

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**Estimación de líneas de respuesta a diferentes insecticidas en el mosquito  
*Culex quinquefasciatus* (Say) en una población de Torreón, Coahuila**

**POR**

**JAVIER PÉREZ SOLIS**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

**TORREÓN, COAHUILA**

**FEBRERO DE 2009**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**Estimación de líneas de respuesta a diferentes insecticidas en el mosquito  
*Culex quinquefasciatus* (Say) en una población de Torreón, Coahuila**

**POR**

**JAVIER PÉREZ SOLIS**

**APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA**

**ASESOR PRINCIPAL:**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS**

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.Sc. MA. TERESA VALDÉS PEREZGASGA**

**ASESOR:**

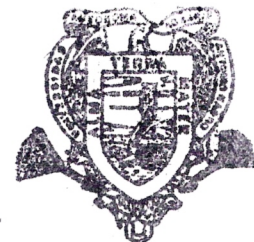
  
\_\_\_\_\_  
**Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ**

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

**TORREÓN, COAHUILA**

**FEBRERO DE 2009**

TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO  
EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO  
DE:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

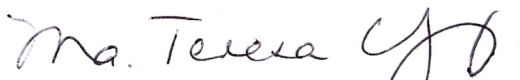
**APROBADA**

**PRESIDENTE:**



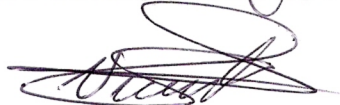
**DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS**

**VOCAL:**



**M. Sc. MA. TERESA VALDÉS PEREZGASGA**

**VOCAL:**



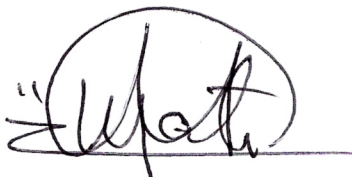
**Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ**

**VOCAL SUPLENTE:**

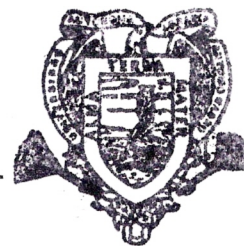


**M.C. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS:**



**M.C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

**TORREÓN, COAHUILA**

**FEBRERO DE 2009**

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios**, por permitirme llegar a este momento y poder compartir este logro profesional con toda mi familia que tanto me ha apoyado.

**A mi escuela**, La Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por darme la oportunidad de formarme como profesionista.

**A toda mi Familia**, en especial a mis padres, **la Sra. María Solís Fuentes y el Sr. Lorenzo Pérez Jardón** por todo el cariño y el apoyo que me han brindado, pero sobre todo gracias por confiar siempre en mí.

**Al Dr. Francisco Javier Sánchez Ramos**, por hacerme partícipe de este proyecto, por confiar en mí y por la amistad desinteresada que siempre me ha brindado.

**A la M. Sc. Ma. Teresa Valdés Perezgasga, Ph. D. Vicente Hernández Hernández y al M.C. Javier López Hernández**, por su apoyo y consejos para la realización de este trabajo.

**A todos mis maestros del departamento de parasitología**, gracias por sus enseñanzas y consejos dentro y fuera de las aulas las cuales me han ayudado a formarme como profesionista.

**A mis amigos:** Fany, Chary, Memo y Tebis gracias por compartir conmigo momentos felices y experiencias difíciles durante toda nuestra carrera, pero sobre todo gracias por su amistad.

**A mis compañeros:** Fany, Chary, Domy, Memo, Tebis, Manolo, Bulfrano, Ananías, Juan Gonzalo, Miguel, Nicolás, Cristian, José Luís, Agustín y Alfredo, gracias por todas las vivencias compartidas durante nuestra estancia en la universidad.

**A la Familia Hernández Nava**, por todo el apoyo desinteresado que siempre me han brindado.

**A la Familia Barrios Cid**, por todo su apoyo y cariño desinteresado que siempre me mostraron y por adoptarme como parte de su familia.

**A la Sra. Graciela Armijo Yerena**, secretaria del departamento de parasitología, por todo el apoyo incondicional que siempre me ha brindado.

## **DEDICATORIAS**

### **A mis padres**

María Solís Fuentes y Lorenzo Pérez Jardón, que con su esfuerzo y sacrificio supieron darme todo el apoyo y cariño para que pudiera llegar a ser un profesionalista y una persona de bien; gracias por ser mi inspiración, pero sobre todo gracias por ser un ejemplo para mí.

### **A mis hermanos**

Sonia, Emigdio, Hilda, Arturo, Lilia, Francisco, Jaime y Anali. Por todo el apoyo que cada uno de ustedes me ha brindado.

### **A mi Tía Gudelia**

Por apoyarme y cuidarme siempre.

### **A mi Tío Enrique**

Por apoyarme siempre y por ser un ejemplo para mí.

### **A mis sobrinos**

Lupita, Luís Ángel y Leonel, por todo su cariño y alegrías que le han dado a mi vida.

### **A Emma**

Por todo el apoyo, por alentarme en momentos difíciles y por ser parte de mi inspiración; pero sobre todo por el cariño y amor que siempre me has dado.

## RESUMEN

Durante el 2007 y 2008 se realizó un estudio con larvas y hembras adultas de *Culex quinquefasciatus* (Say), procedentes del Municipio de Torreón Coahuila, con la finalidad de determinar líneas de respuesta tiempo-mortalidad para los larvicidas cipermetrina, permetrina, malation, temefos y propoxur, a una concentración de 100 µg grado técnico por 100 ml de agua; y para los adulticidas permetrina y malation a concentraciones de 1, 10, 100, 1000 µg grado técnico por botella. Las líneas de respuesta tiempo-mortalidad obtenidas en larvicidas a concentración de 100 µg/100 ml de agua fueron las siguientes: cipermetrina (TL<sub>95</sub>) 30.589 min; permetrina (TL<sub>95</sub>) 68.232 min; malation (TL<sub>95</sub>) 185.595 min; temefos (TL<sub>95</sub>) 2431.871 min y propoxur (TL<sub>95</sub>) 99.107 min. Las líneas de respuesta tiempo-mortalidad para permetrina (TL<sub>95</sub>) fueron 1191.634 min, 55.490 min, 16.051 min y 4.171 min para las concentraciones 1, 10, 100 y 1000 µg, respectivamente. Para malation (TL<sub>95</sub>), las respuestas para las mismas concentraciones fueron 280.338 min, 75.559 min, 47.371 min y 45.632 min, respectivamente. Los resultados obtenidos pueden servir como punto de partida para estudios posteriores, así como para recomendar una posible rotación de productos a nivel campo.

**Palabras clave:** *Culex quinquefasciatus*, resistencia, líneas de respuesta

## ÍNDICE GENERAL

|   | Pág. |
|---|------|
| AGRADECIMIENTOS   | i    |
| DEDICATORIAS  | ii   |
| RESUMEN   | iii  |
| ÍNDICE GENERAL  | iv   |
| ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS                                 | v    |
| 1. INTRODUCCIÓN   | 1    |
| Objetivos   | 2    |
| Hipótesis   | 2    |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA                                   | 3    |
| 2.1. Descripción del área de estudio                        | 3    |
| 2.2. Características generales de los mosquitos             | 4    |
| 2.3. Clasificación taxonómica                               | 6    |
| 2.4. Los mosquitos como vectores de enfermedades            | 6    |
| 2.4.1. Malaria (paludismo)                                  | 7    |
| 2.4.2. Filariasis   | 8    |
| 2.4.3. Filariasis canina                                    | 8    |
| 2.4.4. Fiebre amarilla                                      | 9    |
| 2.4.5. Dengue   | 9    |
| 2.4.6. Encefalitis  | 10   |
| 2.4.7. Encefalitis ocasionada por el VON                    | 11   |
| 2.5. Características de <i>Culex quinquefasciatus</i> (Say) | 12   |
| 2.5.1. Ciclo de vida  | 12   |
| 2.5.1.1. Huevo  | 12   |
| 2.5.1.2. Larva  | 13   |
| 2.5.1.3. Pupa   | 13   |
| 2.5.1.4. Adulto   | 14   |
| 2.5.2. Distribución geográfica                              | 14   |
| 2.5.3. Hábitat  | 15   |
| 2.5.4. Hábitos alimenticios                                 | 15   |
| 2.6. Control de mosquitos                                   | 16   |
| 2.6.1. Estrategias indirectas                               | 16   |
| 2.6.2. Estrategias directas                                 | 17   |
| 2.6.2.1. Control biológico                                  | 17   |
| 2.6.2.2. Control químico                                    | 18   |

|   |    |
|---|----|
| 2.7. Resistencia a insecticidas   | 20 |
| 2.7.1. Tipos de resistencia a insecticidas                                  | 21 |
| 2.7.1.1. Resistencia por comportamiento                                     | 21 |
| 2.7.1.2. Resistencia morfológica  | 22 |
| 2.7.1.3. Resistencia fisiológica  | 22 |
| 2.7.2. Mecanismos de resistencia a insecticidas                             | 23 |
| 2.7.3. Detección y monitoreo de resistencia a insecticidas                  | 23 |
| 2.7.3.1. Bioensayos   | 24 |
| 2.7.3.2. Ensayos bioquímicos  | 25 |
| 2.7.3.3. Ensayos moleculares  | 26 |
| 2.7.4. Resistencia a insecticidas en <i>Culex quinquefasciatus</i><br>(Say) | 26 |
| 2.7.5. Manejo de resistencia  | 27 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS   | 28 |
| 3.1. Ubicación del trabajo  | 28 |
| 3.2. Colecta de material biológico  | 28 |
| 3.3. Identificación del material biológico                                  | 29 |
| 3.4. Insecticidas evaluados   | 29 |
| 3.5. Bioensayos   | 30 |
| 3.6. Análisis estadístico   | 33 |
| 4. RESULTADOS   | 34 |
| 5. DISCUSIÓN  | 38 |
| 6. CONCLUSIONES   | 39 |
| 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS   | 40 |



## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

|  | Pág. |
|--|------|
| Cuadro 1. Productos recomendados para el control de mosquitos  | 19   |
| Cuadro 2. Mecanismos de resistencia a insecticidas   | 23   |
| Cuadro 3. Productos utilizados en los bioensayos de <i>Cx. quinquefasciatus</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009. | 30   |
| Cuadro 4. Tiempos letales de larvas tratadas con insecticidas. UAAAN-UL. Torreón, Coah.                          | 34   |
| Cuadro 5. Tiempos letales de adultos tratados con permetrina. UAAAN-UL. Torreón, Coah.                           | 35   |
| Cuadro 6. Tiempos letales de adultos tratados con malation. UAAAN-UL Torreón, Coah.                              | 36   |
| Figura 1. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de larvas tratadas con insecticidas. UAAAN-UL. Torreón, Coah.    | 35   |
| Figura 2. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con permetrina. UAAAN-UL. Torreón, Coah.     | 36   |
| Figura 3. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con malation. UAAAN-UL. Torreón, Coah.       | 37   |

## 1. INTRODUCCIÓN

El sistema productivo humano en general se ve afectado por una gran diversidad de problemas, uno de los más importantes es sin duda el ocasionado por las enfermedades. La incidencia de enfermedades transmitidas por mosquitos a animales y humanos se ha incrementado dramáticamente a nivel mundial (Beerntsen *et al.*, 2000).

La permanencia y transmisión de los patógenos que causan el paludismo (malaria), filariasis linfática y encefalitis, son completamente dependientes de la disponibilidad de mosquitos vectores (Brogdon y McAllister, 1998).

En la última década se ha presentado una enfermedad, relativamente nueva en el continente Americano, encefalitis, ocasionada por el virus del Oeste del Nilo (VON), la cual es transmitida por el mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say), cada año son más los casos que se presentan, no solo en animales sino también en humanos (Balestrini, 2005).

Existen dos estrategias para combatir las enfermedades transmitidas por mosquitos; una es controlar al vector y la otra consiste en controlar la enfermedad con medicamentos suministrados a la persona infectada. Esta última estrategia resulta muy costosa y muchas veces ineficaz. Por lo anterior, es recomendable, utilizar la primera estrategia para llevar a cabo el control de las enfermedades transmitidas por mosquitos (Beerntsen *et al.*, 2000).

El control de mosquitos a través de modificaciones al ambiente y la aplicación de plaguicidas, constituyen la primera estrategia para el manejo de mosquitos vectores de enfermedades; esto involucra al medio ambiente, y la

salud humana, asimismo el desarrollo de resistencia a plaguicidas, con lo cual se limita la utilidad de estas estrategias tradicionales. (Beerntsen *et al.*, 2000).

La disponibilidad de insecticidas como resultado de resistencia del mosquito se ha visto disminuida. Por lo tanto, la detección de cambios en la susceptibilidad de una población de vectores, proporcionará las bases para un mejor manejo de los mismos (Balestrini, 2005).

Actualmente, en la Región Lagunera y particularmente en el Municipio de Torreón, Coahuila, se carece de información sobre la susceptibilidad de las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* hacia los diferentes insecticidas recomendados para su control.

### **Objetivos**

- Determinar las líneas de respuesta a diferentes insecticidas en el mosquito *Cx. quinquefasciatus* (Say) en una población de Torreón, Coah.
- Proponer una estrategia de manejo de insecticidas para el mosquito *Cx. quinquefasciatus* (Say) en Torreón, Coah.

### **Hipótesis**

- Las líneas de respuesta a insecticidas en el mosquito *Cx. quinquefasciatus* (Say) varían según el insecticida y la población en estudio.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Descripción del área de estudio

El municipio de Torreón se localiza en la parte oeste del sur del estado de Coahuila, entre las coordenadas 103° 26'33'' longitud oeste y 25° 32' 40'' latitud norte, a una altura de 1,120 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte y al este con el municipio de Matamoros; al sur y al oeste con el estado de Durango. Cuenta con una superficie de 1,947.70 kilómetros cuadrados, que representan un 1.29% del total de la superficie del Estado (GEC, 2004; SOATCM, 2004).

Física y geográficamente esta conformado por una planicie semidesértica con un clima caluroso y un alto grado de aridez. Esta planicie con grandes llanuras resacas, bolsones y valles muy extensos, cuenta con pocas prominencias orográficas. Éstas, no obstante son sierras y cerros de mediana elevación de gran importancia. Al noreste del municipio se ubica la Sierra de Jimulco y al Sureste la Sierra de la Candelaria (GEC, 2004).

El río Aguanaval entra por el sur del municipio, desplazándose hasta el oeste. El río Nazas se localiza en el norte del municipio y sirve como límite con el estado de Durango; el agua que se desplaza por este río se capta en las presas Lázaro Cárdenas y Francisco Zarco, y se emplea para irrigar a la zona agrícola más importante de la entidad. Ambos ríos son los únicos en México que no desembocan en el mar, sino en la formación de lagunas, de ahí el nombre de Comarca Lagunera (GEC, 2004; SOATCM, 2004).

## 2.2. Características generales de los mosquitos

Los mosquitos son pequeños insectos, de patas largas, con alas membranosas, pertenecientes al orden Díptera y familia Culicidae (Borror *et al.*, 1989).

La familia Culicidae es un grupo de insectos ampliamente distribuidos; en México, son nombrados como mosquitos, zancudos o moyotes en su estado adulto; como maromeros en su etapa pupal; y como agujitas en su fase larval (Ibañez, 1991).

Como todos los dípteros, los miembros de la familia Culicidae presentan cuatro estados de desarrollo; huevo, larva, pupa y adulto con los sexos separados. Los adultos pueden ser sexados por la existencia o ausencia de setas en las antenas (Borror *et al.*, 1989; Ibañez, 1991).

Los huevos son blancos inmediatamente después de depositados, pero se tornan negros con el paso de las horas; pueden ser depositados de cuatro formas diferentes: en conjunto formando balsas (*Culex*), adheridos a la vegetación acuática (*Mansonia*), individualmente en la superficie del agua (*Aedes* y *Anopheles*) o adheridos a paredes húmedas fuera del agua (*Aedes aegypti*). En términos generales, los huevos son alargados, ovoides o elípticos y presentan ornamentaciones microscópicas y submicroscópicas que pueden usarse para distinguir a la especie a que pertenecen (Borror *et al.*, 1989; Ibañez, 1991).

Después de dos o tres días de la ovipostura eclosionan las larvas, las cuales se desarrollan únicamente en espacios acuáticos, pasan la mayoría del

tiempo en la superficie del agua, respirando por medio del sifón y descendiendo solo para alimentarse o refugiarse ante una amenaza. Se alimentan de protozoarios, bacterias, algas y otros microorganismos. Morfológicamente tienen el cuerpo alargado, con una cápsula cefálica, completamente esclerosada y partes bucales con mechones; son ápodas y se mueven a través de movimientos espasmódicos (USDHHS, 1993; Borror *et al.*, 1989; Balestrini, 2005).

Aproximadamente una semana después de la eclosión, las larvas se convierten en pupas que también son acuáticas y reciben el nombre de “maromeros”, debido a que se desplazan dando vuelcos característicos. Tienen forma de “coma” cuando se observan lateralmente y presentan dos proyecciones originadas del tórax a manera de cuernos que son conocidas como “trompetas ventiladoras”, las cuales tienen función respiratoria; las larvas no se alimentan (USDHHS, 1993; OPS, 1995; Balestrini, 2005).

Los adultos son terrestres, pero suelen encontrarse cerca de las fuentes de agua. La mayoría de los mosquitos adultos no se trasladan lejos del medio acuático en el cual pasaron el estado larvario y su rango de vuelo depende de la especie. Los mosquitos presentan actividad crepuscular o en condiciones de sombreo; la mayoría pasa el día en lugares de reposo, como puede ser el follaje de plantas (WHO, 1986; Borror *et al.*, 1989; Ibañez, 1991).

### 2.3. Clasificación taxonómica

Los mosquitos con importancia médica se clasifican de la siguiente manera (Borror *et al.*, 1989).

**Phylum:** Artrópoda

**Subphylum:** Atelocerata

**Clase:** Hexápoda

**Subclase:** Pterygota

**Orden:** Díptera (moscas, tábanos, mosquitos)

**Suborden:** Nematocera

**Infraorden:** Culicomorpha

**Superfamilia:** Culicoidea

**Familia:** Culicidae (mosquitos verdaderos)

**Géneros:** *Culex*

*Aedes*

*Anopheles*

*Psorophora*

### 2.4. Los mosquitos como vectores de enfermedades

Los mosquitos son los artrópodos hematófagos más comunes de mayor importancia médica y veterinaria, ya que ocasionan molestias y transmiten agentes patógenos a gran variedad de especies de aves y mamíferos, incluso a los seres humanos (Travi y Montoya, 1994; Salazar y Moncada, 2004).

A través de la historia, los mosquitos han ocupado una posición importante como plaga insectil, pero fue hasta después del siglo XIX donde estos artrópodos fueron identificados como agentes responsables de la transmisión al hombre de algunas enfermedades devastadoras (WHO, 1986; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

Las enfermedades arbovirales transmitidas por mosquitos, representan un serio problema epidemiológico, tanto por su capacidad de diseminación

entre la población humana así como por la gravedad de sus síntomas (OMS, 2002; Ali *et al.*, 2003; Ruiz *et al.*, 2004).

Muchas de las enfermedades transmitidas por insectos son asociadas a factores socioeconómicos como pobreza, sobrepoblación, programas de saneamiento ambiental deficientes así como el deterioro ambiental (OPS, 1995).

Las enfermedades transmitidas por mosquitos pueden tener consecuencias graves y de gran alcance para la economía de una región o país. El turismo, una industria de gran importancia para muchos países, puede ser afectado seriamente por la sola existencia de mosquitos transmisores de enfermedades (Balestrini, 2005).

Cada año se reportan millones de personas infectadas por alguna enfermedad transmitida por mosquitos, entre las que destacan por su distribución casi mundial, encefalitis (complejo de virus, entre ellos el VON), malaria (paludismo), filariasis, fiebre amarilla, dirofilaria y dengue, (Borrór *et al.*, 1989; USDHHS, 1993; Beerntsen *et al.*, 2000; OMS, 2002).

#### **2.4.1. Malaria (paludismo)**

La malaria o paludismo, es una de las enfermedades más importantes en el mundo, es causada por varias especies de protozoarios pertenecientes al género *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* y *P. ovale*). Los patógenos son transmitidos de persona a persona por la picadura de los mosquitos del género *Anopheles*. Existen alrededor de 17 especies de



*Anopheles* en Norte América, pero solo tres son vectores de esta enfermedad: *An. quadrimaculatus*, *An. freeborni* y *An. hermsi* (USDHHS, 1993; Cueto, 2007).

#### **2.4.2. Filariasis**

La Organización Mundial de la Salud, estima que alrededor de 250 millones de personas son infectadas por los nematodos *Wuchereira bancrofti* y *Brugia malawi*, transmitidos por mosquitos (WHO, 1974). Los nematodos adultos viven en varias partes del sistema linfático, produciendo inflamación conocida como filariasis bancroftiana y brugiana en las extremidades (Ludlam *et al.*, 1970; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

La especie *Cx. quinquefasciatus*, se ha reportado como el principal vector de estos nematodos. Las personas pueden portar los parásitos sin síntomas aparentes, pero en otros casos, el nematodo puede causar inflamación y otras complicaciones. Algunas personas que han estado sometidas a repetidas infecciones, pueden presentar inflamación de genitales, pecho o piernas, recibiendo el término clínico de elefantiasis por el engrosamiento de las partes afectadas (USDHHS, 1993; OPS, 1995).

#### **2.4.3. Filariasis canina**

La filariasis canina también llamada enfermedad del gusano del corazón, es una enfermedad parasitaria, producida por parásitos filariformes, entre los cuales se encuentran; *Dirofilaria immitis*, *D. conjunctivae*, *D. tenuis*, *D. repens.*, *Filaroide hirthi*, *F. milksi*, *Filaria osleri*, *Dipetalonema reconditum* y *D.*

*streptocerca*. La transmisión de estos parásitos ocurre indirectamente a través de diferente tipo de mosquitos, los cuales constituyen sus hospedantes intermediarios y sin los cuales las microfilarias no pueden desarrollarse. Se ha reportado el completo desarrollo de las microfilarias en 50 especies de los géneros *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Mansonia*, *Psorophora* y *Coquillettidia* (Ludlam *et al.*, 1970; OPS, 1995).

#### **2.4.4. Fiebre amarilla**

La fiebre amarilla es una enfermedad viral que se transmite a humanos por la picadura del mosquito *Aedes aegypti* L. También es conocida como mal de Siam o fiebre de Barbados. Es una enfermedad infecciosa aguda, de rápida evolución; su gravedad puede ser variable. Independientemente de su intensidad, una vez padecida se adquiere inmunidad de por vida (Acha y Szyfres, 1986)

Existen dos tipos epidemiológicos distintos de la enfermedad que se encuentra en América; la fiebre amarilla urbana y la fiebre amarilla selvática; en ambas el virus es el mismo. Afortunadamente los seres humanos pueden ser protegidos por una vacuna (USDHHS, 1993; OPS, 1995).

#### **2.4.5. Dengue**

El dengue es una enfermedad infecciosa aguda de etiología viral, transmitida por mosquitos del género *Aedes*. El agente etiológico es el virus del dengue con cuatro serotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4. Actualmente

dentro de cada serotipo, los virus se pueden dividir en varios genotipos, que son genéticamente distintos pero tienen entre un 60 y 80 % de homología estructural proteínica; se cuenta con el registro de dos genotipos de DEN-1, cinco de DEN-2, cuatro de DEN-3 y dos de DEN-4 (Gubler, 1998; White, 1999; Gibbons y Vaughn, 2002).

Los cuatro serotipos pueden ocasionar dengue clásico, dengue hemorrágico o síndrome de choque por dengue (SS, 2002; Guha-Sapir y Schimmer, 2005).

El virus del dengue, entra al cuerpo humano por la picadura de un mosquito infectado y se replica dentro de las células fagocíticas moleculares (macrófagos, monocitos y células B). Adicionalmente, se sabe que puede ocurrir infección en células madre, dendríticas y endoteliales (Huang *et al.*, 2000; King *et al.*, 2000; Ling *et al.*, 2001).

#### **2.4.6. Encefalitis**

La encefalitis es causada por un complejo de virus; es una enfermedad poco común y cada año, afecta aproximadamente a 1,500 personas en los Estados Unidos, siendo más vulnerables los niños y personas de edad avanzada (USDHHS, 1993; OPS, 1995).

La encefalitis afecta al sistema nervioso central. Una vez que el virus ha entrado en el torrente sanguíneo, puede ubicarse en el cerebro ocasionando inflamación del tejido cerebral y de las membranas que lo rodean. En las personas que sobreviven a los casos severos de la enfermedad se pueden

presentar lesiones neurológicas permanentes que incluyen problemas con la memoria, lenguaje, visión, audición, control muscular y sensibilidad (Acha y Szyfres, 1986; WHO, 1986; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

Los cinco grandes tipos de encefalitis arbovirales en Norte América son: Encefalitis equina del este (EEE, por sus siglas en inglés), encefalitis equina del oeste (WEE, por sus siglas en inglés), encefalitis de San Luís (SLE, por sus siglas en inglés), encefalitis de La Crosse (LAC, por sus siglas en inglés) y encefalitis equina venezolana (VEE, por sus siglas en inglés), cada una causada por un virus diferente o un complejo viral (Acha y Szyfres 1986; WHO, 1986; USDHHS, 1993; OPS, 1995; Balestrini, 2005).

#### **2.4.7. Encefalitis ocasionada por el VON**

La encefalitis, ocasionada por el VON, es transmitida por la picadura de mosquitos infectados, afecta a aves, equinos y humanos. En el humano causa fiebre, malestar general y ocasionalmente síntomas graves como encefalitis o meningitis. Aunque las infecciones humanas en áreas endémicas de VON son comunes, la mayoría son generalmente leves o subclínicas, mientras que la enfermedad severa se relaciona generalmente con personas de la tercera edad (Balestrini, 2005; CENAVECE, 2006).

El VON, es miembro de la familia Flaviviridae (grupo Flavivirus). Pertenece taxonómicamente al serocomplejo de la encefalitis japonesa, que incluye el virus del dengue, el virus de la encefalitis de San Luis, el virus kunji y el virus del Valle de Murray, entre otros (Balestrini, 2005; CENAVECE, 2006).

En 1999, el VON es introducido al Continente Americano ocasionando una epidemia en la ciudad de Nueva York EU. En Estados Unidos en el 2003 se encontraban afectados 41 estados, en los cuales se registraron 3,862 casos en humanos y 248 defunciones (Goddard *et al.*, 2003; Balestrini, 2005 CENAVECE, 2006).

En México se ha detectado la presencia del VON en equinos en los estados del norte, principalmente en Tamaulipas y Coahuila (CENAVECE, 2006; Kunkel *et al.*, 2006).

## **2.5. Características de *Culex quinquefasciatus* (Say)**

*Cx. quinquefasciatus*, es el mosquito que se encuentra más frecuentemente en el ambiente humano, tanto urbano como rural. Además de las características propias del género, las hembras inmaduras presentan algunas características definidas. Los adultos presentan antropofilia bien marcada, de hábito nocturno y durante el día reposan en sitios con poca luminosidad (Goddard *et al.*, 2003).

### **2.5.1. Ciclo de vida**

#### **2.5.1.1. Huevo**

Los huevos son depositados en masa sobre la superficie del agua formando una especie de “balsa”, son de color blanco inmediatamente después de depositados, pero se tornan negros después de una a dos horas, son alargados, dispuestos uno al lado del otro y con una extremidad más dilatada

dirigida hacia abajo. Debido a esto se observa una concavidad en el extremo superior de las balsas que forman. Presentan una capa que se denomina excorio, que le da protección al huevo frente al medio ambiente. En la extremidad anterior se observa un orificio que corresponde al micrópilo. El periodo de desarrollo embrionario y consecuentemente la incubación de los huevos es de aproximadamente de uno a uno y medio días (McGavin, 2002; Darsie y Ward, 2005).

#### **2.5.1.2. Larva**

Esta fase es esencialmente acuática y dotada de gran movilidad, la alimentación es a base de microorganismos como bacterias, hongos, protozoarios y detritos orgánicos animales o vegetales (Ibañez, 1991).

El aspecto de las larvas es elongado y vermiforme; el cuerpo se divide en cabeza, tórax y abdomen. La superficie del cuerpo larval presenta numerosas y variadas cerdas, aisladas o en grupos y dispuestas simétricamente. La distribución de esas cerdas es importante para la clasificación taxonómica. En esta fase se presentan cuatro instares larvales y puede ser completada entre seis y diez días (USDHHS, 1993; Darsie y Ward, 2005).

#### **2.5.1.3. Pupa**

Este estadio presenta dos partes esenciales, el cefalotórax y el abdomen. La primera parte es de aspecto redondo y se conecta con el abdomen que posibilita la locomoción veloz en medios acuáticos, en este

estadio ocurren transformaciones profundas que llevan a la formación del adulto. Presenta estructuras denominadas trompas respiratorias por medio de las cuales realiza intercambio de gases. Tiene en la extremidad distal del abdomen las paletas natatorias las cuales le permiten la realización de movimientos. Esta fase se cumple en uno a tres días dependiendo de las condiciones climáticas (Borrór *et al.*, 1989; Darsie y Ward, 2005).

#### **2.5.1.4. Adulto**

Es un mosquito de tamaño relativamente grande de color café oscuro. Tiene el cuerpo elongado, patas largas que le dan estabilidad aerodinámica y alas largas que le permiten desarrollar movimientos aéreos. Presenta un aparato bucal de tipo picador chupador, conformado por una trompa o probóscide bien desarrollada, formada por el labroepifaringe, el labio, la hipofaringe, un par de mandíbulas anterolaterales y un par de maxilas posterolaterales. La vida promedio del adulto es de uno a dos meses en condiciones óptimas (WHO, 1986; Borrór *et al.*, 1989; OPS, 1995).

#### **2.5.2. Distribución geográfica**

Esta es una especie acentuadamente antropofílica (Balestrini, 2005), tiene una amplia distribución mundial, latitudinal y altitudinal, se encuentra entre el Trópico de Cáncer y el Trópico de Capricornio, su dispersión altitudinal es desde pocos metros de altura hasta los casi 3,000 msnm (Goddard *et al.*, 2003).

Abunda principalmente en América, África tropical, Medio y Lejano Oriente, Sur de Asia, Nueva Guinea, Australia, el Sur de Estados Unidos y Norte de México; aunque existen zonas de intergradación (Norteamérica, Norte de Japón, Suroriente de Australia, Medio Oriente, área central de Argentina), entre los 30° y los 33° de latitud sur y África, donde se han reportado híbridos (kunkel *et al.*, 2006).

### **2.5.3. Hábitat**

Es un mosquito peridoméstico cosmopolita y adaptado a desarrollarse en aguas con alto contenido de materia orgánica, en las zonas urbanas y suburbanas; los sitios de reproducción proliferan en lugares de poco drenaje y vegetación de plantas que emergen sobre el nivel del agua. Se encuentra presente en grandes cantidades cuando las condiciones climatológicas para su reproducción son favorables; su dispersión desde el sitio de cría del que emerge no excede de 500 m (Brewer *et al.*, 1987; Ibañez, 1991).

### **2.5.4. Hábitos alimenticios**

En estados inmaduros, la alimentación es por absorción de microorganismos como bacterias, hongos y protozoarios del agua. En la etapa adulta la alimentación en ambos sexos es a base de sustancias azucaradas como néctar o exudado de frutos. Sin embargo, las hembras adultas necesitan además ingerir sangre (hematofagia), la sangre ingerida es indispensable para



llevar a cabo la ovogénesis y es necesaria también para incrementar la viabilidad de los embriones (Borror *et al.*, 1989; Balestrini, 2005).

## **2.6. Control de mosquitos**

Para el control de mosquitos, se requiere de conocimientos profundos sobre los hábitos de cada una de las especies, así como conocer las características climáticas y topográficas del lugar a tratar (Olkowski *et al.*, 1992).

Los mosquitos pueden controlarse a través de dos tipos de estrategias: a) indirectas, al eliminar sitios de cría, b) directas, eliminando a larvas o adultos a través de control físico, biológico o químico (Olkowski *et al.*, 1992; USDHHS, 1993).

### **2.6.1. Estrategias indirectas**

Las estrategias indirectas se basan principalmente en la modificación del hábitat, por ejemplo drenar los lugares de cría (Borror *et al.*, 1989), promover el drenaje de los techos de las casas habitación y eliminar los depósitos de agua, charcas y la limpieza de desagües, evitando el desarrollo de altas poblaciones (Olkowski *et al.*, 1992; OPS, 1995). Otras formas de reducción de la fuente de cría incluyen el manejo de las fuentes de agua como marismas y canales de riego, permitiendo el desagüe o el acceso de peces a éstos (Collins y Paskewitz, 1995).

Un método útil para protegerse de la picadura de los mosquitos, es el uso de telas mosquiteras, en ventanas, puertas y casas de campaña. Además

existen velos y pabellones que evitan la picadura de los mosquitos al acampar (Olkowski *et al.*, 1992).

### **2.6.2. Estrategias directas**

Las estrategias directas están enfocadas a eliminar algún estado de desarrollo del mosquito, utilizando el control biológico y/o químico (Olkowski *et al.*, 1992; OPS, 1995).

#### **2.6.2.1. Control biológico**

El control biológico de mosquitos incluye el uso de depredadores como náyades de odonatos y otros depredadores invertebrados acuáticos como *Toxorhynchites* spp. En cuerpos de agua como lagos, estanques y lagunas, se han introducido algunas especies de peces que se alimentan de larvas de mosquitos tales como *Gambusia affinis*, *Girardinus metallicus*, *Brachidamio rerio*, algunas especies del género *Tilapia* y “guppies” como *Poecillia reticulata* (Olascoaga y Luna, 2005).

La bacteria *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*), ofrece una posibilidad para controlar las larvas de mosquitos de una manera altamente selectiva. Su toxina actúa como veneno estomacal y su acción es rápida (Balestrini, 2005).

Nematodos entomoparásitos como *Romanomermis culicivorax* y *R. iyengari* son altamente eficaces como larvicidas selectivos, pudiendo permanecer viables por varios años, debido a que una vez introducidos a un

hábitat acuático se reproducen en las larvas de mosquito hasta alcanzar un balance con su hospedero (Olascoaga y Luna, 2005).

Los aceites y extractos de vegetales como los de *Azadirachta indica* y *Ambrosia artemisiaefolia* han demostrado tener buenos resultados en el control de larvas de mosquitos como soluciones acuosas y extractos acetónicos (Pérez *et al.*, 2004).

En la actualidad se desarrolla un mosquito transgénico llamado “culex” que no contamina, no desarrolla resistencia y es inocuo al hombre y animales; el cual se le ha incorporado un Gen Letal Dominante (DLG, por sus siglas en inglés). El gen letal es incorporado al genoma del macho que una vez liberado se cruza con las hembras de campo. De esa cópula solo sobreviven otros individuos machos, lo que provoca la declinación de la población, se prevé que dentro de unos cinco años esté disponible en el mercado como una opción mas para el control de mosquitos (Wilke, 2008).

#### **2.6.2.2. Control químico**

Los insecticidas utilizados para el control de mosquitos se pueden dividir en larvicidas y adulticidas (Cuadro 1). La detección de grandes densidades de mosquitos inmaduros en áreas donde la reducción de fuentes de cría o el control biológico no es factible, puede requerir de aplicaciones de larvicidas para prevenir la emergencia de mosquitos adultos (Metcalf y Luckmann, 1994).

En el mercado existe una gran variedad de sustancias químicas utilizadas en el manejo de mosquitos. Entre éstas se encuentran repelentes,

aceites superficiales y los insecticidas. Los principales grupos de insecticidas utilizados en control de vectores son clorados, ciclodienos, organofosfatos, carbamatos y piretroides, también se utilizan en pequeña escala los insecticidas microbianos y los reguladores del crecimiento (USEPA, 2003).

Uno de los métodos más antiguos, pero efectivos, para matar larvas de mosquitos, es la aplicación de aceites y petróleo sobre la superficie de cuerpos de agua, tratando de formar una película que impida el intercambio gaseoso; sin embargo, esta táctica es ecológicamente incompatible (Olkowski *et al.*, 1992).

Uno de los adulticidas más empleado desde los años sesentas, es el malation, organofosfato que aún se sigue utilizando en las campañas de la Secretaria de Salud (USEPA, 2003).

**Cuadro 1. Productos recomendados para el control de mosquitos.**

| Producto        | Formulación | Fase de desarrollo | Aplicación               |
|-----------------|-------------|--------------------|--------------------------|
| Temefos         | G           | larva              | Exteriores               |
|                 | P.H         |                    |                          |
| Pirimifos métil | C.E         | adulto             | Interiores               |
| Ciflutrin       | P.H         | adulto             | Interiores               |
| Propoxur        | C.N         | adulto             | Interiores               |
| Deltametrina    | S.A         | adulto             | Interiores               |
| Cipermetrina    | C.E         | adulto             | Interiores               |
|                 | P.H         |                    |                          |
| Diclorvos       | C.E         | adulto             | Interiores               |
| Clorpirifos     | C.E         | adulto             | Interiores               |
| Piretro         | C.E         | adulto             | Interiores               |
| Permetrina      | C.N         | adulto             | Interiores               |
| Malation*       | C.E         | adulto             | Interiores<br>exteriores |

C.E. = Concentrado emulsionable P.H. = Polvo Humectable

C.N. = Concentrado Nebulizable G = Granulado

\* Se usa solamente en México

(USEPA, 2003).

## 2.7. Resistencia a insecticidas

Con el desarrollo de los insecticidas orgánicos sintéticos, se pensó que los insectos plaga estaban destinados a desaparecer; sin embargo, empezó a notarse que a pesar de las aplicaciones continuas contra algunas plagas, estas persistían e inclusive tendían a incrementarse. Al coleccionar ejemplares sobrevivientes, reproducirlos y someterlos a dosis de insecticidas supuestamente letales, se ha encontrado que muchos individuos no mueren y que pueden regenerar la población. A estos individuos se les considera resistentes al insecticida aplicado (Lagunes y Villanueva, 1995; Hemingway y Ranson, 2000).

La resistencia a insecticidas es una consecuencia de cambios genéticos que alteran procesos bioquímicos cuantitativa o cualitativamente. Dichos cambios ocurren a nivel individual, pero se hacen aparentes en toda una población de insectos cuando la proporción de individuos resistentes sea tal que se refleje en una falla en el control (Flores *et al.*, 2001; Badii y Garza, 2007).

La mayoría de las especies resistentes son del orden Diptera, en forma descendente se ubican los lepidópteros, coleópteros, ácaros, homópteros y hemípteros (Lagunes y Villanueva, 1995; Flores *et al.*, 2001).

La resistencia en mosquitos no solo se presenta hacia insecticidas convencionales, sino también a los insecticidas biológicos como el *Bacillus thuringiensis israelensis*, como ha ocurrido en *Cx. quinquefasciatus* (Ali *et al.*, 2003; Gill *et al.*, 1992). Las larvas de *Anopheles* son más resistentes a la toxina

de esta bacteria, que las larvas de *Culex* y *Aedes* (Ali *et al.*, 2003; Gordeyev y Burlak, 1995)

Los reportes de resistencia de los vectores y su distribución regional o nacional, se basan en un conjunto de datos simples en un solo punto del país o región y pueden tener años o décadas de antigüedad. No todas las investigaciones sobre problemas de resistencia y su manejo pueden resultar prácticas. Aunque se dispone de medidas de control alternativas al uso de insecticidas, los problemas de resistencia a medicamentos o la disponibilidad o costos de las vacunas, hacen que el control de vectores sea una opción importante (Flores *et al.*, 2001; Badii y Garza, 2007).

### **2.7.1. Tipos de resistencia a insecticidas**

Hay tres tipos de resistencia en insectos: por comportamiento, morfología y por fisiología (Brogdon, 2003).

#### **2.7.1.1. Resistencia por comportamiento**

La resistencia por comportamiento se muestra cuando los insectos no entran en contacto con el insecticida debido a un comportamiento de escape. Se refiere a los patrones de comportamiento que contribuyen a la resistencia; éstos pueden ser hábitos tales como la preferencia a descansar en áreas no tratadas con insecticidas en lugar de áreas tratadas, o bien la detección del insecticida y la tendencia a evitarlo antes de ponerse en contacto con él. La interrupción de la exposición al insecticida, se puede deber a una acción

irritante o bien a una acción repelente (Lagunes y Villanueva, 1995; Hemingway y Ranson, 2000; Badii y Garza, 2007).

### **2.7.1.2. Resistencia morfológica**

Este tipo de resistencia se presenta cuando alguna característica morfológica ocasiona la resistencia, por ejemplo, una menor área de exposición al tóxico. Debido a las características morfológicas de los insectos, éstos no son afectados por los insecticidas (principalmente por impermeabilidad en la cutícula) (Brogdon y Barber 1990; Lagunes y Villanueva, 1995; Brogdon, 2003).

### **2.7.1.3. Resistencia fisiológica**

Es el tipo de resistencia más importante; los insectos adquieren resistencia de dos formas. Por adición de un mecanismo de protección y por insensibilidad en el sitio de acción; para fines de manejo, los tipos de resistencia fisiológica se agrupan en mecanismos de resistencia metabólicos y no metabólicos. Son mecanismos metabólicos cuando involucran cambios enzimáticos y no metabólicos cuando se refiere a cambios en sensibilidad del sitio activo, en la tasa de penetración, almacenamiento o excreción, así como en el comportamiento o la forma de los insectos (Brogdon y Barber, 1990; Lagunes y Villanueva, 1995; Brogdon y McAllister 1998).

### 2.7.2. Mecanismos de resistencia a insecticidas

El conocimiento de cómo actúa un insecticida es útil para comprender los mecanismos de resistencia, aunque estos no siempre se encuentren relacionados. Los insecticidas pueden ser clasificados en varios grupos de acuerdo a su modo de acción y este puede ser relacionado a mecanismos de resistencia (Hemingway y Ranson, 2000; Badii y Garza, 2007) (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Mecanismos de resistencia a insecticidas**

| <b>Insecticidas</b>                                | <b>Modo de acción</b>  | <b>Mecanismo de resistencia</b>   |
|--|--|---|
| Organofosfatos<br>Carbamatos                       | Inhibición directa de el neurotransmisor, acetilcolinesterasa                                | Incremento en la detoxificación y/o acetilcolinesterasa insensible              |
| Ciclodienos y HCH                                  | Excesiva liberación de acetylcolinesterasa   | Receptor GABA de proteína insensitivo   |
| Piretroides, DDT y análogos                        | Interrupción de la transmisión axonal por acción del canal de sodio                          | canal de sodio insensitivo y/o incremento en la detoxificación                  |
| Fosfine, cyanide, rotenoides                       | Inhibición de respiración por acción en componentes mitocondriales de la cadena respiratoria | Cambios proteina (s) respiratorias, detoxificación metabólica, fosfina reducida |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> (BT)<br>γ-endotoxina | Alteración del flujo iónico en las células epiteliales                                       | Receptores alterados y/o disminución en número de receptores                    |

(Badii y Garza, 2007).

### 2.7.3. Detección y monitoreo de resistencia a insecticidas

La principal defensa contra la resistencia a insecticidas es la estrecha vigilancia de la susceptibilidad de poblaciones de vectores. Esto requiere la inversión en programas de vigilancia. Una vez obtenidos los datos de vigilancia,



resulta crucial que los resultados se interpreten prácticamente, con relación a la eficiencia del control. Posteriormente, se podrán implementar las estrategias de remediación (Hemingway y Ranson, 2000).

El primer paso en la identificación de un problema potencial de resistencia, es detectar los cambios en la susceptibilidad de una población de vectores a través de bioensayos, ensayos bioquímicos e inmunológicos y ensayos moleculares (Bisset *et al.*, 2000).

#### **2.7.3.1. Bioensayos**

La Organización Mundial de la Salud ha desarrollado bioensayos para medir la susceptibilidad de poblaciones de insectos (Oakeshott *et al.*, 1993). Con la información obtenida se puede calcular la dosis requerida para matar el 50% ó 90% de una población dada, esto permite detectar cambios en el porcentaje de mortalidad durante un periodo de tiempo, así como la presencia de resistencia en campo. Estas pruebas de susceptibilidad ayudan a entender los patrones hereditarios de resistencia a través de cruas y pruebas en la progenie; asimismo, proporciona una idea sobre los mecanismos que confieren resistencia (Brogdon, 2003).

En pruebas de laboratorio, se encontró que los bioensayos donde se utilizaron las lecturas de tiempo-mortalidad (TL), fueron más sensibles en la detección de cambios en susceptibilidad, dando una mejor correlación con los ensayos bioquímicos en microplacas para mecanismos de resistencia, que los

bioensayos que utilizan las lecturas dosis-mortalidad (DL) (Brogdon y Barber, 1990; Brogdon y McAllister, 1998).

Los bioensayos con lecturas TL para adultos de mosquitos, han sido modificados a través del uso de botellas de vidrio impregnadas con insecticida y soluciones de insecticidas grado- técnico y sinergistas. Este método simplifica el procedimiento del bioensayo e incrementa la cantidad de información que puede ser obtenida de una fuente limitada de mosquitos (Brogdon y McAllister, 1998).

#### **2.7.3.2. Ensayos bioquímicos**

Con estos ensayos, es posible detectar incrementos en enzimas asociadas con los mecanismos de resistencia tales como esterasas, monooxigenasas (OMFM) y glutatión-S-transferasas. Estos incluyen pruebas electroforéticas e inmunológicas. La ventaja de los ensayos bioquímicos es que permiten realizar pruebas múltiples en mosquitos individuales, para observar resistencia múltiple de forma rápida (Badii y Garza, 2007).

Se han desarrollado ensayos bioquímicos con la utilización de microplacas para las enzimas oxidasas, esterasas, glutatión-S-transferasas y los mecanismos de resistencia de acetilcolinesterasa insensible (Brogdon, 2003). Por otro lado aun no existe ningún ensayo bioquímico para detectar el mecanismo de resistencia en el sitio de acción (*kdr*) el cual afecta el uso de piretroides (Beerntsen *et al.*,2000; Brogdon, 2003).

### 2.7.3.3. Ensayos moleculares

Actualmente se encuentran disponibles técnicas moleculares para detectar genes que confieren resistencia (Beerntsen *et al.*, 2000). De esta forma se han detectado mecanismos de resistencia en el sitio de acción, por restricción de enzima por reacción en cadena de la polimerasa (PCR-REN, por sus siglas en inglés) y amplificación de alelos específicos por PCR (Brogdon y McAllister, 1998).

La información molecular sobre los mecanismos de resistencia, deberá incrementarse e incorporarse dentro de los procedimientos del diagnóstico de resistencia. Los mecanismos que pueden ser detectados de forma aparentemente sencilla, son los puntos de mutación que ocasionan resistencia en el sitio de acción o los cambios en enzimas de detoxificación específicas (Brogdon y McAllister, 1998).

### 2.7.4. Resistencia a insecticidas en *Culex quinquefasciatus* (Say).

La resistencia en *Cx. quinquefasciatus* solo se había presentado en insecticidas organofosfatos y carbamatos (Bisset *et al.*, 2000).

Actualmente se han reportado casos de resistencia a piretroides como cipermetrina y permetrina, esto debido a que los mosquitos de esta especie han incrementado la actividad de esterasas principalmente A6 y B6, además de B1 que se había reportado en 1986 como inhibidora de organofosfatos y carbamatos (Badii y Garza, 2007).

### 2.7.5. Manejo de resistencia

Para asegurar una larga vida de los insecticidas, es esencial protegerlos contra el desarrollo de resistencia. El manejo de resistencia, consiste en utilizar todos los métodos disponibles para prevenir o retardar el incremento en los niveles de resistencia. El manejo de resistencia puede evitar el desarrollo de la misma en poblaciones de vectores (WHO, 1992; Bisset *et al.*, 2000; Badii y Garza, 2007).

Tácticas para el manejo de resistencia en poblaciones de vectores pueden ser:

- ✓ Variación de la dosis o frecuencia de aplicación del plaguicida.
- ✓ Aplicaciones locales en vez de aplicaciones generales.
- ✓ Usar plaguicidas menos persistentes.
- ✓ Realizar alternancia, rotación o secuencia de plaguicidas.
- ✓ Usar las formulaciones apropiadas.
- ✓ Usar sinergistas.
- ✓ Evitar formulaciones de liberación lenta.
- ✓ Buscar nuevos plaguicidas con diferentes sitios de acción.
- ✓ Utilizar métodos de control no químicos.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación del trabajo.**

Los bioensayos se desarrollaron en el laboratorio del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna, ubicada en el ejido San Antonio de los Bravos, Municipio de Torreón Coahuila, a principios del verano de 2008.

#### **3.2. Colecta de material biológico.**

Se colectaron larvas a principios del verano de 2008; de tercer a cuarto instar en sus sitios típicos de cría. Por la gran cantidad de larvas y adultos requeridos para cada una de las pruebas, fue necesaria la localización de un sitio fijo con agua contaminada que además contara con grandes poblaciones. El sitio en el que se realizó la colecta se localiza en la colonia Fidel Velázquez del municipio de Torreón, Coah., con una ubicación de acuerdo al lector GPS: N 25° 33' 18" y W 103° 22' 25"; en este sitio se colectaron larvas y pupas.

En las colectas se emplearon cedazos con mango largo y cubetas, las cuales inmediatamente después de terminada la colecta, eran cubiertas con tela nylon para evitar que se escaparan los adultos que emergieran de las pupas colectadas.

Después de realizada cada una de las colectas, se procedió a llevar a cabo los bioensayos, separando las larvas de tercero y cuarto instar, para posteriormente colocarlas en los frascos que contenían el insecticida a una determinada dosis.

Una vez terminados los bioensayos con larvas, se dejaron pasar de 2 a 5 días para que emergieran los adultos del resto de las larvas colectadas y así poder llevar a cabo los bioensayos con las botellas impregnadas.

De los adultos emergidos de cada muestra se extrajeron sólo las hembras, las cuales se distinguen de los machos por carecer de setas en las antenas. Éstas se colocaron en pequeños frascos para posteriormente introducirlas en las botellas de cristal (Wheaton de 250 ml) impregnadas con las diferentes concentraciones de insecticida hasta completar un total de 40 hembras por botella.

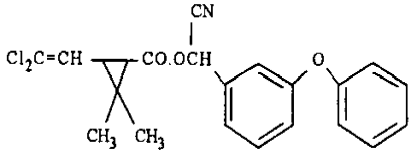
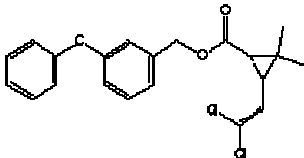
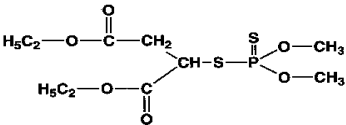
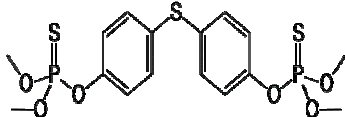
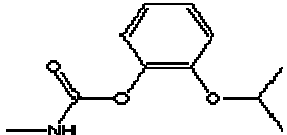
### **3.3. Identificación del material biológico**

La identificación de las especies presentes en cada una de las colectas, para larvas, se realizó con el apoyo de claves taxonómicas propuestas por Darsie y Ward (2005) y para los adultos con las que propone Stojanovich (1964), Bohart y Washino (1978), e Ibañez (1991), utilizando para la observación de los insectos un microscopio estereoscópico.

### **3.4. Insecticidas evaluados**

Los insecticidas evaluados en larvas fueron: cipermetrina, permetrina, malation, propoxur y temefos; en adultos permetrina y malation (cuadro 3).

**Cuadro 3. Productos utilizados en los bioensayos de *Cx. quinquefasciatus*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009.**

| PRODUCTO     | CLASIFICACIÓN | ESTRUCTURA QUÍMICA  |
|--------------|---------------|---|
| Cipermetrina | piretroide    |     |
| Permetrina   | piretroide    |     |
| Malation     | organofosfato |    |
| Temefos      | organofosfato |   |
| Propoxur     | carbamato     |  |

### 3.5. Bioensayos

#### Larvas

La metodología utilizada en la preparación de las concentraciones, así como la exposición de las larvas al tóxico fue similar para cada uno de los productos.

En la preparación de las concentraciones, se utilizó una dosis inicial alta. Posteriormente, de esa concentración se obtuvo la disolución para los bioensayos. Se probó solo una concentración de 100 µg/ de producto grado técnico por 100 ml de agua.

Para el método de exposición de las larvas al producto, se utilizó el método estandarizado de contaminación del medio recomendado por la Organización Mundial de la Salud con algunas modificaciones. Las larvas se sumergieron en el agua que contenía la concentración. Para esto, se colocaron grupos de 20 larvas de tercer instar tardío o cuarto instar temprano en depósitos de vidrio, con capacidad de 100 ml, en los que previamente se había agregado la concentración del insecticida. Cada producto contó con cuatro repeticiones (80 larvas en total), con su respectivo testigo (sin dosificación).

La mortalidad de las larvas se registró en periodos de un minuto para los insecticidas piretroides y cada cinco minutos para los organofosfatos y carbamatos, inmediatamente después de la exposición de las larvas al tóxico.

El criterio de mortalidad utilizado, consistió en considerar como larvas muertas, aquellas que al ser sumergidas hacia el fondo del agua con un agitador, no se movieran o no regresaran a la superficie del agua con sus movimientos espasmódicos característicos.



### **Adultos**

La metodología utilizada en la preparación de las concentraciones, así como la exposición de las hembras adultas de no más de dos días de emergidas fue similar para cada uno de los productos y dosis.

Se probaron cuatro concentraciones de cada uno de los productos 1, 10, 100 y 1000 µg. de producto grado-técnico por botella de 250 ml.

### **Impregnación de botellas**

Se utilizaron botellas de cristal marca Wheaton de 250 ml, el interior de la botellas se impregnó utilizando las soluciones de insecticidas al 1, 10, 100 y 1000 µg disueltos en acetona. A cada botella se le aplicó una alícuota de un mililitro de cada solución, se agitaron, giraron e invirtieron, de manera que toda la superficie interna resultara expuesta a la solución. Una vez que la fase líquida fue distribuida uniformemente, las botellas fueron colocadas en una campana de extracción de gases de manera horizontal para eliminar el exceso de acetona por evaporación. Inmediatamente después se colocaron las tapas y cada botella se envolvió en papel aluminio para que el producto no fuese degradado por la luz. Cada una fue etiquetada con la concentración del insecticida. Posteriormente se guardaron en un refrigerador a -4°C para conservarlas hasta su uso.

### **Exposición de los mosquitos.**

Los mosquitos fueron expuestos en las botellas impregnadas con las diferentes dosis (1, 10, 100, 1000  $\mu\text{g}/\text{botella}$ ) por un periodo de tiempo indefinido, tomando datos de tiempo- mortalidad cada minuto para piretroides y cada cinco para organofosfatos.

El criterio de mortalidad utilizado consistió en considerar como adulto muerto aquel que caía al fondo de la botella y no lograba incorporarse al vuelo al agitar la botella.

### **3.6. Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de los bioensayos fueron analizados por el método de análisis Probit, para lo cual se utilizó el programa XLstat (XLstat, 2008), ingresando intervalos de tiempo, número de organismos tratados y mortalidad de los mismos para cada una de las dosis.

Este procedimiento estima, mediante el método de máxima verosimilitud (procedimiento interactivo de regresión compensada), los parámetros de la recta (tiempo-mortalidad), con su límite fiducial inferior (LFI) y su límite fiducial superior (LFS) al 95 % y una prueba de  $\chi^2$  como estimador de la “bondad” del ajuste del modelo lineal.

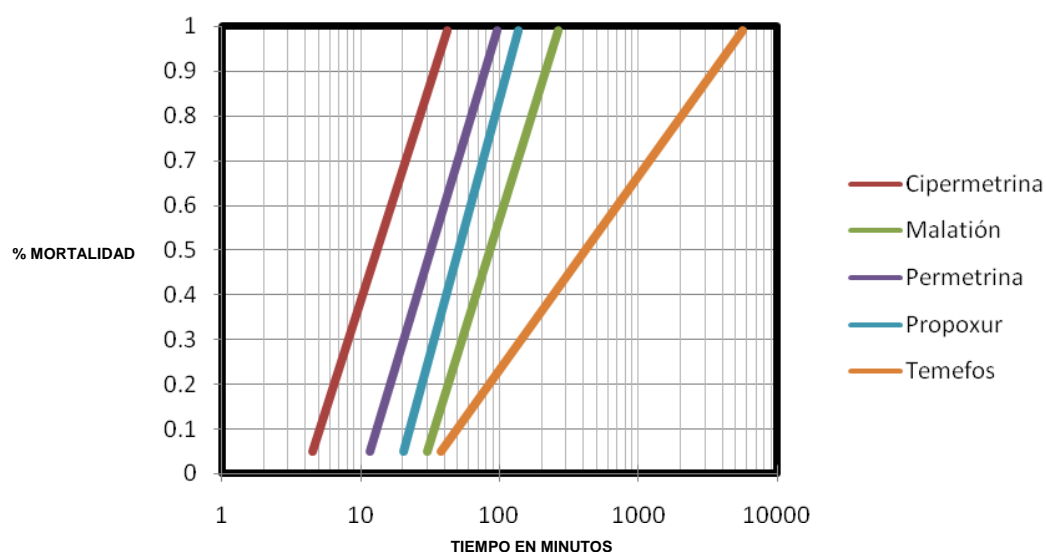
#### 4. RESULTADOS

##### Larvas

Los resultados obtenidos en los bioensayos con larvas, tratadas a una concentración de 100 µg/100 ml de agua con los productos cipermetrina, permetrina, malation, temefos y propoxur, se presentan en el Cuadro 4. Las líneas de respuesta se muestran en la Figura 1.

**Cuadro 4. Tiempos Letales de larvas tratadas con insecticidas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009.**

| <b>Producto</b> | <b>TL<sub>5</sub></b> | <b>TL<sub>50</sub></b> | <b>TL<sub>95</sub></b> | <b>TL<sub>99</sub></b> |
|-----------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Cipermetrina    | 4.502 min.            | 13.916 min.            | 30.589 min.            | 42.144 min.            |
| Permetrina      | 11.564 min.           | 29.960 min.            | 68.232 min.            | 95.696 min.            |
| Malation        | 30.172 min.           | 78.257 min.            | 185.595 min.           | 264.874 min.           |
| Temefos         | 37.509 min.           | 313.740 min.           | 2431.871 min.          | 5669.366 min.          |
| Propoxur        | 20.471 min.           | 45.042 min.            | 99.107 min.            | 137.405 min.           |



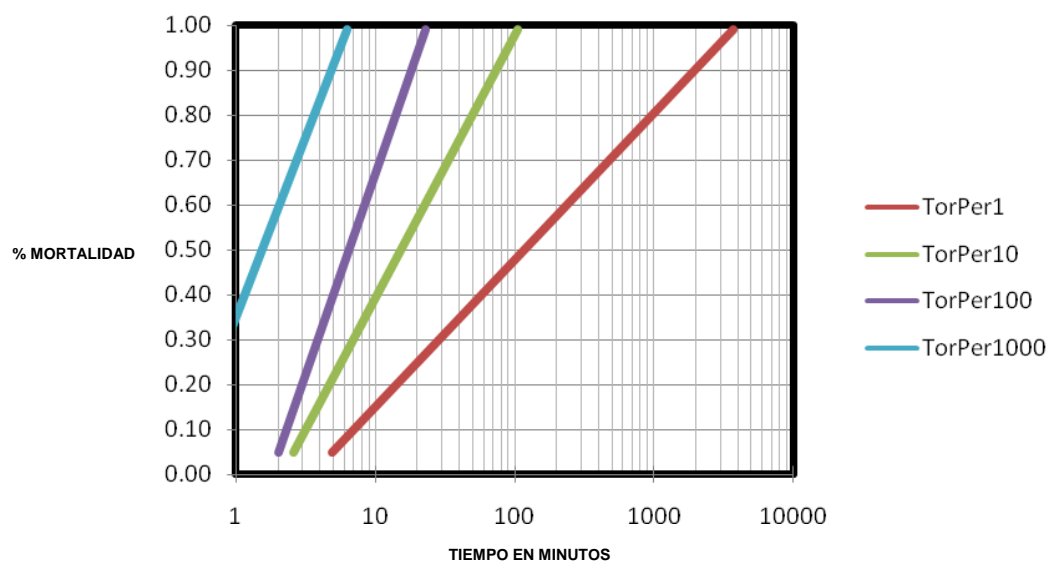
**Figura 1. Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de larvas tratadas con insecticidas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009.**

### Adultos

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos, tratados a concentraciones de 1, 10, 100, 1000  $\mu\text{g}$ /botella con el producto permetrina, se presentan en el Cuadro 5. Las líneas de respuesta se muestran en la Figura 2.

**Cuadro 5. Tiempos Letales de adultos tratados con permetrina. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009.**

| Concentración      | TL <sub>5</sub> | TL <sub>50</sub> | TL <sub>95</sub> | TL <sub>99</sub> |
|--------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 1 $\mu\text{g}$    | 4.958 min.      | 76.861 min.      | 1191.634 min.    | 3709.920 min.    |
| 10 $\mu\text{g}$   | 2.573 min.      | 11.950 min.      | 55.490 min.      | 104.837 min.     |
| 100 $\mu\text{g}$  | 2.025 min.      | 6.642 min.       | 16.051 min.      | 23.028 min.      |
| 1000 $\mu\text{g}$ | 0.426 min.      | 1.532 min        | 4.171 min.       | 6.287 min.       |

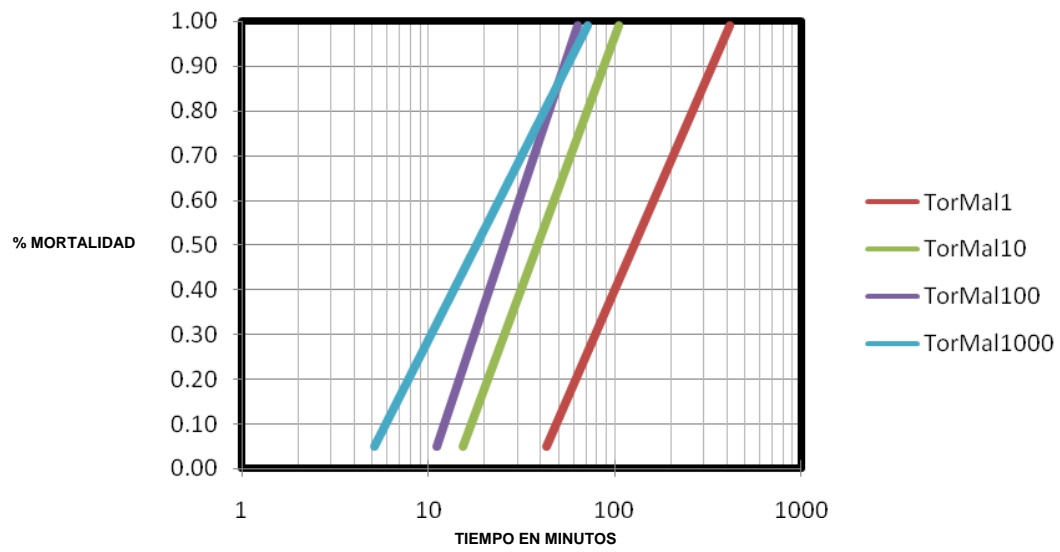


**Figura 2.** Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con permetrina. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009.

Los resultados obtenidos en los bioensayos con adultos, tratados a concentraciones de 1, 10, 100, 1000 µg/botella con el producto malation, se presentan en el Cuadro 6. Las líneas de respuesta se muestran en la Figura 3.

**Cuadro 6.** Tiempos Letales de adultos tratados con malation. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009.

| Concentración | TL <sub>5</sub> | TL <sub>50</sub> | TL <sub>95</sub> | TL <sub>99</sub> |
|---------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 1 µg          | 43.313 min.     | 110.192 min.     | 280.338 min.     | 412.762 min.     |
| 10 µg         | 15.319 min.     | 34.236 min.      | 75.559 min.      | 104.853 min.     |
| 100 µg        | 11.090 min.     | 23.594 min.      | 47.371 min.      | 63.141 min.      |
| 1000 µg       | 5.112 min       | 15.273 min.      | 45.632 min.      | 71.815 min.      |



**Figura 3.** Líneas de respuesta tiempo-mortalidad de adultos tratados con malation. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2009.

## 5. DISCUSIÓN

Se comprobó la hipótesis planteada, con lo cual se da cumplimiento a los objetivos al encontrar diferencia en los datos generados por la población de *Cx. quinquefasciatus* (Say) en Torreón, Coahuila, según el insecticida utilizado.

Los  $TL_{95}$  en los bioensayos con larvas (Cuadro 4, Figura 1) muestran que cipermetrina, permetrina, malation y propoxur, varían enormemente con relación a temefos, el cual es el larvicida utilizado por la Secretaría de Salud en las campañas de control de mosquitos. Esto indica que temefos es potencialmente más resistente que el resto de los larvicidas al tener un  $TL_{95}$  mayor.

Los  $TL_{95}$  obtenidos en los bioensayos con adultos, tratados con permetrina (Cuadro 5, Figura 2) indican que las dosis de 10 y 100  $\mu\text{g}/\text{botella}$ , son estadísticamente iguales, ya que sus límites fiduciales se traslapan. Lo cual significa que dependiendo del objetivo en cuanto a TL, la dosis de 10  $\mu\text{g}/\text{botella}$  puede ser utilizada con resultados similares a los de 100  $\mu\text{g}/\text{botella}$ .

Los  $TL_{95}$  obtenidos en los bioensayos con adultos, malation (Cuadro 6, Figura 3) las dosis de 10, 100 y 1000 son estadísticamente iguales, ya que sus límites fiduciales se traslapan. Esto significa que dependiendo del objetivo en cuanto a TL, la dosis de 10  $\mu\text{g}/\text{botella}$  puede ser utilizada con resultados similares a las de 100 y 1000  $\mu\text{g}/\text{botella}$ .

Por el modo de acción de los adulticidas y los  $TL_{95}$  obtenidos, se puede sugerir utilizar primero el malation y posteriormente, de ser necesario permetrina.

## 6. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las cuales se realizó el presente trabajo y de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

1°.- Se determinaron las líneas de respuesta tiempo-mortalidad en larvas de *Culex quinquefasciatus* (Say) provenientes del Municipio de Torreón Coahuila, a los productos: cipermetrina, permetrina, malation, temefos y propoxur.

2°.- Se determinaron las líneas de respuesta tiempo-mortalidad en adultos de *Cx. quinquefasciatus* (Say) provenientes del municipio de Torreón Coahuila, a los productos: permetrina y malation.

3°.- El TL del larvicida temefos, fue mayor que el de cipermetrina, permetrina, malation y propoxur.

4°.- Los TL del adulticida malation (organofosfato), son menores que los del insecticida permetrina (piretroide), por lo que la primera opción en el control de adultos deberá ser malation.



## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha, N.P. y B. Szyfres. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Publicación Científica. Organización Panamericana de la Salud. 503:87-96.
- Ali, M., M. Wagatsuma, Y., and R. Breiman, F. 2003. Use of a geographic information system for defining spatial risk for dengue transmission in Bangladesh: role for *Aedes albopictus* in an urban outbreak. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 69(6):634– 640.
- Badii, M. H. y V. Garza, A. 2007. Resistencia en insectos, plantas y microorganismos. *CULCyT. UANL* 18:2-17.
- Balestrini, N. 2005. Control de Enfermedades Transmisibles por Mosquitos. *Entomología Médica. Rosenbusch. Argentina.* pp 41-63.
- Beerntsen, B. T., A. James, A. A., and B. M. Christensen. 2000. Genetics of mosquito vector competence. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(1):115-37.
- Bisset, J.A., M. Rodriguez, M., C. Díaz y L.A. Soca. 2000. Evolución de la resistencia a insecticidas en *Culex quinquefasciatus* (Díptera: Culicidae). *Inst. de Med. Trop.* 52(3):180-185.
- Bohart, R.M. and R.K. Washino. 1978. Mosquitoes of California. 3rd. Edition. University of California. U.S.A. pp. 9-11.
- Borror, D.J., Triplehorn, Ch.A., and N.F. Johnson. 1989. An introduction to the study of insects. 6th. Edition. Saunders. U.S.A. pp. 541-545.
- Brewer, M., L. Bufo y W. Almirón. 1987. *Culex pipiens quinquefasciatus* y *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) en Córdoba, Argentina. *Rev. Per. Entomol.* 29:69-72.
- Brogdon, W.G. and A.M Barber. 1990. Microplate assay of glutathione S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96:339-342.
- Brogdon W.G., and J.C. McAllister. 1998. Insecticide resistance and vector control. *Emerging Infectious Diseases* 4(4):605-613.

- Brogdon, W.G. 2003. Managing the emergence of pesticide resistance in vectors [en línea]. In: The Resistance phenomenon in microbes and infectious disease vectors. Stacey, L., M.L. Stanley, N. Marjan, and T. Burroughs, Editors. National Academy of Sciences <http://www.nap.edu>. [consulta 5 de diciembre de 2008].
- Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE) 2006. Virus del Oeste del Nilo. [en línea]. <http://www.cenave.gob.mx/von/default.asp?id=212> [consulta 20 de diciembre de 2008].
- Collins, F.H., and M.S. Paskewitz. 1995. Malaria: Current and future prospect for control. *Ann. Rev. Ent.*40:195-219.
- Cueto, M. 2007. Cold war, deadly fevers: malaria eradication in Mexico. Washington, D.C.: Woodrow Wilson Center Press; Baltimore: Johns Hopkins University Press. 2:89-93
- Darsie Jr., R.F., and R.A., Ward. 2005. Identification and Geographical Distribution of the Mosquitoes of North America, North of Mexico. University press of Florida. pp. 178-190.
- Flores, A.E., M.H Badii y G. Ponce G. 2001. Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. *RESPYN. Rev. Salud y Nutrición.* 4(2):37-51.
- Gibbons, R.V., and D.W. Vaughn. 2002. Dengue: an escalating problem. *BMJ* 24:1563-1566.
- Gill, S.S., A. Cowles, E., and P. Pietrantonio, V. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Ann. Rev. Ent.* 37:615-636.
- Gobierno del Estado de Coahuila (GEC). 2004. Municipio de Torreón [en línea] [www.coahuila.gob.mx](http://www.coahuila.gob.mx). [consulta 15 de enero de 2009].
- Goddard, L.B., A.E. Roth, W.K. Reisen, and T.W. Scott. 2003. Vertical Transmission of West Nile Virus By Three California *Culex* (Diptera: Culicidae) Species *J. Med. Entomol.* 40(6):743-746.
- Gordeyev, M.I., and V. Burlak, A. 1995. Population structure and the resistance of larvae of *Anopheles messeae* (Diptera: Culicidae) to the crystal-forming bacterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis*. *Entomological Review* 74(5):94-100.

- Gubler, D.J. 1998. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Microbiology Reviews* 11(3):480-496.
- Guha-Sapir, D., and B. Schimmer. 2005. Dengue fever: new paradigms for a changing epidemiology [en línea] *Emerging Themes in Epidemiology*. [http://www. Ete-online.com/conten/2/1/1](http://www.Ete-online.com/conten/2/1/1). [fecha de consulta 15 de enero de 2009].
- Hemingway, J., and H. Ranson. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annu. Rev. Entomol.* 45:371-391.
- Huang, Y.H., H.Y. Lei, H.S. Liu, Y.S. Lin, C.C. Liu, and T.M. Yeh. 2000. Dengue virus infects human endothelial cells and induces IL-6 and IL-8 production. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 63:71-75.
- Ibañez, B., S. 1991. Principios de morfología y taxonomía de Culicidae. UNAM. Fac. de M.V.Z. División de Educación Continua. México D.F. pp. 62-74.
- King, C.A., J.S. Marshall, H. Alshurafa, and R.T. Anderson. 2000. Release of vasoactivecytokines by antibody-enhanced dengue virus infection of a human mast cell/basophil line. *J. Virol.* 74:7146-7150.
- Kunkel, KE., Novak, RJ., Lampman, RL., Gu, W. 2006. Modeling the impact of variable climatic factors on the crossover of *Culex restuans* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), vectors of West Nile virus in Illinois. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 74:168–173.
- Lagunes, T.A. y J.A Villanueva J. 1995. Toxicología y manejo de insecticidas. Centro de entomología y acarología. Colegio de postgraduados. Montecillo, México. pp. 151-161.
- Ling, J.H., J.J. Wang, M.F. Shaio, C.L. Kao, D.M. Chang, S.W. Han, and J.H. Lai. 2001. Infection of human dendritic cells by dengue virus causes cell maturation and cytokine production. *J. Immunol.* 166:1499-1506.
- Ludlam, K.W., L.A Jachowski., G.F Otto. 1970. Potential vectors of *Dirofilaria immitis*. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 157:1354-1359.
- McGavin, G. 2002. *Essential Entomology. An order-by-order.* Oxford University Press. p. 697.
- Metcalf, R.L., and W.H. Luckmann. 1994. *Introduction to insects pest management.* 3th edition. John Wiley & Sons. U.S.A. p. 650

- Oakeshott, J.G., E.A. Van Pappenrecht, T.M. Boyce, M.J. Healy and R. J. Russell. 1993. Evolutionary genetics of *Drosophila* esterases. *Genética* 90:239-268.
- Olascoaga, T.J. y J. Luna F. 2005. Aprovechamiento de alimento vivo de *Culex quinquefasciatus* en la dieta del pez *Brachidanio rerio* (pisces: Cyprinidae)., *Rev. Acuatic.* 22:20-25.
- Olkowski, W., Daar, S. and Olkowski. 1992. Common-sense pest control. The Taunton Press. California U.S.A. pp. 663-679.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2002. Ecología de los vectores y lucha antivectorial. Serie de informes técnicos 561:47-51.
- Organización panamericana de la salud (OPS). 1995. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: su prevención y control. Washington: OPS, publicación Científica 548:157-167.
- Pérez, P. R., C. Rodriguez, H., J. Lara R., R. Montes, B. y G. Ramírez, V. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Acta Zoologica Mexicana* 20:141-152.
- Ruiz, M., C. Tedesco, T., J. McTighe, C. Austin and U. Kitron. 2004. Environmental and social determinants of human risk during a West Nile virus outbreak in the greater Chicago area. *International Journal of Health Geographics* 3:8.
- Salazar, M. J. y L. Moncada. 2004. Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas. *Fac. de med. Universidad de Colombia, D. C. Biomédica.* Bogotá Colombia. pp. 385-392.
- Secretaria de Salud (SS). 2002. Dengue [en línea]. <http://www.salud.gob.mx/dengue> [fecha de consulta 21 de enero de 2009].
- Sitio Oficial del Ayuntamiento de Torreón, Coahuila México (SOATCM). 2004. La ciudad de Torreón [En línea]. [www.torreón.gob.mx](http://www.torreón.gob.mx). [consulta 15 de enero de 2009].
- Stojanovich, Ch.J. 1964. Pictorial key to adult female mosquitoes of Texas. U.S.A. Department of Health, Education, and Welfare. Public Health Service.

- Travi, B., J. Montoya. 1994. Manual de entomología médica para investigadores de América Latina. Cideim. pp. 90-142.
- U.S. Department of Health & Human Services (USDHHS). 1993. Mosquitoes of public health importance and their control. Atlanta, Georgia, USA. P. 85
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 2003. Mosquitoes: How to Control Them. [en línea]. <http://epa.gov/pesticides/citizens/mosquito.htm>. [consulta 15 de enero de 2009].
- White, N.J. 1999. Variation in virulence of dengue virus. Lancet 354:1401.
- Wilke, A. 2008. Mosquito transgenico "culex". Fac. De salud pública. Univ. Sao Paulo. Brasil. [en línea]. <http://www.educared.net/mosquito/prin.pdf> [consulta 21 de enero de 2009].
- World Health Organization (WHO). 1974. Expert committee of filariasis. World Health Org. Tech. Rep. Ser. p. 542.
- World Health Organization (WHO). 1986. *Aedes aegypti*: Biology and control. Geneva. World Health organization 72:273-280
- World Health Organization (WHO). 1992. Dengue and dengue haemorrhagic fever. Fact sheet No. 117. World Health Organization. Geneva. 117:222
- XLstat. 2008. XLstat. Software for Ms Excel [en línea]. <http://www.xlstat.com/>. [fecha de uso 19 de diciembre de 2008].