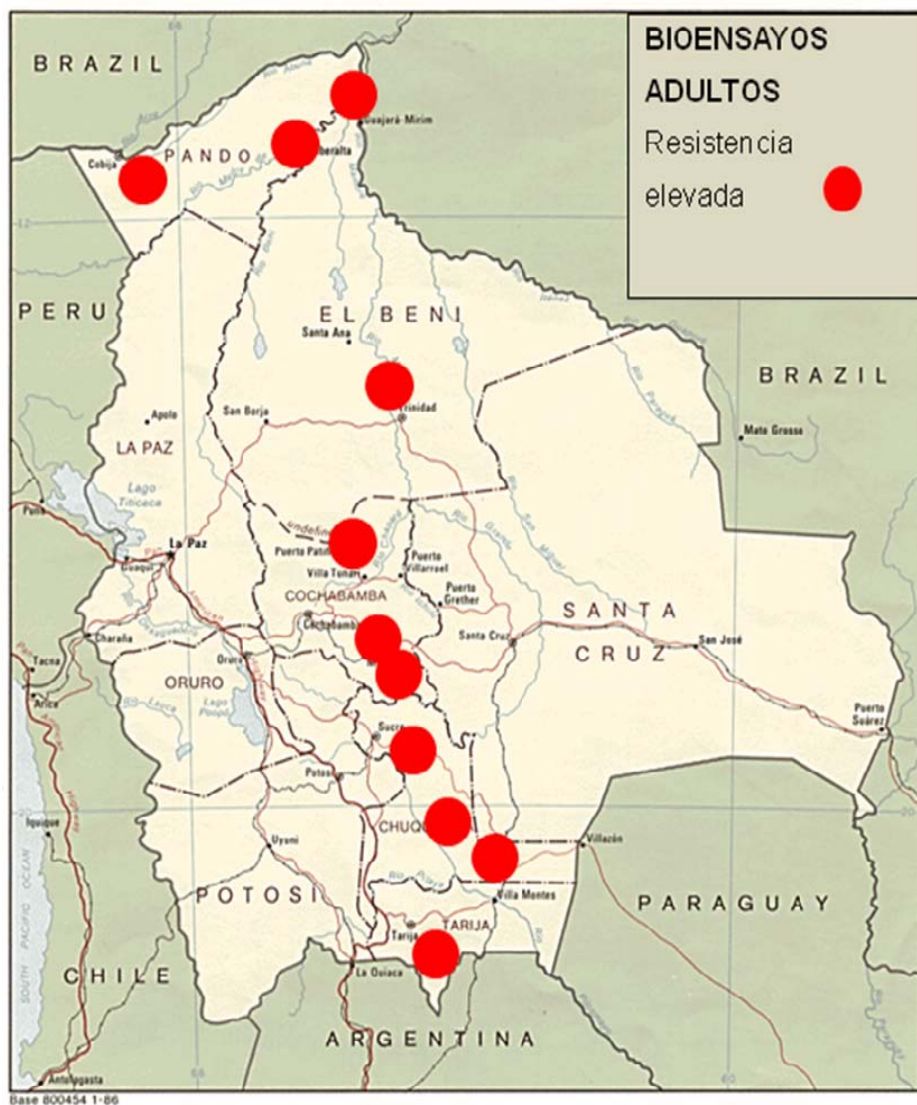
En el país se tienen los datos preliminares en relación a la cepa de Trinidad que en los estudios preliminares realizados por el Laboratorio el año 2006 se pudo determinar que la misma presentaba un FR de 3, siendo un tipo de resistencia baja; sin embargo para el año 2013 para el estudio del presente estudio se pudo evidenciar un incremento del FR a 6, cambiando el nivel de resistencia de la cepa a resistencia media, lo que nos muestra que la presión de selección ejercida por un insecticida sobre una cepa se puede evidenciar en el tiempo. (Figura 10)



Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

Figura 10. Variación del factor de resistencia de Trinidad al Temephos

De igual manera, cuando se sometió los mosquitos adultos a un gradiente de concentración al insecticida Deltametrina, se observó por el contrario que todas las cepas estudiadas, presentaban una resistencia elevada variando su factor de resistencia entre 15 como se obtuvo con la cepa de Mataral hasta un factor de resistencia de 110 obtenido para la cepa de Surima. Estos datos nos indican que existe un uso intensivo de los insecticidas piretroides para el control de las formas adultas del vector del dengue en todo el país. (Figura 11)

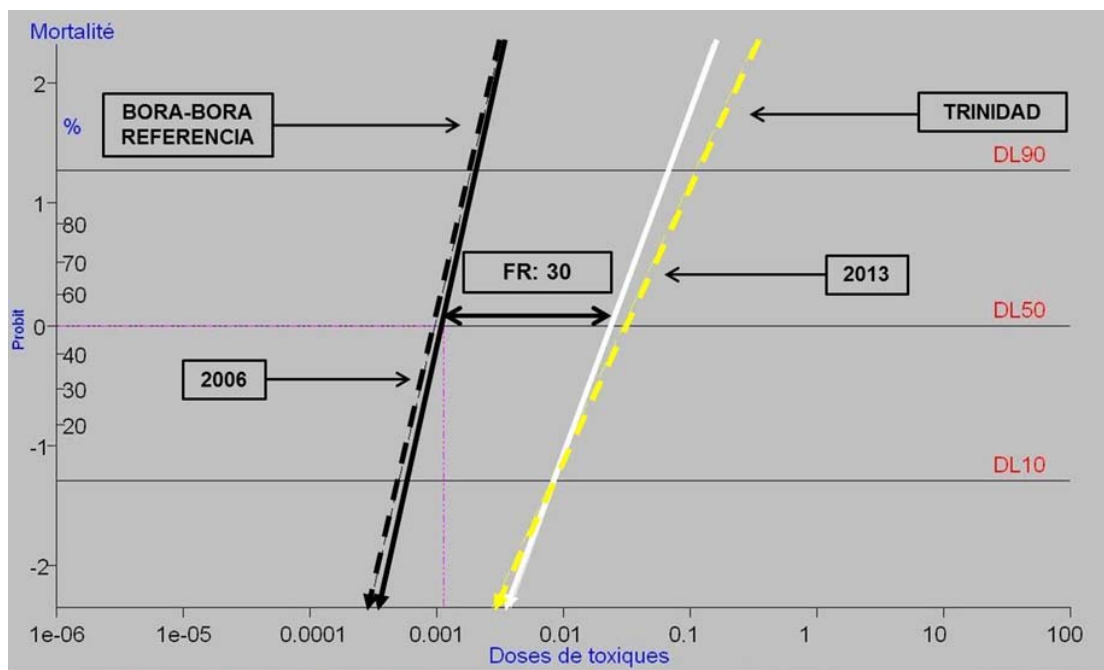


Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

Figura 11. Distribución de la resistencia a la Deltametrina

A esto se tiene que añadir que en muchas regiones del país, existe sobreposición de vectores como el *Triatoma infestans* vector de la enfermedad de Chagas o de *Anopheles darlingi* y *Anopheles pseudopunctipennis* vectores de Malaria en la región amazónica y los valles respectivamente, siendo el control de los mismos también realizado con insecticidas piretroides. Si bien la técnica de control vectorial varía de acuerdo a la especie a tratar, es probable que de manera indirecta afecte también a los vectores del dengue provocando una presión de selección que dio lugar a la presencia de mayor cantidad de individuos resistentes en una determinada población, eliminando a los insectos sensibles como se observa en la cepa estudiada de Surima donde se encontró el factor de resistencia de 110, el más elevado encontrado hasta la fecha dentro las cepas estudiadas.

La prueba evidente de una presión de selección se puede ejemplificar también con la cepa de Trinidad, que cuando fue evaluada el año 2006 era sensible a la Deltametrina con un FR de 1, igual a la cepa sensible; sin embargo siete años después se puede observar que el factor de resistencia es de 30 transformándose en una cepa resistente, estos resultados evidencian que sí se produce presión de selección en una cepa debido al uso de los insecticidas. (Figura 12)



Fuente: Laboratorio de entomología Médica - INLASA

Figura 12. Variación del factor de resistencia de Trinidad a la Deltametrina

En relación a los resultados obtenidos cuando las cepas fueron sometidas a los bioensayos de tipo dosis diagnóstica a diferentes familias de insecticidas, se observó que todas las cepas sometidas a los dos insecticidas piretroides utilizados (Deltametrina y Lambdacyhalotrina) fueron resistentes a los mismos, lo que nos muestra también que hubo una presión de selección de los mosquitos.

Resultados similares se pueden observar en diferentes lugares como por ejemplo en Martinica (25), donde el porcentaje de mortalidad a la Deltametrina varía entre el 20 % al 90 %, o en el Estado de Ceará en Brazil (26), donde el porcentaje de mortalidad a la Cipermetrina varía entre 50 % a 90 %, finalmente en la comunidad Sullana en el Perú (27) donde el porcentaje de mortalidad a la Deltametrina fue del 70%; estos datos nos muestran que el problema de resistencia a los insecticidas piretroides abarca muchas regiones del mundo debido a que los insecticidas de esta familia son de los menos tóxicos con el medio ambiente y las personas.

Cuando se sometieron a las cepas tanto al Malatión como al Propoxur, (organofosforado y carbamato respectivamente), se observó que las mismas fueron sensibles a estos insecticidas. Estos insecticidas no han sido utilizados en el país para el control vectorial, pudiendo ser una alternativa si se decide realizar un rote de insecticidas debiendo realizar estas actividades con una estricta supervisión para evitar que en el futuro se presenten nuevamente problemas de resistencia como se ha evidenciado en Senegal y el Archipiélago del Cabo Verde (28), donde se observó que las cepas estudiadas se clasifican como cepas a vigilar al Propoxur.

En relación a los resultados obtenidos cuando se expusieron las cepas al DDT, se pudo observar que todas fueron resistentes a este insecticida organoclorado, observándose prácticamente que no existe mortalidad al mismo, variando entre 0 % y 1 % para todas las cepas manifestándose que el sitio de acción de estos insecticidas en los insectos (modificación del sitio blanco), está claramente afectado.

La resistencia del *Aedes aegypti* al DDT está descrita en toda América Latina y el Caribe (20). En cepas de Cuba y Venezuela ésta resistencia se encuentra mediada por la sobreproducción de la enzima Glutation-S-transferasa (30), motivo por el cual se sospecha que un mecanismo similar podría estar presente en las cepas del presente estudio, por lo que es necesario realizar estudios complementarios para poder esclarecer los mecanismos que producen esta resistencia cruzada.

7. CONCLUSIONES

- Se evaluó la sensibilidad/resistencia del *Aedes aegypti* a insecticidas pertenecientes a cuatro familias de insecticidas utilizados en Salud Pública.
- Se caracterizó la cepa sensible de referencia Bora - Bora determinándose su DL 50 para los insecticidas Deltametrina y Temephos.
- En los bioensayos larvarios de *Aedes aegypti*, se ha evidenciado resistencia baja en las poblaciones de Guayaramerín, Riberalta (Beni); Surima, Monteagudo, Tiguipa Estación (Chuquisaca), Ivirgarzama, Mataral (Cochabamba) y Yacuiba (Tarija) y tres cepas que presentan una resistencia media: Trinidad (Beni), Eje Pampa (Cochabamba) y Cobija (Pando).
- En poblaciones de adultos de *Aedes aegypti*, se ha evidenciado que todas las cepas estudiadas son resistentes a los insecticidas piretroides ensayados con excepción de tres cepas que presentan un estatus de cepas “a vigilar” para el insecticida Deltametrina: Tiguipa Estación (Chuquisaca), Mataral (Cochabamba) y Cobija (Pando).
- Todas las cepas de adultos estudiadas son sensibles al Malation y Propoxur.
- Todas las cepas de adultos estudiadas son resistentes al DDT.

8. RECOMENDACIONES

- Se debe realizar la aplicación de los insecticidas piretroides con mucho cuidado por parte de los técnicos entomólogos encargados de su aplicación debido a que ya se encuentran niveles de resistencia elevados a estos químicos en diferentes lugares del país.
- En el caso del Temephos, el hecho de que el Factor de Resistencia no haya sobrepasado de 10 (resistencia alta), nos indica que este insecticida puede seguir siendo utilizado dentro de la estrategia de control vectorial para estadios inmaduros si se aplica de manera correcta en los tanques de agua de consumo humano presentes en las viviendas. Sin embargo esta situación puede modificarse en el corto tiempo si no se realiza la aplicación de este larvicida con la adecuada supervisión y respetando las concentraciones y frecuencia de aplicación.
- Se deben realizar una permanente supervisión tanto de los equipos, los químicos y el personal que se encarga del control del mosquito.
- Se ha evidenciado que la presión de selección realizada en los lugares endémicos da lugar al surgimiento de poblaciones resistentes, tal el caso de Trinidad. Esta situación nos lleva a sugerir a los Programas Nacionales de Control de Vectores, controlar y supervisar de manera sostenida el buen uso de los insecticidas para evitar que en el futuro inmediato no se cuenten con insecticidas aprobados para uso en Salud Pública eficaces en el control vectorial.
- Debido a que en muchos lugares del país existe una sobreposición de vectores se debe de coordinar con los Programas de Control la correcta fumigación respetando el tiempo que debe transcurrir para volver a realizar la aplicación de los insecticidas, lo cual puede evitar la aparición de la resistencia a un determinado insecticida de manera rápida.

- Se debe llevar un registro cuidadoso de los insecticidas utilizados, en cada lugar donde se realiza el control del *Aedes aegypti* para poder contar con información que nos permita vigilar la evolución de la resistencia a los mismos.
- Es importante evaluar otras estrategias para el control del *Aedes aegypti*.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Murray NEA, Quam MB, Wilder-Smith A. Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. *Clinical Epidemiology*. 2013; 5: 299-309.
2. Brathwaite Dick O, San Martín JL, Montoya RH, del Diego J, Zambrano B, Dayan GH. The history of dengue outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg*. 2012; 87(4): 584-593.
3. Vargas R. *Aedes aegypti* en Bolivia. *Bol. Inf. Cenetro*.1983, Vol IX N° 1.
4. Pinto SO. La campaña de erradicación del *Aedes aegypti* en las Americas – su organización, evolución y resultados hasta diciembre de 1954. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. Abril 1955.
5. Organización Panamericana de la Salud. Situación del *Aedes aegypti* en Bolivia. Programa de biología y control de vectores. *Rev. Oficina Panamericana de Salud*. 1980.
6. Halsey ES, Marks MA, Gotuzzo E, Fiestas V, Suarez L, Vargas J et al. Correlation of serotype-specific dengue virus infection with clinical manifestations. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6(5): 1-10.
7. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. La Paz, Bolivia. OPS/OMS, 2010.
8. Soper FL. The prospect for *Aedes aegypti* eradication in Asia in the light of its eradication in Brazil. *Bull World Health Org*.1967, 36: 645-647.
9. Fernandez I. Biología y control del *Aedes aegypti*. Manual de Operaciones. Universidad Autónoma de Nuevo León. 1999.
10. Masuh Héctor. DENGUE - Métodos de Control del *Aedes aegypti*. CIPEIN (Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas)-CITEFA-CONICET. J.B. La Salle 4397 - (B1603ALO) - Villa Martelli - Buenos Aires.
11. Nelson MJ. *Aedes aegypti*: Biología y ecología. OPS/OMS. 1986.
12. Hemingway J and Ranson H. Chemical Control of Vectors and Mechanisms of Resistance Biology of Disease Vectors. Second Edition 2005. Chapter 41.
13. Reiner E. Spontaneous reactivation of phosphorylated and carbamylated cholinesterases. *Bull Entomol Res*. 1991, 44: 109-112.
14. Casida JE, Quistad GB. Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annu Rev Entomol*. 1998; 43: 1-16.

15. Fournier D, Mutero A. Modification of acetylcholinesterase as mechanism of resistance to insecticides. *Comp Biochem Physiol*. 1994, 108: 19-31.
16. Bisset JA, Rodríguez M, Fernández D, Palomino M. Insecticide resistance mechanisms of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from two Peruvian provinces. *Rev Cubana Med Trop*. 2007; 59(3): 202-8.
17. Cruz RR. Estrategias para el control del dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Rev Cubana Med Trop*. 2002, 54(3): 189-201.
18. World Health Organization. Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (field and laboratory manual). Geneva: WHO; 1998
19. World Health Organization: Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquito to organochlorine organophosphate and carbamate insecticides diagnostic test. Geneva: WHO; 1981
20. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Laboratorios de Salud. Laboratorio de Entomología Médica. Bioensayos Insecticidas con Larvas de Mosquitos. Determinación de la Línea de Base. MPT-LEM-BQ-07
21. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Laboratorios de Salud. Laboratorio de Entomología Médica. Preparación de Soluciones Insecticidas para la Impregnación de Papeles Filtro. MPT-LEM-BQ-01
22. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Laboratorios de Salud. Laboratorio de Entomología Médica. Determinación de la Sensibilidad de Mosquitos a un Insecticida según el Protocolo en Tubos de la OMS. MPT-LEM-BQ-06
23. Braga IA, Lima JB, Soares Sda S, Valle D. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004 Mar; 99(2): 199-203.
24. Grisales N, Poupardin R, Gomez S, Fonseca-Gonzalez I, Ranson H, Lenhart A. Temephos resistance in *Aedes aegypti* in Colombia compromises dengue vector control. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Sep 19; 7(9): 2438.
25. Marcombe S, Mathieu RB, Pocquet N, Riaz MA, Poupardin R, Sélis S et al. Insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* from Martinique: Distribution, Mechanisms and relations with environmental factors. *PLoS ONE*. 2012; 7 (2): 1-11.
26. Lima EP, Paiva MH, de Araújo AP, da Silva EV, da Silva UM, de Oliveira LN, Santana AE, Barbosa CN, de Paiva Neto CC, Goulart MO, Wilding CS, Ayres CF, de Melo Santos MA. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasit Vectors*. 2011 Jan. 12; 4:5.

27. Chávez J, Vargas J, Vargas F. Resistencia a la deltametrina en dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) del Perú. Rev. Biol. Peru. 2005 12 (1): 161 – 164.
28. Dia I, Diagne CT, Ba Y, Diallo D, Konate L, Diallo M. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* populations from Senegal and Cape Verde Archipelago. Parasit Vectors. 2012 Oct 22; 5: 238.
29. OMS 1991. Resistencia de los vectores de enfermedades a los plaguicidas. 15º Informe del Comité de Expertos de la OMS en biología de los vectores y lucha anti vectorial.
30. Rodríguez MM, Bisset J, de Fernandez DM, Lauzán L, Soca A. Detection of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba and Venezuela. J Med Entomol. 2001 Sep; 38(5): 623-8.