



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

## **“SUSCEPTIBILIDAD DIFERENCIAL DE ESTADOS BIOLÓGICOS E INSTARES LARVALES DE *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE) A SPINOSAD”**

SANTOS DÍAZ MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2016

La presente tesis titulada: "SUSCEPTIBILIDAD DIFERENCIAL DE ESTADOS BIOLÓGICOS E INSTARES LARVALES DE *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762) (DIPTERA: CULICIDAE) A SPINOSAD" realizada por el alumno: Santos Díaz Martínez bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
FITOSANIDAD  
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR


CONSEJERO

  
DR. J. CONCEPCIÓN RODRÍGUEZ MACIEL

ASESOR

  
DR. ANGEL LAGUNES TEJEDA

ASESOR

  
DR. GONZALO SILVA AGUAYO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2016.

# Susceptibilidad diferencial de estados biológicos e instares larvales de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) a Spinosad

Santos Díaz Martínez, MC  
Colegio de Postgraduados, 2016

## RESUMEN

*Aedes aegypti* L. es probablemente uno de los insectos más peligrosos que existe para el ser humano debido a la cantidad y severidad de enfermedades que transmite. El uso armonioso e integrado de medidas de control es imprescindible para manejar esta especie. Dentro de estas medidas se encuentra el combate químico, mismo que involucra un conocimiento integral de la interacción insecticida-insecto para incrementar su eficacia. Como parte del conocimiento de esta interacción, el presente estudio tuvo como objetivo estimar la toxicidad de Spinosad en los estados biológicos e instares larvales de *A. aegypti* utilizando la cepa susceptible New Orleans, la que se reprodujo en condiciones controladas de  $26 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  H: R y fotoperiodo de 12:12 h. Previo a los bioensayos, se estimó la ventana de actividad biológica del Spinosad con la finalidad de determinar el rango de concentraciones donde se encontraba el cero y el 100% de la respuesta. Posteriormente se introdujeron concentraciones intermedias que cubrieran de manera equidistante dicho rango. Las variables respuesta se registraron a las 24 h de exposición. Los datos se analizaron mediante el procedimiento Proc-Probit de SAS y para el estudio de huevos se realizó una regresión lineal con el software R. Los resultados de  $CL_{50}$  para huevo fue de  $28.9 \text{ mg L}^{-1}$  y los datos modelaron una línea recta ( $R^2$ ; 0.9747), donde la inhibición de la eclosión de huevos fue dependiente de la concentración de spinosad. En los instares larvales las  $CL_{50}$  fueron: instar 1=  $0.009 \text{ mg L}^{-1}$ , instar 2=  $0.017 \text{ mg L}^{-1}$ , instar 3=  $0.08 \text{ mg L}^{-1}$  e instar 4 =  $0.12 \text{ mg L}^{-1}$  y en el mismo orden los valores de

CL<sub>95</sub> fueron; 0.064, 0.14, 0.28 y 0.62 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A nivel de CL<sub>50</sub> y CL<sub>95</sub> no hubo diferencia significativa instar tres y cuatro. En las pupas se obtuvo una CL<sub>50</sub> de 30.4 y CL<sub>95</sub> 475.1 mg L<sup>-1</sup>. La CL<sub>50</sub> y CL<sub>95</sub> de adultos hembras fueron de 0.005 y 0.04 mg.cm<sup>-2</sup>, respectivamente. Se concluye que Spinosad es tóxico para todos los estados biológicos de *A. aegypti*.

**Palabras clave:** Espinosinas, Dengue, Zika, CL<sub>50</sub> y CL<sub>95</sub>.

**Differential susceptibility of biological stages and larval instars of *Aedes aegypti* (Linnaeus 1762) (Diptera: Culicidae) to Spinosad**

Santos Díaz Martínez, MC  
Colegio de Postgraduados, 2016

**ABSTRACT**

*Aedes aegypti* L. is probably one of the most dangerous insects exists for humans due to the number and severity of diseases transmitted. Harmonious and integrated use of control measures is essential to manage this species. Among these measures is the chemical combat, same involving a comprehensive knowledge of the insecticide-insect interaction to increase their effectiveness. As part of the understanding of this interaction, this study aimed to estimate the toxicity of Spinosad in biological states and larval instars of *A. aegypti* using the susceptible strain New Orleans, which was reproduced under controlled conditions  $26 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  H: R and 12:12 h photoperiod. Prior to bioassay, the window biological activity of Spinosad in order to determine the range of concentrations where zero and 100% of the response was estimated. Later that covered intermediate concentrations that range equidistantly were introduced. The response variables were recorded at 24 h of exposure. The data were analyzed using SAS Proc Probit procedure and for the study of eggs with a linear regression was performed R. software  $CL_{50}$  results were for egg was 28.9 mg L<sup>-1</sup> and the data modeled a straight line ( $R^2$ ; 0.9747), where inhibition of egg hatching was dependent on the concentration of spinosad. In the larval instars the  $CL_{50}$  were: call 1 = 0.009 mg L<sup>-1</sup>, call 2 = 0.017 mg L<sup>-1</sup>, instar 3 = 0.08 mg L<sup>-1</sup> and call 4 = 0.12 mg L<sup>-1</sup> and in the same order values  $LC_{95}$  were; 0.064, 0.14, 0.28 and 0.62 mg L<sup>-1</sup>, respectively. A  $CL_{50}$  and  $CL_{95}$  level was no significant difference instar three and four. In the pupae an  $LC_{50}$  and  $LC_{95}$  30.4 475.1 mg L<sup>-1</sup> was obtained.  $LC_{95}$  and

LC<sub>50</sub> adult females were 0.005 and 0.04 mg.cm<sup>-2</sup>, respectively. It is concluded that Spinosad is toxic to all biological stages of *A. aegypti*.

**Keywords:** Biological activity window, Torre Potter, CL<sub>50</sub> and CL<sub>95</sub>.

## DEDICATORIA

### **A mis padres**

Para quienes amo: **Zilvana Martínez Martínez** y **Santos Díaz Marcelino** por ser los mejores padres, tan buenos siempre conmigo, por brindarme siempre su amor, comprensión y apoyo, a ustedes por su gran esfuerzo hacia mí en los buenos y malos momentos les dedico este trabajo.

### **A mis hermanos y hermanas**

Por ser fuente de inspiración en este trabajo, por sus buenos consejos y ejemplo. Los quiero mucho y en mi corazón presente están, deseo que Dios me los proteja por siempre.

### **A mis sobrinos**

Que de alguna manera han influido en este logro, al inspirarme a seguir adelante.

### **A mi cuñado**

Basilio Hernández por la disposición y apoyo que me ha brindado.

### **A mis amigos**

Jesús Gonzaga Segura y Elizabeth Martínez Trejo por brindarme su amistad en las buenas y en las malas, por consejos sabios y oportunos.

**A la M.C. María Andrea Cabral Enciso**, por depositar siempre la confianza en mí y por apoyarme mediante sus buenos consejos y atenciones, porque siempre tuvo la sutileza de escucharme y guiarme no solo en el plano profesional si no en lo personal. Gracias por ser como es maestra y le estaré siempre agradecido a Dios por darme la oportunidad de conocerla.

**A la Dra. Tania Arellano Lezama** que llegó en el momento oportuno para darme animos y hacerme verla desde una perspectiva diferente, por hacer de mis días más amenas. Gracias Tania.

## AGRADECIMIENTOS

Estoy agradecido infinitamente a **Dios** por brindarme la capacidad, sabiduría y las fuerzas necesarias para realizar este trabajo, por guiarme en todo momento y bendecirme al poner en mi camino personas que fueron motivación para este nuevo logro de vida, por ello a él ofrendo mi vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) por haberme facilitado la beca ya que sin ella no hubiese podido culminar mis estudios.

Al Colegio de Postgraduados (**COLPOS**) por haberme aceptado y con ello darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

**Al Dr. J. Concepción Rodríguez Maciel**, por la paciencia, apoyo, por brindarme la confianza y por dedicarme tiempo en todo momento para guiarme y aconsejarme en la realización de este trabajo bajo su asesoría. Muchas gracias Dr. por ser una excelente y ejemplar persona.

**Al Dr. Ángel Lagunes Tejeda**, por brindarme su apoyo mediante la dirección de este trabajo y por formar parte mi consejo particular.

**Al Dr. Gonzalo Silva Aguayo**, Gracias por la confianza y apoyo a este trabajo y por formar parte de mi consejo particular.



**Al Dr. J. Isabel López Arroyo** por motivarme y encaminarme a seguir estudiando, gracias por su apoyo y consejo acertados, mil gracias por ser una persona ejemplar.

**A los amig@s de laboratorio** que siempre estuvieron atentos en apoyar los trabajos, por su amistad y confianza; **Don Guillermo, Don Edmundo y Adrián, Maribel y Carmen**, gracias.

Al amigo **Manuel Alejandro Tejeda Reyes** por sus asesorías en los trabajos que requirió este estudio.

A mi amigo **Alejandro Ramírez** que puso su grano de arena a este trabajo, gracias por ser un buen amigo desde la universidad.

*Vivir no es sólo existir,  
sino existir y crear, saber  
gozar y sufrir y no dormir  
sin soñar Descansar, es  
empezar a morir.*

*Gregorio Marañón*

## CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTOS.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
1.1 OBJETIVO GENERAL.....	4
1.2 OBJETIVO PARTICULAR.....	4
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1 DISTRIBUCIÓN DE <i>Aedes aegypti</i> Y LA ENFERMEDAD DEL DENGUE EN EL MUNDO.....	5
3.2 DISTRIBUCIÓN DE <i>Aedes aegypti</i> Y LA ENFERMEDAD DEL DENGUE EN MÉXICO.....	6
3.3 IMPORTANCIA DE <i>Aedes aegypti</i> .....	7
3.3.1 Dengue Clásico.....	7
3.3.2 Dengue Hemorrágico.....	8
3.3.3 Chikungunya.....	9
3.3.4 Zika.....	10
3.4 MÉTODO DE CONTROL DE <i>Aedes aegypti</i> .....	11
3.4.1 Patio limpio y cuidado del agua almacenada.....	11
3.4.2 Control biológico.....	12
3.4.3 Control químico.....	13
3.4.4 Spinosad.....	13
3.4.4.1 Propiedades de spinosad.....	14

3.4.4.2 Modo de acción .....	15
3.4.4.3 Uso de spinosad en México.....	16
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
4.1 LUGAR DEL ESTUDIO .....	17
4.2 MATERIAL BIOLÓGICO.....	17
4.3 INSECTICIDA.....	17
4.4 BIOENSAYOS .....	17
4.4.1 Evaluación en huevos.....	17
4.4.2 Evaluación en instares larvales .....	18
4.4.3 Evaluación en pupas .....	19
4.4.4 Evaluación en hembras .....	19
4.4.5 Análisis estadístico .....	20
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>21</b>
<b>6. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>26</b>
<b>7. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>27</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Toxicidad de Spinosad en diferentes estados biológicos e instares larvales de la cepa New Orleans de <i>Aedes aegypti</i> L.	.....25
----------	--	---------

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura química de Spinosad (PARASITIPEDIA.net)	.....15
Figura 2.	Relación entre concentraciones de Spinosad y el porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de <i>Aedes aegypti</i> L.	.....24

## 1. INTRODUCCIÓN

El mosquito *Aedes aegypti* L (Diptera: Culicidae), es probablemente el insecto más dañino que existe para el ser humano debido a la cantidad, frecuencia y severidad de las enfermedades que transmite. Este insecto puede transmitir el dengue clásico, dengue hemorrágico (Fajardo-Dolci *et al.*, 2012; Rivera 2014), la fiebre amarilla (Salvatella 1996), chikungunya (Rivera 2014; Rivera-Ávila 2014) y zika (Rivera 2014; CONAVE 2015a; OPS/OMS 2015a). Aunque no existen datos concluyentes de que el virus del zika esté asociado a malformaciones congénitas como microcefalia (CONAVE 2015; OPS/OMS 2015a y Centro de Coordinación de Alertas y Emergencia Sanitarias 2016), se ha observado una correlación positiva entre los casos de mujeres embarazadas que contrajeron este virus y la presencia de dicha enfermedad (OPS/OMS 2015a y Centro de Coordinación de Alertas y Emergencia Sanitarias 2016). Anualmente se tienen en promedio 50 millones de casos de dengue, de los cuales, 400,000 son de dengue hemorrágico (Acosta-Bas 2005; DGE 2014). El dengue clásico y dengue hemorrágico se distribuyen en 112 países tropicales y subtropicales, con 50 millones de incidencias de las cuales 400 mil son casos graves, ocasionando 25 mil muertes anuales (DGE 2014).

*A. aegypti* se distribuye en todas las zonas urbanas de México (CENAPRECE 2015), con excepción de los estados de la Ciudad de México, Tlaxcala, Chihuahua y Baja California (PROY-NOM-032-SSA2-2014 2014). Los efectos del cambio climático han ampliado la zona de distribución de esta plaga y es posible que en el futuro afecte nuevas regiones. En México, el 47% de dengue hemorrágico prevalece en los estados de Veracruz, Jalisco, Guerrero y Yucatán, con 3,695 casos de dengue hemorrágico y 14,888 de dengue clásico que en conjunto suman 22 fallecimientos (SS 2015). El 53% de esta enfermedad se distribuye en los estados restantes. El virus del chikungunya

se distribuye en 60 países de Asia, África, Europa y en las Américas (OMS 2015) y se detectó por primera vez en México en Mayo del 2014 (Rivera-Ávila, 2014). En México, durante 2015 se confirmaron 9,000 casos de chikungunya, con mayor incidencia en los estados de Guerrero, Michoacán, Oaxaca y Veracruz (SS 2015).

Para disminuir la incidencia del vector, se ha implementado el programa “patio limpio” con la finalidad de eliminar el hábitat donde se desarrollan las larvas (SS 2001, PAE 2013-2018, PROY-NOM-032-SSA2-2014). Entre 2009 y 2010, la empresa Oxitec liberó a gran escala insectos transgénicos en Las Islas Caimán y Brasil para mitigar la tasa de transmisión de dichas enfermedades al ser humano (Rall 2014). Sin embargo, estas medidas aunque importantes, no son suficientes para controlar las poblaciones de *A. aegypti* y deben complementarse con el uso de insecticidas para el combate de larvas y adultos (Padilla *et al.*, 2004; Bisset-Lazcano *et al.*, 2009).

El desarrollo de resistencia a insecticidas es la principal limitante del uso de esta herramienta (Bisset *et al.*, 2004). WHO (1995), recomienda la implementación de estrategias que permitan incrementar la vida útil de estas sustancias químicas. El spinosad, es un insecticida que se introdujo en 1997 a México para el combate de larvas (Pineda *et al.*, 2007). Se trata de un bioinsecticida derivado de la bacteria *Saccharopolyspora spinosa* (Clase: Actinobacteria, Orden: Actinomycetales, Familia: Pseudonocardiaceae) altamente efectivo contra larvas susceptibles de *A. aegypti* (Bond *et al.*, 2004; Hertlein *et al.*, 2010), así como otras especies de los órdenes Lepidoptera, Diptera y Coleoptera. Este insecticida actúa activando en forma alostérica a los receptores nicotínicos de la acetilcolina y en menor medida sobre el ácido Gama Amino Butírico (GABA) (Salgado 1998). Dicho modo de acción lo hace único dado que no presenta resistencia cruzada, por insensibilidad en el sitio de acción, con los demás insecticidas que se utilizan contra *A. aegypti*. Es posible que el



uso de spinosad, en salud pública impacte a todos los estados biológicos de esta plaga, aunque su uso actual sea solamente para controlar solo larvas de *A. aegypti* (García-Gutiérrez *et al.*, 2012; CENAPRECE 2015).

Los estudios de susceptibilidad a spinosad se han realizado principalmente en larvas, mientras que su efecto sobre huevos (Pérez. *et al.*, 2007 y Argueta *et al.*, 2011), pupas y adultos de esta especie (Hertlein *et al.*, 2010; Solís-valdez *et al.*, 2015) ha sido muy poco estudiado. Por tanto, el objetivo del presente estudio consistió en determinar la actividad biológica del spinosad en huevo, instares larvarios, pupa y hembras de *A. aegypti*.

## 2. OBJETIVOS

### 1.1 Objetivo general

Determinar si todos los estados biológicos e instares larvales de *Aedes aegypti* son susceptibles al insecticida spinosad.

### 1.2 Objetivo particular

Estimar la CL<sub>50</sub> y CL<sub>95</sub> de Spinosad en los cuatro instares larvales, huevos, pupas y adultos de *Aedes aegypti*.

### 3. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Distribución de *Aedes aegypti* y la enfermedad del dengue en el mundo

*Aedes aegypti* tuvo su origen en el continente africano y actualmente se expande entre las coordenadas 35° latitud norte a 35° latitud Sur, pero puede habitar hasta los 45° latitud norte a 45° latitud sur, con alturas que van de 1200 a 2400 msnm, abarcando prácticamente todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo (CENAPRECE, 2015a). Este insecto es de importancia significativa para la salud humana, debido a que a medida que la población del vector se disemina, los brotes de las enfermedades que transmite también se incrementan (Fajardo-Dolci *et al.*, 2012). La importancia de esta especie es tal que Pinheiro y Corber (1997), señalan que el dengue origina cada año de 50 a 100 millones de casos de enfermedades en seres humanos en más de 100 países, causando aproximadamente 24,000 defunciones anuales y los afectados en su mayoría son niños (Pinheiro y Corber, 1997). La Organización Mundial de la Salud (2011), documentó 890,000 hospitalizaciones de las cuales 26,000 casos fueron de dengue hemorrágico. Fajardo-Dolci *et al.*, (2012) reportan que cada año ocurren aproximadamente 500,000 hospitalizaciones ocasionadas por el dengue hemorrágico, presentando defunciones que van desde el 2.5% a 20% de los contagiados, lo que equivalen dos quintas partes de la población. Es decir, 2,500 millones de personas están en riesgo de adquirir esta enfermedad. Durante el 2013, el dengue en América Latina, tuvo una estadística histórica pues se presentaron los cuatro serotipos de dengue, con 2.3 millones de casos, entre las cuales 37,898 se documentaron como graves resultando en 1,318 fallecimientos. Se estima que anualmente se producen 390 millones de casos de dengue, de los cuales de 67 a 136 millones se detectan clínicamente (Bhatt *et al.*,

2013) y en 128 países, 3,900 millones de personas se encuentran en riesgo de contraer el virus del dengue (Brady *et al.*, 2012).

### **3.2 Distribución de *Aedes aegypti* y la enfermedad del dengue en México**

Actualmente *A. aegypti* se distribuye en 29 estados, en los que se encuentran en riesgo 50 millones de habitantes (Fajardo-Dolci *et al.*, 2012). Esta zona de distribución geográfica del mosquito del dengue incluye zonas turísticas, agrícolas, ganaderas, industriales, pesqueras, así como áreas de explotación del petróleo (Fajardo-Dolci *et al.*, 2012). Los únicos lugares donde no se ha documentado son; Ciudad de México, Tlaxcala, Chihuahua y Baja California (PROY-NOM-032-SSA2-2014, 2014).

En 1978 el dengue clásico se presentó por primera vez en el sur de México, y esta enfermedad se diseminó a otras partes del país a medida que el vector también lo hacía (Icaza, 2003). En las últimas tres décadas, se ha incrementado progresivamente la distribución de esta especie de insecto en el continente americano, llevando consigo la enfermedad del dengue (Braga *et al.*, 2004). En 1995 se presentó el primer caso de dengue hemorrágico en México, y uno de los casos más recientes de diseminación se documentó en el 2003 con 5,220 casos, pasando a 40,559 en 2007, ocasionando menos del 1% de fallecimientos (Braga *et al.*, 2004). Se estima que la presencia del dengue en el continente americano tiene más de 200 años, y que a partir del año 1957, se iniciaron las primeras campañas para la erradicación del vector, logrando este objetivo en 1963. Desafortunadamente éste logro duró solo veinte años y el dengue volvió a resurgir (Fajardo-Dolci *et al.*, 2012).

### **3.3 Importancia de *Aedes aegypti*.**

Las enfermedades que transmite *A. aegypti* al ser humano ocurre cuando la hembra se alimenta de una persona enferma y luego lo hace de una persona sana (OPS/OMS de Uruguay, 2015). Las enfermedades virales que transmite esta especie de insecto son las más extendidas en el mundo, dentro de las cuales se encuentra el dengue clásico, dengue hemorrágico, chikungunya, zika (Rivera, 2014; OPS/OMS, 2015) y Fiebre amarilla (OPS/OMS, 2013). Este vector se ha diseminado en áreas tropicales y subtropicales de varios países del mundo, y se ha convertido en una gran amenaza para millones de personas (Maguiña *et al.*, 2005). Se estima que más del 40% de la población del mundo se encuentra en riesgo de contagiarse por los virus que transmite *A. aegypti* (OPS/OMS de Uruguay, 2015). A nivel mundial, tanto el dengue clásico (DC) como el dengue hemorrágico (DH) son considerados como las enfermedades emergentes y preemergentes de mayor importancia (Maguiña *et al.*, 2005 y Álvarez *et al.*, 2006). Se predice que la incidencia de estas enfermedades se incrementará significativamente en la población mundial en las próximas dos o tres décadas (Gómez-Dantés *et al.*, 2011).

#### **3.3.1 Dengue Clásico**

El dengue clásico es una enfermedad viral sistemática, que puede manifestarse desde infección asintomática a manera de fiebre y hasta condición grave que puede conllevar a la muerte (Fajardo-Dolci *et al.*, 2012). El dengue es un virus que pertenece al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae* y posee una cadena de ARN sencilla (Acosta-Bas y Gómez-Cordero, 2005). Actualmente se conocen cuatro serotipos del dengue: Denv-1, Denv-2, Denv-3 y Denv-4. Todos los serotipos están presentes en México habiendo estados donde se encuentran presentes dos o más serotipos a la vez

(Fajardo-Dolci *et al.*, 2012; Vaughan *et al.*, 2002). La enfermedad puede persistir en las siguientes generaciones del mosquito portador del virus dado que presenta transmisión vertical transovárica para los cuatro serotipos (Shroyer, 1986). Se conocen cuatro fases infecciosas de la enfermedad: a) incubación, de tres a diez días de duración b) fase febril, de dos a siete días, c) fase crítica conocida también como fuga plasmática y se manifiesta entre tres y siete días después de la fiebre, y d) si el paciente no muere se presenta la fase de recuperación entre el séptimo y décimo día (Fajardo-Dolci *et al.*, 2012).

El DC tarda en manifestarse aproximadamente de 4 a 7 días aunque este periodo puede variar de 3 a 14 días (Acosta-Bas *et al.*, 2005; Maguiña *et al.*, 2005; OPS/OMS de Colombia, 2015). Esta enfermedad suele presentarse con fiebre aguda, náuseas, vómitos, dolor retroorbitario, dolores musculares y articulares, mialgias, molestias abdominales y temperaturas altas. Generalmente la tasa de mortalidad es baja (Gubler, 1998; Maguiña *et al.*, 2005; Fajardo-Dolci *et al.*, 2012; OPS/OMS de Colombia, 2015).

### **3.3.2 Dengue Hemorrágico**

En comparación al DC, el DH se presenta como fiebre aguda continua, temperatura corporal de 38 a 40°C y dura de 2 a 7 días. Se presentan hemorragias, lesiones purpúricas, equimosis, petequias, además de se puede presentar sangrado digestivo (Gubler, 1998 y Maguiña *et al.*, 2005; OPS/OMS de Colombia, 2015). El DH puede manifestarse de dos maneras: a) dengue hemorrágico sin Choque y b) dengue hemorrágico con choque. El primero se asemeja a los síntomas del dengue clásico pudiendo presentar congestión faríngea, temperaturas de 40 a 41 °C de 2 a 7 días, convulsiones febriles, petequias finas en las extremidades, axilas, la cara y

paladar blando, así como hemorragia leve gastrointestinal (OPS/OMS de Colombia, 2015).

Cuando se presenta fiebre hemorrágica de choque, el paciente se deteriora súbitamente, la temperatura dura poco más de 7 días y se caracteriza por el pulso débil y acelerado. Se presenta hipotensión con la piel fría y agitación. Cuando la persona llega a este estado puede recuperarse pronto si recibe tratamientos adecuados, de lo contrario corre peligro de fallecimiento en un periodo de 12 a 24 horas ya que presenta hemorragias graves gastrointestinales y en otros órganos, pueden presentar convulsiones y llegar al estado en coma (OPS/OMS de Colombia, 2015).

### **3.3.3 Chikungunya**

Es una enfermedad viral-febril transmitida por *A. aegypti* y *A. albopictus*. Se trata de un virus de ARN perteneciente al género Alfavirus, dentro de la familia Togaviridae (Powers y Logue, 2007; Rivera-Ávila, 2014). Esta enfermedad provoca fiebre y fuertes dolores articulares acompañado de mialgias, cefalea, náuseas, exantema y cansancio. La enfermedad tiene periodo de incubación de 3 a 7 días y se expresa en tres etapas; aguda, subaguda y crónica (Rivera-Ávila, 2014). La fase aguda es muy similar a la enfermedad del dengue clásico y se presenta de 3 a 10 días con fiebre de 39°C o un poco más, con dolores articulares severos, náuseas, dolor de espalda, cefalea, exantema, mialgias, vómitos y conjuntivitis (Rivera-Ávila, 2014). La etapa subaguda, se le llama postinfección ya que tarda un período de dos a tres meses con poliartritis distal, dolores irritables en el mismo lugar de las articulaciones donde presentaba dolores previos. El dolor también se presenta en muñecas y tobillos con manifestación de tenosinovitis hipertrófica subaguda (Rivera-Ávila, 2014). Cuando los

síntomas se presentan por más de tres meses, la enfermedad persistirá de 18 meses hasta tres años con síntomas de fatiga, depresión y artralgias (Rivera-Ávila, 2014). Los únicos tratamientos que hay para chikungunya son reposo, hidratación y suministro de analgésicos (Rivera-Ávila, 2014).

En México el virus de la chikungunya se distribuye en la zona costera del océano pacífico sobre los estados de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Jalisco y en la frontera entre Chihuahua y EU (LaGES, 2015), donde hasta el 31 de diciembre del 2015 se documentaron 11,468 casos autóctonos confirmados (OPS/OMS, 2015b).

### **3.3.4 Zika**

Esta enfermedad se manifiesta por salpullido maculo-papular, fiebre leve, dolores musculares, dolores articulares y conjuntivitis (World Health Organization, 2016). Estos síntomas se manifiestan pasados los 3 a 7 días de haber sido infectados. En general los síntomas de la enfermedad son leves y pueden persistir de 2 a 7 días (World Health Organization, 2016). Esta enfermedad puede contagiarse mediante transmisión sexual. Aún no se tienen evidencias de que se transmita de manera perinatal.

Este virus se aisló en 1947 en los bosques Zika, Uganda, África. Posteriormente se observó en Asia, afectando en el 2007 cerca del 75% de la población de la Isla de Yap, Micronesia. En el 2015 se documentó en el noreste de Brasil (World Health Organization, 2016). Actualmente se distribuye en Brasil, Colombia, El Salvador, Guatemala, Guyana Francesa, Honduras, Martinica, México, Panamá, Puerto Rico, Paraguay, Surinam y Venezuela (OPS/OMS, 2015a)



### **3.4 Método de control de *Aedes aegypti***

Las estrategias que se emplean para el control del vector *A. aegypti* se han visto limitadas debido a la habilidad que tiene esta especie para adaptarse al ambiente. El estado de huevo es capaz de persistir a temperaturas extremas de siete meses hasta un año (SS, 2005) y una vez que se presentan las condiciones para eclosionar, emerge la larva y sigue con su ciclo que en condiciones óptimas puede durar 10 días (SS, 2005). Además, la ayuda comunitaria se ha visto limitada por la poca participación de las personas en la eliminación de su habitat (Gómez-Dantés *et al.*, 2011), posiblemente debido a la falta de comunicación y colaboración eficaces entre los organismos gubernamentales y los grupos comunitarios (Rodríguez, 2002; Rivera-Ávila, 2014). Se sugiere mejorar esta comunicación y fortalecer la vigilancia epidemiológica, la capacidad de las redes de laboratorios, la vigilancia y el control de los vectores, así como mejorar el manejo clínico de los pacientes (San-Martín y Brathwaite-Dick, 2007; OPS/WHO, 2014).

México, a través del Programa de Prevención de Enfermedades, de 2013 a 2018, se contempla a la enfermedad del dengue como una de las prioritarias en mantener bajo vigilancia mediante una serie de estrategias con la participación de la sociedad (PAE, 2013-2018). A continuación se exponen las estrategias en las que México pone su esfuerzo para contener a este insecto vector.

#### **3.4.1 Patio limpio y cuidado del agua almacenada**

Este programa se emplea para disminuir la incidencia de *A. aegypti* y se basa principalmente en concientizar a las personas y hacerlas participar con una serie de estrategias que coadyuven a la prevención del dengue. Para eliminar el hábitat del vector se implementan una serie de actividades como la recolección de basura,

eliminación de maleza, barrido, tapar recipientes que se necesiten para almacenar agua, y destrucción de cualquier recipiente abandonado donde pueda almacenarse agua. El acercamiento comunitario y la planeación de acciones es fundamental para el logro de estos objetivos (SS, 2001; Icaza, 2003; Pérez. *et al.*, 2007; PROY-NOM-032-SSA2-2014).

### **3.4.2 Control biológico**

Dentro de este método de control, se recomienda emplear patógenos, parasitoides, y depredadores que colaboren en mantener las poblaciones del vector a niveles bajos. Entre las especies recomendadas se encuentran hongos entomopatógenos, bacterias como *Bacillus thuringiensis*, *B. israelensis*, *B. sphaericus*, y algunos peces que se alimentan de larvas de *A. aegypti* como *Poecilia* sp. *Tilapia* spp. y *Gambusia affinis* (PROY-NOM-032-SSA2-2014, 2014). Entre los organismos más exitosos en el control de *A. aegypti*, se encuentran los copépodos, que son micro crustáceos (Montada *et al.*, 2005). En Costa Rica utilizan Copépodos de ríos y lagunas como *Mesocyclops thermocyclopoides* que se alimentan de larvas de *A. aegypti* o bien las hieren (Montada *et al.*, 2005). Actualmente se están experimentando exitosamente cepas de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Icaza, 2003). Los cristales de los *Bacillus* al ser ingeridos pasan por un proceso que conlleva a la parálisis e inhibición de la alimentación de las larvas afectadas (Federici, 2003) debido a la destrucción de las células de la pared intestinal (Bisset, 2002).

### 3.4.3 Control químico

Las estrategias anteriores no han sido suficientes para suprimir a vectores y se ha recurrido al uso adicional de insecticidas, logrando así mayor control del vector (Álvarez *et al.*, 2006). Su uso racional permite mantener las poblaciones del vector a niveles bajos tanto en su estado larval como de adulto (Zaim y Guillet, 2002; Bisset Lazcano *et al.*, 2009). Este método de control utiliza insecticidas del grupo de organofosforados como temefos para combatir a estados inmaduros; mientras que el fenitrothion, malation y fenitrothion se han utilizado contra adultos. Para los adultos también se han utilizado piretroides como lambda-cialotrina, deltametrina cipermetrina y ciflutrina (Bisset Lazcano *et al.*, 2009).

### 3.4.4 Spinosad

De la recolección de una cepa bacteriana designada como A83543 en el año 1982, se estudió el efecto biológico de su fermentación y se observó que presenta efecto sobre larvas de *A. aegypti* y en otros organismos considerados como plagas. El estudio de este fermento conllevó a la identidad del agente responsable de la mortalidad de los insectos, descubriéndose que se trata de la bacteria *Saccharopolyspora spinosa* (Thomson *et al.*, 1997). El nombre “*Saccharopolyspora*” significa azúcar con muchas esporas y “*spinosa*” debido a la apariencia espinosa de las esporas (Thompson *et al.*, 1997). Se sabe que *S. spinosa* contiene más de 20 espinosinas, no obstante los metabolitos más abundantes y con propiedades insecticidas son A y D en proporción de 85 y 15%, respectivamente (Thompson *et al.*, 2000). Se trata de un producto natural (Zhi-hua *et al.*, 2006; Pérez *et al.*, 2007; Pineda *et al.*, 2007) que por su eficacia y origen natural representa una alternativa de control ecológica y de bajo riesgo ambiental (Saunders y Bret, 1997). Considerando que tiene

poco o nulo efecto sobre enemigos naturales de las plagas, este insecticida es apropiado para su uso dentro del manejo integrado de plagas (MIP) (Copping, 2001).

Se ha comprobado que Spinosad presenta un alto grado de toxicidad en diferentes especies de insectos plaga. En México se ha empleado desde 1997 contra lepidópteros y trips (Pineda *et al.*, 2007; Antonio *et al.*, 2009). Este bioinsecticida es altamente tóxico tanto, en ambientes controlados como en campo, contra larvas de *A. aegypti* (Hertlein *et al.* 2010).

En la lista de productos recomendados por el CENAPRECE para insectos vectores de enfermedades (2015), se encuentran spinosad 7.480% en tabletas para recipientes con agua (0.1-0.5 mg i.a./L), spinosad 20.6%, concentrado emulsionable en formulación líquida para cuerpos de agua naturales y estanques de agua (20-500 g i.a./Ha), y spinosad Granular 2.5%, granulado para para cuerpos de agua estancada (20-500 g i.a/ha) (CENAPRECE, 2015b).

#### **3.4.4.1 Propiedades de spinosad**

Spinosad pertenece a un nuevo grupo de insecticidas que se conoce como spinosinas, y está compuesto únicamente de metabolitos secundarios. Su estructura química es una lactona macrocíclica formada por cuatro anillos cíclicos con dos moléculas de azúcar en sus extremos (figura 1) (Cleveland *et al.*, 2001). El concentrado de spinosad es sólido, blanquesino y cristalino (Thompson *et al.*, 2000). Como material formulado dura tres años en promedio, tiene un pH de 7.74 y el compuesto no es volátil (Pineda *et al.*, 2007).

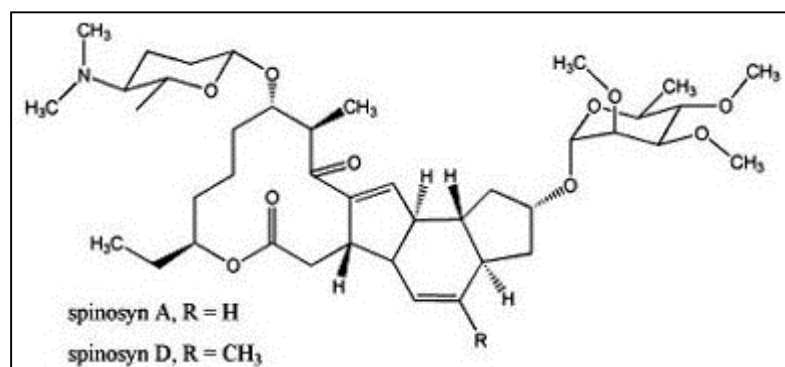


Figura 1. Estructura química de Spinosad (PARASITIPEDIA.net)

#### 3.4.4.2 Modo de acción

El spinosad actúa en el Sistema Nervioso Central (SNC) en larvas y adultos. Se trata de un modo de acción distinto al que presentan los demás insecticidas que se utilizan para el combate de mosquitos (Thompson *et al.*, 2000). Este insecticida puede actuar de dos formas: a) por efecto sinérgico sobre la actividad de la acetilcolina, actuando de manera alostérica sobre los receptores nicotínicos de la membrana postsináptica, ocasionando que estos receptores permitan la entrada de cationes de manera continua y por ende excitando a la célula nerviosa (Salgado, 1997), b) aunque no se conoce con certeza, puede afectar los receptores GABA, un neurotransmisor que activa los canales iónicos (Salgado, 1997).

Spinosad puede actuar ya sea por contacto o por ingestión (Hertlein *et al.*, 2010; Pineda *et al.*, 2007). Una vez que el insecticida ha entrado en contacto con el insecto, los síntomas pueden manifestarse en solo unas horas (Thompson *et al.*, 2000). El insecto afectado presenta contracciones musculares involuntarias, parálisis y muerte (Cleveland *et al.*, 2001). Una vez que los síntomas se han presentado el efecto es irreversible (Thompson *et al.*, 2000).

### 3.4.4.3 Uso de spinosad en México

Según Pineda y colaboradores (2007), el uso de spinosad en México comenzó en 1997 contra lepidópteros y trips y se ha usado en crucíferas, frutales, gramíneas y hortalizas. El insecticida se ha evaluado en el Estado de Sinaloa, México para el control de plagas en maíz, actuando de diferentes formas: repelente en larvas y adultos, inhibiendo la alimentación, induciendo a la muda, impidiendo el desarrollo y crecimiento, produciendo malformaciones, reduciendo la cópula y oviposición, distorsionando la comunicación sexual y provocando esterilidad en adultos (García-Gutiérrez *et al.*, 2012). También se ha utilizado ampliamente en Nuevo León, Veracruz y Tamaulipas en mezcla con proteínas atrayentes para el combate de la mosca mexicana de la fruta, *Anastrepha ludens* (INIFAP, 2011). Igualmente se ha evaluado su efecto contra larvas y huevos del vector *A. aegypti* (Pérez. *et al.*, 2007; Antonio *et al.*, 2009; Argueta *et al.*, 2011; Garza-Robledo *et al.*, 2011). Actualmente este producto está recomendado por CENAPRECE para combatir insectos vectores en sus tres presentaciones; spinosad 7.48%, spinosad 20.6% y spinosad granular 2.5%, los cuales están registrados por COFEPRIS (CENAPRECE, 2015b).

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Lugar del estudio**

Se realizó de mayo a septiembre del 2015, en el laboratorio de toxicología de insecticidas perteneciente al programa de Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México, México.

### **4.2 Material biológico.**

Se utilizó la cepa New Orleans de *A. aegypti*, que es susceptible a insecticidas y fue proporcionada por la Universidad de Nuevo León, México. La cría de esta especie se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2005), en condiciones de  $26 \pm 2$  °C de temperatura,  $70 \pm 5\%$  de humedad relativa y fotoperiodo de 12:12 h.

### **4.3 Insecticida.**

Se utilizó la formulación comercial NATULAR® Insecticida concentrado emulsionable consistente de la mezcla de spinosad A y D al 20.6% equivalente a 239 g. de I.A./L proporcionado por la empresa Clarke® S.A. DE C.V.

## **4.4 Bioensayos**

### **4.4.1 Evaluación en huevos**

Se utilizó la metodología de Argueta y colaboradores (2011), con modificaciones. Se utilizó papel estraza color café como sustrato de oviposición. Con un microscopio estereoscópico (Zeiss StemiDV4®, Göttingen, Alemania) a una ampliación de 40x, se contabilizaron grupos de 200 huevos no mayores de 15 días de haber sido depositados. Posteriormente, se introdujeron en vasos de polipropileno

(Reyma<sup>®</sup>, Ecatepec de Morelos, Estado de México, México) de 150 mL de capacidad, que contenían 100 mL de agua destilada y un mL de insecticida a la concentración requerida. Inicialmente se determinó la ventana de respuesta biológica utilizando las siguientes concentraciones de spinosad: 0 (testigo sin tratar), 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 200, 500 y 1000 mg mL<sup>-1</sup>. No se pudieron incrementar más las concentraciones debido a que no se diluían apropiadamente en agua. Una vez que se estimó la ventana donde se encontraba el cero y la respuesta más elevada de porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos se introdujeron al menos cinco concentraciones intermedias que cubrieran de manera equidistante dicho rango. Después de cuatro horas de exposición al tratamiento, los huevos tratados se sometieron a un proceso de lavado que consistió en introducir seis veces en agua destilada, la papeleta que los contenía. Cada inmersión duró cinco segundos y posteriormente los huevos lavados se depositaron en recipientes que contenían 100 mL de agua destilada. A las 24 h se determinó el porcentaje de eclosión y diariamente durante 18 días se hicieron observaciones sobre el efecto en las larvas que emergían de los huevos.

#### **4.4.2 Evaluación en instares larvales**

Se utilizó la metodología de la Organización Mundial de la Salud (2005). En un recipiente que contenía 100 mL de agua destilada se adicionaron 20 larvas y posteriormente se agregó un mL de la concentración respectiva de spinosad. Inicialmente se determinó la ventana de respuesta biológica, utilizando las siguientes concentraciones: 0 (testigo sin tratar) 0.(10)1, 0.(9)1, 0.(8)1, 0.(7)1, 0.(6)1, 0.(5)1, 0.(4)1, 0.(3)1, 0.001, 0.01, 0.1 y 1 mg mL<sup>-1</sup> (números en paréntesis indican la cantidad de ceros después del punto). Posteriormente se introdujeron al menos cinco concentraciones intermedias que cubrieran de manera equidistante el rango de cero



a 100% de mortalidad. Las unidades experimentales se mantuvieron en cámara de cría, con las condiciones ambientales indicadas. A las 24 h de exposición al insecticida se determinó el porcentaje de mortalidad. Este procedimiento se realizó, por separado, en los instares larvales primero, segundo, tercero y cuarto.

#### **4.4.3 Evaluación en pupas**

Se utilizó la metodología de Prabhu y colaboradores (2011) con modificaciones. La unidad experimental consistió de un vaso de polipropileno Reyma® de 150 mL de capacidad, con 100 mL de agua destilada, al cual se le agregaron 20 pupas de 16 a 24 h de edad, y 1 mL de la concentración respectiva de Spinosad. Dichos vasos se cubrieron con malla antiáfido para evitar el posible escape de los adultos que emergieran. Para determinar la ventana de respuesta biológica se aplicaron las siguientes concentraciones: 0 (testigo sin tratar), 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 200, 500 y 1000 mg mL<sup>-1</sup> de spinosad. Posteriormente se incluyeron al menos cinco dosis intermedias que cubrieran de manera equidistante el rango de cero a 100% de mortalidad. Las unidades experimentales se mantuvieron en cámara bioclimática y en las condiciones ambientales previamente indicadas y los datos fueron tomados 24 h después de la exposición al insecticida.

#### **4.4.4 Evaluación en hembras**

En tubos Eppendorf® (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) de plástico de 1.5 mL, se adicionaron 0.75 mL de agua destinada y una pupa. Se colocó su tapa y posteriormente se ubicaron en una rejilla. Se seleccionaron las pupas de mayor tamaño debido a que se incrementa la probabilidad de que fueran hembras. Una vez emergidos los adultos, éstos se diferenciaron por sexo con base en la morfología de

las antenas (Ebeling 1975). Los machos se descartaron y las hembras de 24 a 48 h edad se utilizaron en los bioensayos. Dichas hembras se introdujeron en jaulas entomológicas de 35 x 25 cm. Posteriormente, con un aspirador entomológico se obtuvieron grupos de 20 hembras y se colocaron dentro de cajas Petri® de 100 x 15 mm, se cubrieron con tela C-tul #5® sujeta mediante una banda elástica de goma y en el centro se hizo una abertura de 5 mm por donde se introdujeron los insectos. Para minimizar la probabilidad de escape, se cubrió dicha hendidura con algodón. A cada caja de Petri con hembras se aplicó 1 mL de spinosad mediante la torre de Potter (Potter 1952) a una presión de 10 lb pulg<sup>-2</sup> durante 20 s. Para determinar la ventana de respuesta biológica se aplicaron las siguientes concentraciones: 0 (testigo sin tratar), 0.000001, 0.00001, 0.0001, 0.001, 0.01 y 0.1%. Posteriormente, se introdujeron al menos cinco concentraciones intermedias que cubrieran el rango de cero a 100% de mortalidad. El porcentaje de mortalidad se determinó a las 24 h de exposición al tóxico. Para su análisis, las dosis se transformaron a mg de spinosad por cm<sup>2</sup> (mg cm<sup>-2</sup>).

#### **4.4.5 Análisis estadístico**

En el testigo sin tratar se aceptó una mortalidad igual o inferior al 10% y se utilizó la fórmula de Abbott para hacer la corrección (Abbott 1925). Para cada bioensayo se realizaron cinco repeticiones en días diferentes y cada repetición incluyó un testigo. Los resultados del estudio del efecto de spinosad en huevos se analizaron mediante una regresión lineal en el programa R y en el análisis de resultados de spinosad en los diferentes instares larvales, pupas y adultos se utilizó el procedimiento Proc-Probit del software estadística Statistical Analysis System (SAS) (SAS institute 2002).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayoría de los bioensayos en *A. aegypti*, se han realizado en larvas (Rodríguez *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2004; Álvarez *et al.*, 2006; Vargas y Alvarado 2006; Bisset-Lazcano *et al.*, 2009; Hertlein *et al.*, 2010; Milena y Soto 2010; Chino-cantor *et al.*, 2014) existiendo pocos antecedentes sobre la toxicidad de este insecticida en los demás estados biológicos (Pineda *et al.*, 2007).

En la evaluación de huevos de *A. aegypti* se obtuvo una inhibición máxima de la emergencia (IE) de 70% (figura 2); pero no se pudo incrementar la dosis debido a la dificultad de obtener una dilución apropiada. Se estimó que el 50% de la emergencia se obtuvo a 28.9 mg L<sup>-1</sup> de spinosad, con límites de confianza entre 10.1 y 95.4 (Cuadro 1). Además, se observó la tendencia de que a mayor concentración del insecticida mayor es la inhibición de la emergencia de huevos, modelando una línea recta ( $R^2$ ; 0.97) (Figura 2). Pineda y colaboradores (2007) mencionan que spinosad reduce la supervivencia de larvas que emergen de huevos tratados con spinosad. En este estudio se observó que todas las larvas que provenían de huevos tratados con dosis de 1000 y 500, mg L<sup>-1</sup> de spinosad morían al emerger y aquellas que emergieron de huevos tratados con 200, 100 y 10 mg L<sup>-1</sup> murieron en un periodo de dos días y sus cuerpos se desintegraban o se volvían transparentes. La exposición de huevos a dosis de 1.0, 0.1 y 0.01 mg L<sup>-1</sup> presentaron, en las larvas que emergieron, un 100% de mortalidad a los 48 h; sin embargo, aquellas que lograron sobrevivir no pudieron desprenderse de la exuvia al momento de mudar. Argueta y colaboradores (2011) indican que spinosad tiene baja actividad ovicida en *A. aegypti*. Romi *et al.* (2006) determinaron que la exposición de huevos de *A. aegypti* a las dosis de 1 y 10 ppm provocó que el 71.5 y 81.5% de ellos no eclosionara. Es posible que el limitado efecto de Spinosad en los huevos de esta especie se deba a su penetración reducida a través

de la capa cerosa del corión (Rezende *et al.*, 2008) y al hecho de que es un estado biológico que no se alimenta, por lo que el modo de acción por ingestión del spinosad no participa en el proceso de intoxicación.

No se incrementó el tiempo de exposición de los huevos al spinosad debido a que se iniciaba el proceso de eclosión y emergencia de larvas. Prabhu y colaboradores (2011) evaluaron spinosad en huevos de *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) obteniendo valores de toxicidad más bajos que los observados en este estudio. En otros estudios se ha evaluado el efecto de insecticidas de origen vegetal contra huevos de *A. aegypti*. Por ejemplo Krishnappa *et al.*, (2012), evaluaron un extracto etanólico de la planta *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. (Fabaceae) en concentraciones de 50, 75 y 100%, en pupas de *A. stephensi*, en las 24 h de exposición obtuvieron mortalidades de 61.2, 70.9 y 91%, respectivamente. Kashte y colaboradores (2015), evaluaron, por exposición de 24 h, los extractos acuosos y etanólicos de *Clerodendrum phlomidis* Linn (Lamiaceae) en huevos de *A. aegypti*, obteniendo una IE<sub>50</sub> de 139.9 y de 121.3 ppm, respectivamente.

Los cuatro instares larvales fueron sensibles al Spinosad (Cuadro 1). Aunque, este fue más tóxico contra el primer instar con una CL<sub>50</sub> de 0.009 mg L<sup>-1</sup>, seguido del segundo instar con una CL<sub>50</sub> de 0.017 mg L<sup>-1</sup>. Para los instares tercero y cuarto la CL<sub>50</sub> fue de 0.08 y 0.12 mg L<sup>-1</sup>, sin diferencia estadística entre ellos dado que sus límites de confianza al 95% se traslaparon. A nivel de la CL<sub>95</sub>, spinosad fue más tóxico en los instares primero y segundo con valores de 0.064 y 0.14 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, seguido por el tercer instar con 0.28 mg L<sup>-1</sup> y el cuarto con 0.62 mg L<sup>-1</sup>. El primer instar fue el más sensible de todos lo que coincide con Prabhu *et al.*, (2011) quienes obtuvieron el mismo resultado con *A. stephensi*. Igualmente Jiang y Mulla, (2009), así como Antonio y colaboradores (2009) consideraron que el segundo instar es menos

sensible que el primero a spinosad. La susceptibilidad diferenciada entre instares se atribuye al tamaño relativo, como lo indican Prabhu y colaboradores (2011). Los límites fiduciales entre el tercer y el cuarto instar se traslaparon a nivel de CL<sub>50</sub> y de CL<sub>95</sub>, lo que indica que entre ellos no existe diferencia significativa.

En pupas, se observó una CL<sub>50</sub> de 30.4 y una CL<sub>95</sub> de 475.1 mg L<sup>-1</sup>, lo que permite inferir que es baja la toxicidad relativa del insecticida para este estado ya que se requiere una concentración de 3377.7 mg L<sup>-1</sup> en CL<sub>50</sub> y de 742.3 mg L<sup>-1</sup> para CL<sub>95</sub> las cuales son mayores concentraciones de insecticida en comparación a lo requerido en el primer instar larval (Cuadro 1). Esto se le puede atribuir a que la pupa no se alimenta y dado que Spinosad actúa principalmente por ingestión y en menor medida por contacto (Hertlein *et al.*, 2010).

En adultos, se observó una CL<sub>50</sub> de 0.005 mg cm<sup>-2</sup> con límite de confianza (0.004 - 0.006) y una CL<sub>95</sub> de 0.038 mg cm<sup>-2</sup> con sus límites fiduciales de (0.028 - 0.06) (Cuadro 2). Existen investigaciones en las que se exponen 20 hembras adultas neonatas sin alimentar por una hora en botellas impregnadas en toda su superficie interior con insecticida según la metodología de (Brogdon y Mcallister (1998), obteniendo resultados similares aunque difíciles de comparar con la presente investigación por las diferencias en la metodología e insecticida evaluados, sin embargo, existe una cantidad significativa de estudios que se han realizado en el control de adultos con ligeras modificaciones entre ellas (Flores *et al.*, 2005; Flores *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2009; Melo-Santos *et al.*, 2010; Lima *et al.*, 2011; McAllister *et al.*, 2012; Flores *et al.*, 2013; Lopez *et al.*, 2014; Owusu *et al.*, 2015). En el estado de Sinaloa, México, se evaluó spinosad para el control de larvas y adultos de *A. aegypti* así como moscas de la familia Simuliidae bajo condiciones de campo e indican que los

resultados son prometedores, pero no mencionan dosis, metodología, de aplicación ni resultados concretos (García-Gutiérrez *et al.*, 2012).

Spinosad se ha usado como larvicida contra diferentes especies de la Familia Culicidae (World Health Organization 2013), quizá esa sea razón por la cual los estudios han sido enfocados en larvas y muy poco se sabe sobre la acción de este producto en otros estados biológicos.

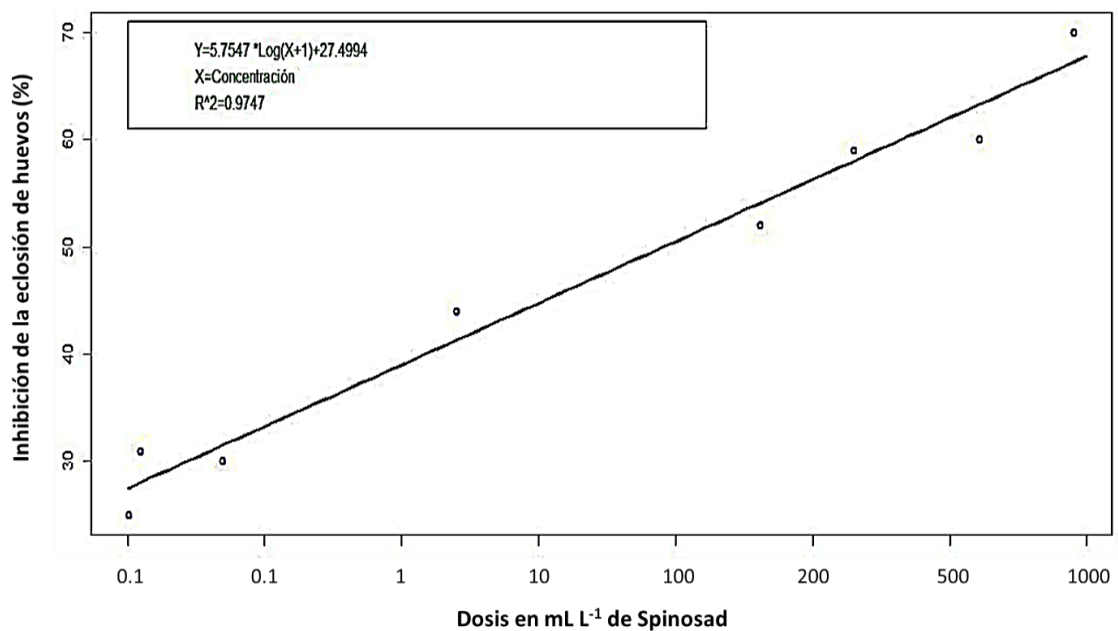


Figura 2. Relación entre concentraciones de Spinosad y el porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Aedes aegypti* L.

Cuadro 1. Toxicidad de Spinosad en diferentes estados biológicos e instares larvales de la cepa New Orleans de *Aedes aegypti* L.

Estado	Método de evaluación	N <sup>a</sup>	b ± EE <sup>b</sup>	CL50 <sup>c</sup> (LC 95%)	CL95 <sup>d</sup> (LC 95%)	Pr> X2 <sup>e</sup>	TR50 <sup>f</sup>	TR95 <sup>g</sup>
Huevo	Inmersión (mg L <sup>-1</sup> )	4800	0.22	28.9 (10.1 – 95.4)	na	<0.0001		
Larvas	Bioensayo							
Instar 1	WHO, 2005 (mg L <sup>-1</sup> )	770	1.96	0.009 (0.008 - 0.01)	0.064 (0.05 - 0.086)	< 0.0001	1	1
Instar 2	Bioensayo WHO, 2005 (mg L <sup>-1</sup> )	840	1.8	0.017 (0.015 - 0.0196)	0.14 (0.11 - 0.196)	< 0.0001	1.8	2.2
Instar 3	Bioensayo WHO, 2005 (mg L <sup>-1</sup> )	1120	3.07	0.08 (0.068 - 0.099)	0.28 (0.205 - 0.486)	< 0.0001	8.9	4.4
Instar4	Bioensayo WHO, 2005 (mg L <sup>-1</sup> )	700	2.34	0.12 (0.097 - 0.148)	0.62 (0.45-1.05)	< 0.0001	13.3	9.7
Pupa	Bioensayo WHO, 2005 (mg L <sup>-1</sup> )	700	1.37	30.4 (21.59 - 41.57)	475.1 (262.49 - 1241)	< 0.0001	3377.7	742.3
Adulto	Por aspersión con							
Hembra	Torre de Potter® (mg.cm <sup>-2</sup> )	600	1.84	0.005 (0.004 - 0.006)	0.04 (0.028 - 0.06)	< 0.0001	1	1

<sup>a</sup>Número de insectos tratados, <sup>b</sup>Valor de la pendiente, <sup>c</sup>dosis efectiva a nivel de 50% de efecto (50% de inhibición de la eclosión para huevo ó 50% de mortalidad para larvas, pupas y adultos), <sup>d</sup>limites fiduciales al 95%, <sup>e</sup>dosis efectiva a nivel de 95% de efecto (95% de inhibición de la eclosión para huevo y 95% de mortalidad para larvas, pupas y adultos), <sup>f</sup>ajuste del modelo a una línea recta. <sup>g</sup>Toxicidad relativa a nivel del 50% de mortalidad (CL<sub>50</sub>) y Toxicidad relativa a nivel del 95% de mortalidad (CL<sub>95</sub>). na=no se hizo inferencia a este nivel debido a que el máximo valor de inhibición de la oviposición observado fue del 70%

Aunque todos los estados e instares larvales de *A. aegypti* son afectados por el spinosad, la toxicidad más elevada se observó en larvas y hembras.

## **6. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES**

La cepa de *A. aegypti* New Orleans, presentó sensibilidad a Spinosad en todos sus estados biológicos e instares larvales. Los estados menos susceptibles fueron huevo y pupa.

El spinosad es un insecticida altamente efectivo contra todos los instares larvales de *A. aegypti*. Su uso en campo debe estar apoyado en medidas de manejo que prolonguen la vida útil de este insecticida ya que como cualquier otro producto no está exento de perder eficacia debido a la habilidad que tiene esta especie de mosquito para desarrollar resistencia.



## 7. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265-267.
- Acosta-Bas, C., & Gómez-Cordero, I. (2005). Biología y métodos diagnósticos del dengue. *Rev Biomed*, 16(2): 113–137.
- Álvarez, L., Briceño, A., & Oviedo, M. (2006). Resistance to Temephos in populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) of the west of Venezuela. *Revista Colombiana de Entomología*, 32(2), 172–175.
- Antonio, G. E., Sánchez, D., Williams, T., & Marina, C. F. (2009). Paradoxical effects of sublethal exposure to the naturally derived insecticide spinosad in the dengue vector mosquito, *Aedes aegypti*. *Pest Management Science*, 65(3), 323–326.
- Argueta, A. L., Valle, J. & Marina, C. F. (2011). Efectos ovicida y larvicida del spinosad en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 37(2), 269–272.
- Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., Drake, J. M., Brownstein, J. S., Hoen, A. G., Sankoh, O., Myers, M. F., George, D. B., Jaenisch, T., William, W. G. R., Simmons, C. P., Scott, T. W., Farrar, J. J. & Hay, S. I. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504–507.
- Bisset-Lazcano, J. A., Rodríguez, M. M., Martín, J. L. S., Romero, J. E., & Montoya, M. (2009). Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Rev Panam Salud Publica*, 26(3): 229–234.
- Bisset, L. J. A. (2002). Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(3), 202–219.

- Bisset, J. A., Rodríguez, M. M., Fernández, D. & Pérez, O. (2004). Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, 2001 - 2002. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 56(1): 61–66
- Brady, O. J., Gething, P. W., Bhatt, S., Messina, J. P., Brownstein, J. S., Hoen, A. G., Moyes, C. L., Farlow, A. W., Scott, T. W. & Hay, S. I. (2012). Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(8), 1–7.
- Bond, J. G., Marina, C. F. y Williams T. (2004). The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes and Anopheles* mosquito larvae. *Med.Vet. Entomol.* 18: 50-56.
- Braga, I. A., Preira, L. J. B., da Silva, S. S. & Valle, D. (2004). *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*. 99(2), 199–203.
- Brogdon, W. G., Mcallister, J. C., & Control, D. (1998). Insecticide Resistance and Vector Control, 4(4): 605–613.
- CENAPRECE. (2015). Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. Distribución de *Aedes aegypti*. Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/dengue/vector.html>. Actualizado viernes 12 de Diciembre. 1-9.
- CENAPRECE. (2015a). Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. Distribución de *Aedes aegypti*. *Centro Nacional de Programas Preventivos Y Control de Enfermedades*.

[Http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/dengue/vectores.html](http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/dengue/vectores.html), Actualizado viernes 12 de Diciembre.

- CENAPRECE. (2015b). Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. Lista actualizada de equipos recomendados por el CENAPRECE para el combate de insectos vectores de enfermedades a partir de 2013. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades, (55), 1–3.
- Centro de Coordinación de Alertas y Emergencia Sanitarias. (2016). Evaluación Rápida del Riesgo de transmisión de enfermedad por el virus Zika en España. Secretaría General de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación. 14: 1-14.
- Chino-Cantor, A. Sánchez-arroyo, H., Ortega-arenas, L.D., & Castro-hernández, E. (2014). Insecticide Susceptibility of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) in Guerrero, Mexico. *Southwestern Entomologist*, 39(3), 601–612.
- Cleveland, B., A. Mayes & A. Cryer. (2001). Anecological risk assessment for spinosad use on cotton. *Pest Manag. Sci.* 58: 70-84.
- CONAVE. (2015). Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. Infección por virus Zika, síndrome neurológico y anomalías congénitas. Aviso epidemiológico. 10 de Diciembre de 2015., 1, 1689–1699. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- Copping, L. G. (2001). The biopesticide manual. BCPC Publi., Blackwell, United Kingdom.
- DGE. (2014). Dirección General de Epidemiología. Lineamientos para la vigilancia epidemiológica de dengue por laboratorio. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. 1-81.

- Ebeling, W. (1975). Urban entomology. University of California. Division of Agricultural Sciences. Los Angeles. CA. USA
- Fajardo-Dolci, G., Meljem-Moctezuma, J., Vicente-González, E., Venegas-Páez, F. V., Mazón-González, B. & Aguirre-Gas, H. G. (2012). El dengue en México, Conocer para mejorar la calidad de la atención. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.*, 50(6): 631–639.
- Federici, B. A. (2003). Recombinant bacteria for mosquito control. *Journal of Experimental Biology*, 206(21), 3877–3885.
- Flores, A. E., Albeldaño-Vázquez, W., Salas, I. F., Badii, M. H., Becerra, H. L., Garcia, G. P., Fuentes, S. L. Brogdon, W. G., Black IV, W.C. & Beaty, B. (2005). Elevated  $\alpha$ -esterase levels associated with permethrin tolerance in *Aedes aegypti* (L.) from Baja California, Mexico. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82(1): 66–78.
- Flores, A. E., Grajales, J. S., Salas, I. F., Garcia, G. P., Becerra, M. H., Lozano, S., Brogdon, W. G., Black IV, W. C. & Beaty, B. (2006). Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) from Quintana Roo, Southern Mexico. *J Am Mosq Control Assoc*, 22(4): 672–677.
- Flores, A. E., Solis, G. R., Salas, F., Ramos, F. J. S., & Ponce, G. (2009). Resistance to Permethrin in *Aedes aegypti* (L.) in Northern Mexico. *Southwestern Entomologist*, 34, 167–177.
- Flores, A. E., Ponce, G., Silva, B. G., Gutierrez, S. M., Bobadilla, C., Lopez, B., Mercado, R. & Black, W. C. (2013). Wide spread cross resistance to pyrethroids in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Veracruz state Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 106(2): 959–69.
- García-Gutiérrez, C., León-Váldez, R. L., Aguilar, C. E. L., & León-Váldez, A. (2012).

- Insecticidas biorracionales para el control del mosquito y moscas negras en sinaloa. *Ra Ximhai Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 8(3): 46–55.
- Garza-Robledo, A. A., Martínez-Perales, J. F., Rodríguez-Castro, V. A., & Quiroz-Martínez, H. (2011). Effectiveness of Spinosad and Temephos for the Control of Mosquito Larvae At A Tire Dump In Allende, Nuevo Leon, Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 27(4), 404–407.
- Gómez-Dantés, H., San Martín, J. L., Danis-Lozano, R., & Manrique-Saide, P. (2011). La estrategia para la prevención y el control integrado del dengue en Mesoamérica. *Salud Pública de México*, 53(3), 349–357.
- Gubler, D. J. (1998). Dengue and Dengue Hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Review*, 11(3), 480–496.
- Hertlein, M. B., Mavrotas, C., Jousseau, C., Lysandrou, M., Thompson, G. D., Jany, W., & Ritchie, S. A. (2010). A review of spinosad as a natural product for larval mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 26(1): 67–87.
- Icaza, J. T. (2003). El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México. *Bayer Enviromental Sience* (1): 1-151.
- INIFAP. (2011). Spinosad en un atrayente nuevo para el control químico de mosca mexicana de la fruta. No. PRECI del Proyecto: 1106033A. *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*. <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/handle/123456789/984>, 54–55.
- Jiang, Y., & Mulla, M. S. (2009). Laboratory and field evaluation of spinosad, a biorational natural product, against larvae of *Culex* mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(4): 456–66.

- Kashte, S., Walke, S., Parwe, N., & Mulani, R. (2015). Agnimantha : An herbal larvicide and pupicide against malarial vector *Anopheles stephensi*. *2*(2), 89–93.
- Krishnappa, K., Dhanasekaran, S., & Elumalai, K. (2012). Larvicidal, ovicidal and pupicidal activities of *Gliricidia sepium* (Jacq.) (Leguminosae) against the malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston (Culicidae: Diptera). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *5*(8), 598–604.
- LaGES. (2015). Laboratorio de Geoprocesamiento Epidemiológico en Ambiente y Salud. Enfermedades transmitidos por vector. uaslp. <http://lages.uaslp.mx/>.
- Lima, E. P., Paiva, M. H. S., de Araújo, A. P., da Silva, É. V. G., da Silva, U. M., de Oliveira, L. N., Santana, A. E. G, Barbosa C. N., Neto, C. C de P., Goulart, O. M., Wilding, C. S., Ayres, C. F. J., de Melo, M. A. V. S. (2011). Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasites & Vectors*, *4*(1): 1–12.
- Lopez, B., Ponce, G., Gonzalez, J. a, Gutierrez, S. M., Villanueva, O. K., Gonzalez, G., Bobadilla, I. C., Rodríguez P., Black IV, C. W. & Flores, A. E. (2014). Susceptibility to chlorpyrifos in pyrethroid-resistant populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico. *Journal of Medical Entomology*, *51*(3): 644–9.
- Maguiña V.C., Fernando, O. P. S. O. L., SOTO, A., Leslie, & Karim, P. R. (2005). Dengue clásico y hemorrágico: Una enfermedad reemergente y emergente en el Perú. *Rev Med Hered*, *16*(2), 120–140.
- McAllister, J. C., Godsey, M. S., & Scott, M. L. (2012). Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Port-au-Prince, Haiti. *J Vector Ecol*, *37*(2): 325–332.
- Melo-Santos, M. A. V, Varjal-Melo, J. J. M., Arajo, A. P., Gomes, T. C. S., Paiva, M. H. S., Regis, L. N., Furtado, A. F., Magalhaes, T., Macoris, M. L. G., Andrighetti,

- M. T. M. & Ayres, C. F. J. (2010). Resistance to the organophosphate temephos: Mechanisms, evolution and reversion in an *Aedes aegypti* laboratory strain from Brazil. *Acta Tropica*, 113(2): 180–189.
- Milena, S. & Soto G. A. (2010). Niveles de resistencia de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) al insecticida temephos en el departamento de Caldas. *Agron.*, 18(1): 69–76.
- Montada, D. D., García I. A. & Marquetti, F. M. C. (2005). *Macrocyclus albidus* (Copepoda: Cyclopidae): una nueva alternativa para el control de larvas de mosquitos en Cuba. *Rev Cubana Med Trop.* 57(3): 1-9.
- OMS (2015). Organización Mundial de la Salud. [Sitio web]. Dengue y dengue hemorrágico. Nota descriptiva N° 117. [Consultado el 9 de mayo de 2011. Actualizado en marzo de 2009]. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>.
- OPS/OMS. (2013). Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Fiebre amarilla, guía de campo para la vigilancia. salud PPública Veterinaria. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. (*Organización Panamericana de La Salud Y Organización Mundial de La Salud*). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs100/es/>, 1–5. <http://doi.org/10.4067/S0716-10182001000100009>.
- OPS/OMS Colombia (2015). Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Dengue y Dengue Hemorrágico en las Américas. Evidencia en Salud y Control de Enfermedades. [http://www.paho.org/col/index.php?option=com\\_content&view=article&id=519:dengue-y-dengue-hemorragico-en-las-americas&Itemid=361](http://www.paho.org/col/index.php?option=com_content&view=article&id=519:dengue-y-dengue-hemorragico-en-las-americas&Itemid=361).
- OPS/OMS Uruguay. (2015). Organización Panamericana de la Salud y Organización

Mundial de la Salud. ¿Qué es el Dengue?. Datos fundamentales. [http://www.paho.org/uru/index.php?option=com\\_content&view=article&id=145:-que-dengue-&Itemid=243](http://www.paho.org/uru/index.php?option=com_content&view=article&id=145:-que-dengue-&Itemid=243). Última actualización el Lunes 16 de Mayo de 2011 13:42.

OPS/OMS. (2015a). Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica Síndrome neurológico, anomalías congénitas e infección por virus Zika. Implicaciones para la salud pública en las Américas. 1 de diciembre de 2015. 1–12.

OPS/OMS. (2015b). Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Número de casos reportados de Chikungunya en países o territorios de las Américas 2015 (por semanas). Casos acumulados. Semana Epidemiológica/SE 52 (Actualizada al 31 de diciembre de 2015). *SEMANA 52*, 1.

OPS/WHO. (2014). Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Últimos adelantos técnicos en la prevención y el control del dengue en la Región de las Américas. *28 y 29 de Mayo Del 2014*. Retrieved from <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v21n1/a11v21n1.pdf>. Washington, D.C., EUA, 1–56.

Owusu, H. F., Jančárová, D., Malone, D., & Müller, P. (2015). Comparability between insecticide resistance bioassays for mosquito vectors: time to review current methodology? *Parasites & Vectors*, *8*(1): 357.

Padilla, J., Ahumada, M., Lozano, G., Barrero, N., Rey, J. & Escandón, S. (2004). Plan de movilización y comunicación social para la prevención y control del dengue. Barranquilla, Colombia: Organización Panamericana de la Salud.

PAE. (2013-2018). Programa de Acción Específico Prevención , Detección y Control



- de los Problemas de Salud Bucal. *Programa de Acción Específico. Prevención y Control de Dengue. Programa Sectorial de Salud*, 1–194.
- Pérez., C. M., Marina, C. F., Bond, J. G., Rojas, J. C., Valle, J., & Pe, C. M. (2007). Spinosad, a Naturally Derived Insecticide , for Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): Efficacy, Persistence, and Elicited Oviposition Response, 631–638.
- Pineda, S., Marcela-Inés, S., & Ana-Mabel, M. (2007). El Spinosad, una alternativa para el control de insectos plaga. *Ciencia Nicolaita*, (46): 29–42.
- Pinheiro, F. P., & Corber, S. J. (1997). Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever, and its emergence in the Americas. *World Health Statistics Quarterly. Rapport Trimestriel de Statistiques Sanitaires Mondiales*, 50(3-4), 161–169.
- Potter, C. (1952). An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on electrostatic charge on atomized spray fluids. *Ann. Appl. Biol.* 39:1-29.
- Prabhu, K., Muragan, K., Nareshkumar, A., & Bragadeeswaran, S. (2011). Larvicidal and pupicidal activity of spinosad against the malarial vector *Anopheles stephensi*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(8): 610–613.
- PROY-NOM-032-SSA2-2014. (2014). PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-032-SSA2-2014, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector. *Diario Oficial. Viernes 22 de Agosto de 2014. Primera Sección.*, 1–47. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Powers, A. M., & Logue, C. H. (2007). Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *Journal of General Virology*, 88(9), 2363–2377.

- Rall. (2014). Mosquitos transgénicos en América Latina. Brasil se aprobó el mosquito transgénico con fines comerciales. En Panamá los riesgos de los experimentos con mosquitos transgénicos en Panamá no deben ocultarse a la población. *Red Por Una América Libre de Transgénicos, Boletín 56*, 1–6.
- Rezende, G. L., Martins, A. J., Gentile, C., Farnesi, L. C., Pelajo-Machado, M., Peixoto, A. A., & Valle, D. (2008). Embryonic desiccation resistance in *Aedes aegypti*: presumptive role of the chitinized serosal cuticle. *BMC Developmental Biology*, 8, 82. <http://doi.org/10.1186/1471-213X-8-82>
- Rivera, G. O. (2014). *Aedes aegypti*, virus dengue, chikungunya, zika y el cambio climático. Máxima alerta médica y oficial. *Revista Electronica de Veterinaria*, 15(10), 1–10.
- Rivera-Ávila, R. C. (2014). Fiebre chikungunya en México : caso confirmado y apuntes para la respuesta epidemiológica. *Salud Pública de Mexico*, 56(4), 402–404.
- Rodríguez, C. R. (2002). Estrategias para el control del dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Rev Cubana Med Trop*, 54(3), 189–201.
- Rodríguez, M. M., Bisset, J. A., Díaz, C. & Soca, L. A. (2003). Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malation. *Rev. Cubana. Med. Trop.* 55(2): 105–111.
- Romi, R., Proietti, S., Di Luca, M., & Cristofaro, M. (2006). Laboratory evaluation of the bioinsecticide Spinosad for mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(1): 93–96.
- Salgado, V. L. (1997). Studies on the Mode of Action of Spinosad: Insect Symptoms and Physiological Correlates. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 60(2), 91–102.

- Salgado V. L. (1998). Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pestic Biochem Physiol* 60:91–102.
- Salvatella-Agrelo, R. (1996). *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) y su papel como vectores en las Américas. La situación de Uruguay. *Rev Med Uruguay*, 12, 28–36.
- San-Martín, J. L., & Brathwaite-Dick, O. (2007). La Estrategia de Gestión Integrada para la Prevención y el Control del Dengue en la Región de las Américas. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 21(1), 55–63.
- Saunders, D. y Bret, L. (1997). Fate of spinosad in the environment. *Downto Earth* 52: 14-20.
- SAS Institute (2002). SAS/Stat®. Language Guide for Personal Computers release 9.0 Edition. SAS Institute. Cary N. C. USA.
- Shroyer, D. A. (1986). *Aedes albopictus* and arboviruses: A concise review of the literature.pdf. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2(4), 424–428.
- Solís-Valdez, C. B., Barrientos-Contreras, B. J., Escobar-González, B., Zepeda-Cavazos I. G., Rodríguez-Castro, V. A. y Quiroz-Martínez, H. (2015). Oviposición de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) en ovitrampas con dos larvicidas en El Fuerte, Sinaloa, México. *Society of Southwestern Entomologists*, 40(3): 574–580.
- SS. (2001). Secretaría de Salud. Guía de Participación comunitaria para la prevención y control del dengue. 1–85.
- SS. (2005). Secretaría de Salud. Epidemiología. *Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Sistema Único de Información.*, 22(37), 1–24.
- SS. (2015). Secretaría de Salud. Semana Epidemiológica N° 52. Publicación actual

- Sem. Epid. N° 52 el 07 de Enero de 2015; a cargo de la Dirección de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades Transmisibles. epidemiologia.salud.gob.mx. (Actualización de todos los archivos semanales del 01 a la 23 el 19 de junio del 2015)
- SS. (2015a). Secretaría de Salud. Cuadro actualizado “ Casos confirmados de Fiebre Chikungunya ” , semana epidemiológica 41 del 2015 Fecha : 26 de octubre 2015. Entidad Federativa Confirmados Total, 52(55), 5337.
- SS. (2015b). Secretaría de Salud. Mantiene secretaría de salud descacharrización contra dengue y chikungunya. *Secretaría de Salud, Gobierno Del Estado de Campeche*, [http://www\(Consultado; 26/12/2015\).](http://www(Consultado; 26/12/2015).)
- Thompson, D., H. Michel, C. Yao, S. Mynderse, T. Mosburg, V. Worden, H. Chio, C. Sparks y H. Hutchins. (1997). The discovery of *Saccharopolyspora spinosa* and a new class of insect control products. *Dow to Earth* 52: 1-5.
- Thompson, D., R. Dutton y T.C. Sparks. (2000). Spinosad – a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag. Sci.* 56: 696-702.
- Torres R, J. R., & Torres V, C. G. (2002). Dengue in Latin America - a unique situation. *Dengue Bulletin*, 26(6), 62–69.
- Vargas, F., & Alvarado, A. (2006). Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano, 23(4): 259–264.
- Vaughan, G., Olivera, H., Santos-Argumedeo, L., Landa, A., Briseño, B., & Escobar-Gutiérrez, A. (2002). Dengue virus replicative intermediate RNA detection by reverse transcription-PCR. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9(1), 198–200.

- Wirth, M. & Georghiou, G. (1999). Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola; British Virgin Islands. *Journal of the American Mosquito Control Association* 15: 315-320.
- WHO. (1995). World Health Organization. Vector control for malaria and other mosquito borne diseases, Report of a WHO study group, Technical report series No. 857. World Health Organization, Geneva.
- WHO. (2005). World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13.
- World Health Organization. (2013). Report of the sixteenth whopes working group meeting. WHO/HQ, Geneva 22–30 July 2013. control of neglected tropical diseases who pesticide evaluation scheme. review of: pirimiphos-methyl 300 cs chlorfenapyr 240 sc deltamethrin 62.5 sc-pe duranet In netprotect In yahe In spinosad 83.3 monolayer dt spinosad 25 extended release gr.
- World Health Organization (WHO). (2016). Media centre. Zika virus. Fact sheet Updated 15 April 2016. <http://who.int/mediacentre/factsheets/zika/en/>.
- Zaim M, Guillet P. (2002). Strategy development and monitoring for parasitic diseases and vector control. *Trends Parasitol.* 18:161–3.
- Zhi-hua, J., Jian-ping, W., Yuan, Z., Xiu, C., Li-rong, Y. & Pei-lin, C. (2006). Improvement of spinosad producing *Saccharopolyspora spinosa* by rational screening. *Journal of Zhejiang University SCIENCE A*, 7, 366–370.