

## RESPUESTA CONDUCTUAL DE *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) FRENTE A ADULTICIDAS PIRETROIDES DE USO FRECUENTE EN SALUD PÚBLICA

Yuri O. Ayala-Sulca<sup>1a</sup>, Luis Ibarra-Juarez<sup>2b</sup>, Jhon P. Grieco<sup>3c</sup>, Nicole Achee<sup>3</sup>, Roberto Mercado-Hernandez<sup>2</sup>, Ildefonso Fernández-Salas<sup>2</sup>

### RESUMEN

**Objetivos.** Evaluar la respuesta conductual de la generación F<sub>1</sub> de *Aedes aegypti* (L) colectados en el área metropolitana de Monterrey (Nuevo León, México) frente a tres adulticidas piretroides de uso frecuente en salud pública. **Materiales y métodos.** Se utilizó un sistema modular novedoso denominado HITSS (*High-Throughput Screening System*), para evaluar dos respuestas de comportamiento (irritación de contacto y repelencia espacial), así como la toxicidad de tres insecticidas DDT, permetrina y bifentrina a diferentes concentraciones (0,025, 0,25, 25 y 250 nmol/cm<sup>2</sup>). **Resultados.** En la concentración 2,5 nmol/cm<sup>2</sup>, el DDT (4,3 ± 2,4) y la permetrina (8,0 ± 1,4) son los insecticidas que tienen mayor efecto irritante (p<0,05); la bifentrina requiere dosis 20 veces más alta para lograr efectos similares. En repelencia espacial, los tres insecticidas evaluados producen respuestas similares en todas las concentraciones; para DDT de 7 a 14%; permetrina de 9 a 15% y bifentrina de 19 a 27%. La permetrina y bifentrina a concentraciones 0,025 nmol/cm<sup>2</sup>, producen efectos *knockdown* superiores a 34%, con una mortalidad 19%, el DDT requiere concentraciones 10 veces más alta para lograr efectos similares. **Conclusiones.** El sistema HITSS puede ser usado para evaluar la respuesta conductual frente a insecticidas.

**Palabras clave:** Insecticidas; Repelentes de insectos; Toxicidad; *Aedes aegypti* (fuente: DeCS BIREME).

## BEHAVIOURAL RESPONSE OF *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) EXPOSED TO PYRETHROIDS INSECTICIDES OF FREQUENTLY USE IN PUBLIC HEALTH

### ABSTRACT

**Objectives.** To assess the behavioural response of the F<sub>1</sub> generation of *Aedes aegypti* (L) collected in the Metropolitan area of Monterrey (Nuevo Leon, Mexico) vs. three adulticides pyrethroids frequently used in public health. **Materials and methods.** We used a novel modular system called HITSS (High-Throughput Screening System) to evaluate two behavioral responses (contact irritation and spatial repellency), as well as the toxicity of three insecticides DDT, permethrin and bifenthrin at different concentrations (0.025, 0.25, 25 and 250 nmol/cm<sup>2</sup>). **Results.** In the concentration 2.5 nmol/cm<sup>2</sup>, DDT (4.3 ± 2.4) and permethrin (8.0 ± 1.4) were the insecticides that are more irritating effect (p < 0.05); the bifenthrin requires 20 times higher doses to achieve similar effects. In spatial repellency, the three insecticides tested have had a similar responses at all concentrations; DDT: 7 to 14%, permethrin: 9 to 15% and bifenthrin: 19% to 27%. Permethrin and bifenthrin in 0.025 nmol/cm<sup>2</sup> concentrations, effects knockdown above 34%, with a mortality rate 19%, DDT requires 10 times higher concentrations to achieve similar effects. **Conclusions.** HITSS system can be used to assess the behavioural response to insecticides.

**Key words:** Insecticides; Insect repellents; Toxicity; *Aedes aegypti* (source: DeCS BIREME).

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio de Entomología Médica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México.

<sup>3</sup> Department of Preventive Medicine and Biometrics, Uniformed Services University of the Health Sciences. Bethesda, USA.

<sup>a</sup> Biólogo entomólogo; <sup>b</sup>, <sup>c</sup> faltan profesiones de los autores.

## INTRODUCCIÓN

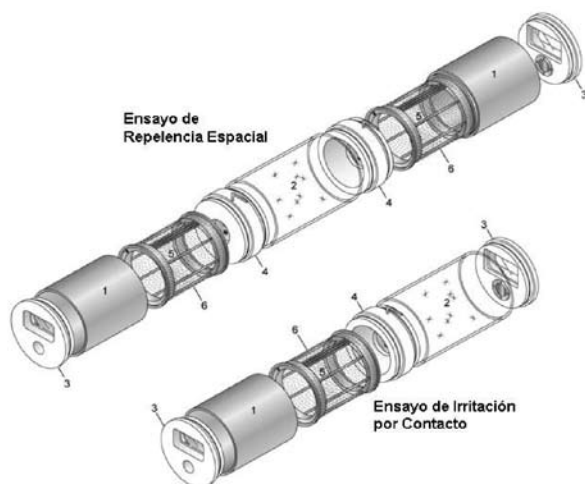
Se han recomendado muchas medidas de control químico contra vectores de enfermedades, algunas como las pruebas de nebulización, ultra bajo volumen (UBV) y el uso de mosquiteros impregnados con insecticidas son medidas efectivas, seguras y prácticas que han tenido impacto en el control de enfermedades metaxénicas<sup>(1-3)</sup>. Todos los métodos de protección personal y para el control vectorial que utilizan insecticidas están basados en la capacidad irritante, repelente y tóxica de éstos productos, por lo que se han propuesto algunas técnicas que evalúen estas características y son muchas las investigaciones que se han desarrollado en relación con la ecología vectorial. Varios tipos de sistemas utilizan la prueba de éxito repelencia para medir las respuestas de comportamiento de los mosquitos frente a los insecticidas<sup>(4-6)</sup>. Sin embargo, ningún sistema ha sido aceptado como un método estandarizado de prueba y análisis de respuestas de repelencia<sup>(7-9)</sup>.

Los estudios de éxito repelencia han sido usados desde 1962 con diversos vectores de malaria, usando versiones modificadas de las cajas de éxito repelencia de la OMS. Últimamente Chareonviriyaphap *et al.*<sup>(10)</sup> usaron un sistema de cámara de escape, que reportó información (contacto de irritabilidad y de repelencia no contacto) para pruebas de respuesta de comportamiento en *Anopheles albimanus* bajo condiciones de laboratorio y campo. Grieco *et al.*<sup>(11)</sup>, describió y desarrolló un novedoso sistema modular de ensayo para la investigación

completa y rápida de los compuestos químicos, este sistema permite evaluar la acción repelente espacial, irritante de contacto y toxicidad de un insecticida contra mosquitos adultos, este dispositivo denominado como Sistema de Investigación de Alto-rendimiento de Procesamiento (HITSS, por sus siglas en inglés), es el que se uso en esta investigación.

Actualmente, con excepción de la respuesta penetrante, no hay sistema de prueba estándar para el estudio de los nuevos productos químicos que afectan el comportamiento del mosquito adulto. Idealmente, el sistema utilizado permite un alto rendimiento de procesamiento (la capacidad de realizar réplicas múltiples con varios tratamientos en periodos cortos), tiene un área superficial de tratamiento que reduce al mínimo la cantidad de producto químico a probar, puede decontaminarse fácilmente, no requiere otros dispositivos mecánicos (e.g., túnel de viento), y proporciona resultados constantes dentro de los tratamientos<sup>(11)</sup>; por lo que nos planteamos como objetivo general de la presente investigación, evaluar la respuesta conductual de *Ae. aegypti* (L), frente a adulticidas piretroides de uso frecuente en salud pública utilizando el dispositivo HITSS.

Los resultados reproducibles de toxicidad e irritación obtenidos en las pruebas biológicas de contacto y actividad espacial de repelencia con este nuevo sistema, proveen una línea de base para determinar la concentración efectiva-residual de los insecticidas químicos de uso frecuente en salud pública (en nuestro caso permetrina (i.a.) y bifentrina (i.a.) en comparación con el DDT). Adicionalmente, los resultados de este trabajo sugieren que el efecto repelente de los insecticidas sobre los mosquitos es un importante factor en los programas de control de *Ae. aegypti* (L).



**Figura 1.** Dibujo esquemático del equipo HITSS (*High-Throughput Screening System Showing*) muestra el equipo base para el análisis de repelencia espacial (arriba) y de la prueba de irritación por contacto (abajo) ensamblados. Los componentes mayores incluye: 1. cilindro de tratamiento (metal); 2. cilindro transparente (plexiglas); 3. tapa; 4. sección de unión; 5. cilindro de tratamiento y 6. red de tratamiento<sup>(11)</sup>.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### CÁMARA DE ENSAYO DE ANÁLISIS DE COMPORTAMIENTO (IRRITACIÓN DE CONTACTO Y REPELENCIA ESPACIAL) ASÍ COMO TOXICIDAD

Para las pruebas de respuesta conductual de *Ae. aegypti* (L) frente a los insecticidas evaluados, se hizo uso de la cámara de ensayo HITSS, propuesto por Grieco *et al.*<sup>(11)</sup>. El sistema tiene un diseño modular que permite examinar dos respuestas de comportamiento, irritación de contacto y repelencia espacial, así como la toxicidad. Los componentes principales del HITSS se describen en la figura 1. El número de módulos y el montaje requerido variaron dependiendo del tipo de análisis que se realizó.

## MOSQUITOS

Los mosquitos utilizados procedieron del área metropolitana de Monterrey (Nuevo León, México) fueron colectados entre los municipios de San Nicolás de los Garza (coordenadas N: 25° 48' 01,2"; W: 100° 16' 34") y Escobedo (coordenadas N: 25° 48' 48,2"; W: 100° 24' 13,8"). Las larvas fueron colectadas en campo utilizando dipers y ducyas de acuerdo a los métodos descrito por Fay y Eliason <sup>(12)</sup>, Reiter *et al.* <sup>(13)</sup>, Villaseca *et al.* <sup>(14)</sup>, Ordóñez *et al.* <sup>(15)</sup> y Vargas <sup>(16)</sup>; las cuales fueron trasladadas en bolsas *whirl-pak* acondicionadas en termos de plástico provistos de agua y protegidos para evitar daños que perjudiquen su vialidad hasta el laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

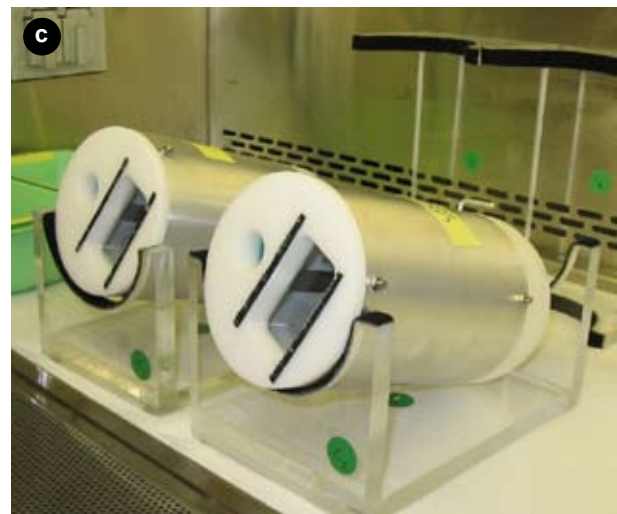
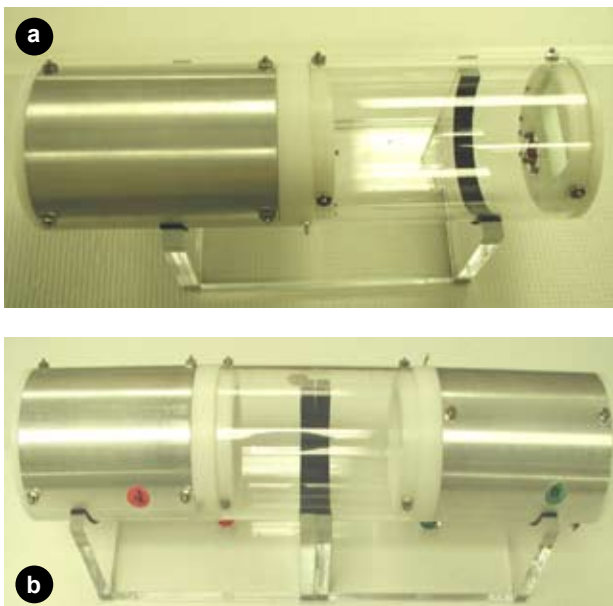
Una vez en el laboratorio, las larvas fueron colocadas en bandejas de plástico de color blanco de 30 x 20 x 5 cm conteniendo un volumen adecuado de agua libre de cloro y acondicionadas en el insectario del laboratorio, a una temperatura de 27 °C, 70% de humedad relativa y un fotoperiodo de 12:12 (D:N). Las larvas I, II, III y IV fueron alimentadas con alimento para peces tropicales tipo hojuelas hasta alcanzar el estado de pupa. Una vez logrado los estadios adultos fueron acondicionadas en jaulas comunes de 30,5 x 30,5 x 30,5 cm proporcionándoles una solución de azúcar al 10% en las primeras horas de su emergencia (24 horas), posteriormente fueron alimentadas con sangre humana hasta lograr posturas de huevos y obtener la generación F<sub>1</sub>, ésta fue la población utilizada en las pruebas experimentales.

Las larvas emergidas de esta generación fueron criadas hasta lograr los estados adultos que fueron sexados; las hembras fueron alimentadas hasta un máximo de 48 h antes de someterlas a las pruebas de respuesta conductual. En este periodo fueron separados en grupos de 15 y 10 hembras en vasos de plástico desechable de 200 mL.

Se dispuso para la prueba de irritabilidad por contacto un total de 720 insectos hembras, separados en grupos de 10 insectos por concentración para los tres insecticidas evaluados y 80 insectos para las pruebas control haciendo un total de 800 hembras. La prueba de repelencia espacial fue realizada con un total de 1620 hembras separadas en 15 insectos por grupo/ concentración a evaluar para los tres insecticidas. Finalmente, para la prueba de toxicidad fue hecha con 1080 hembras separados en grupos de 15 insectos para los tres insecticidas y 120 insectos para las pruebas de control haciendo un total de 1200 insectos hembras; en toda la investigación se utilizó un total de 3600 insectos. Solo las hembras fueron utilizadas en las pruebas experimentales, considerando su importancia en la transmisión de las enfermedades.

## PRUEBAS DE RESPUESTA CONDUCTUAL FRENTE A PIRETROIDES Y CONCENTRACIONES DE EXPOSICIÓN

Las soluciones de tratamiento fueron formuladas a concentraciones reportadas por Grieco *et al.* <sup>(11)</sup>, de 0,025, 2,5, 25 y 250 nmol/cm<sup>2</sup> para el DDT, permetrina y bifentrina utilizando como diluyente acetona. Todas las formulaciones fueron hechas a partir de los ingredientes



**Figura 2.** Ensamblado del equipo del sistema HITSS para **a)** prueba de irritación por contacto; **b)** evaluación de repelencia espacial y **c)** prueba de toxicidad.

activos (i.a). Quince minutos antes de las pruebas, se aplicaron con una micropipeta 3,0 mL uniformemente en las redes de tratamiento (275 cm<sup>2</sup>) del sistema HITSS. Las redes adicionales fueron tratadas con el mismo volumen de acetona que sirvió como blanco (control) en todas las pruebas. Una vez que las redes fueron instaladas en los cilindros de tratamiento, las evaluaciones fueron llevadas a cabo durante todo el día. Se prepararon nuevas redes para cada prueba con un nuevo insecticida así como para los controles. Las redes de tratamiento fueron preparadas al inicio de cada día de prueba.

#### TIEMPO Y SECUENCIA DE LAS PRUEBAS, CONDICIONES DE ENSAYO Y LIMPIEZA DEL SISTEMA HITSS

Los análisis fueron desarrollados dentro de la 1-7 h de haberse tratado las redes con los insecticidas (entre 8.00 y 16.00 horas). En general, los análisis de irritación por contacto y repelencia espacial fueron hechos ocupando todo un día para cada prueba por insecticida. La toxicidad fue evaluada durante una hora por cada insecticida y control, ocupando dos días por insecticida. La temperatura del laboratorio durante las pruebas fue mantenida a 22°C en promedio (con un rango de 21-25°C) y una HR de 47% en promedio (rango de 40-60%). Los análisis fueron hechos al interior de una cámara de extracción de aire. La limpieza del sistema se realizó entre los cambios de los productos químicos a evaluarse con un intervalo de un día entre cada prueba siguiendo las recomendaciones planteadas por Grieco *et al.* Antes de la reutilización de la cámara de respuesta conductual HITSS, se permitió el secado de las piezas lavadas con detergente y la ventilación de la acetona por lo menos durante toda la noche para cada prueba.

#### ENSAYOS DE IRRITACIÓN POR CONTACTO

Para esta prueba, el equipo HITSS fue instalado siguiendo la secuencia de instalación modular recomendado por Grieco *et al.* (Figura 2a). Se transfirieron diez mosquitos al equipo HITSS y 30 segundos después se abrió la válvula tipo mariposa en el punto de unión entre el cilindro claro y el de tratamiento. Después de 10 minutos, la válvula fue cerrada y se llevó a cabo de inmediato el conteo del número de mosquitos escapados y derribados (*knockdown* o postrados de lado y no capaces de levantarse después de haberse sacudido ligeramente la cámara), en el cilindro claro como en el cilindro de tratamiento. Para todos los ensayos con los insecticidas evaluados se llevaron a cabo en forma simultánea pruebas de control utilizando redes tratadas con acetona. La proporción de ensayos de tratamiento a control fue de 1:1. Para las siguientes repeticiones,

los mosquitos tratados fueron extraídos del sistema de ensayo usando un aspirador de succión al interior de una jaula de crianza de insectos. Se hicieron seis repeticiones para cada concentración de insecticida.

#### ANÁLISIS DE REPELENCIA ESPACIAL

Para el análisis de esta prueba, el ensamblado del sistema HITSS se modificó ligeramente (Figura 2b). El cilindro de tratamiento (provisto con la red impregnada de insecticida) se unió al cilindro claro en uno de los extremos, en el otro extremo se unió al cilindro de control provisto de la red impregnada con acetona (control), tal como recomienda Grieco *et al.* Las válvulas se mantuvieron cerradas en el punto unión con ambos cilindros. Se transfirieron 15 mosquitos al compartimiento (central) claro y se cubrió totalmente con un paño oscuro este cilindro. Los puertos de visión en las tapillas de los extremos de los cilindros de control y tratamiento no fueron cubiertos para permitir el paso de la luz el cual sirvió como atrayente para los mosquitos *Ae. aegypti* (L).

Luego de un período de aclimatación de 30 segundos se abrieron simultáneamente las válvulas tipo mariposa. Después de 10 minutos, se cerraron sincronizadamente las válvulas y se hizo el conteo del número de mosquitos derribados (*knockdown*) en ambas cámaras. Los mosquitos se extrajeron de las cámaras usando un aspirador bucal. Entre las réplicas, el sistema ensamblado fue desmontado parcialmente evitando el contacto con cualquiera de los productos químicos o facilitar el volatilizado de éstos.

Para cada una de las pruebas con los insecticidas evaluados como para los controles se llevaron a cabo nueve repeticiones. Se utilizó el índice de actividad espacial (SAI) para evaluar la respuesta de los mosquitos hembras al análisis de repelencia espacial, este indicador está basado en el índice de la actividad de oviposición (OAI) de Kramer y Mulla<sup>(17)</sup>. Los cálculos del SAI para cada replica experimental se hizo utilizando la fórmula propuesta por Grieco *et al.*<sup>(11)</sup>:

$$SAI = (N_c - N_t) / (N_c + N_t)$$

$N_c$  = Número de hembras en el compartimiento de control del equipo HITSS.

$N_t$  = Número de hembras en el compartimiento tratado del dispositivo.

#### ANÁLISIS DE TOXICIDAD

El equipo HITSS fue ensamblado como se muestra en la Figura 2c<sup>(11)</sup>. Después de preparar el equipo y montada la red provista de insecticida, se transfirieron 15 mosquitos a ésta sección cerrando esta unidad a nivel de la válvula tipo mariposa. Después de una hora,

se registró el número de mosquitos caídos (*knockdown*) así como los derribados inmóviles y móviles, para luego ser transferidos a un vaso plástico de recuperación. Estos mosquitos fueron alimentados proporcionándoles una torunda de algodón empapada con azúcar al 10% y fueron devueltos al insectario. La mortalidad en cada una de las dosis/insecticida fue registrada después de 24 horas. La proporción de ensayos de tratamiento a control fue de 1:1. Se hicieron seis réplicas en cada tratamiento y por dosis de insecticida.

#### ANÁLISIS DE DATOS

Los datos obtenidos en las pruebas de irritación por contacto fueron examinados mediante la prueba estadística para dos muestras de Wilcoxon usando el paquete estadístico SPSS 10, a fin de determinar la diferencia entre el número de insectos que escaparon del tratamiento y del control. Los datos del análisis de repelencia espacial fueron evaluados a través de una prueba no paramétrica de forma lineal para determinar si el SAI (índice de actividad espacial) para cada tratamiento es en forma perceptiblemente diferente de cero. Para los datos de la toxicidad, los valores porcentuales de los derribados y de la mortalidad fueron corregidos usando la fórmula de Abbott y transformados los valores hallados a la raíz cuadrada del arcoseno para el análisis

de varianza (ANOVA). Para cada insecticida químico, el derribe como la mortalidad en cada tratamiento fue comparado y analizado usando la prueba estadística de Tukey (HSD) con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . Además se reportaron las medias de  $\pm$  DE (desviación estándar) de los datos transformados.

## RESULTADOS

### IRRITACIÓN POR CONTACTO

Los resultados de irritación por contacto, demuestran un comportamiento general de escape de los mosquitos, del compartimiento de tratamiento al cilindro transparente, directamente proporcional al incremento de las concentraciones en los diferentes insecticidas evaluados (DDT, permetrina y bifentrina). El DDT y la permetrina, son los insecticidas que significativamente tienen mayor efecto irritante para las hembras de *Ae. aegypti* (L), a una concentración de  $2,5 \text{ nmol/cm}^2$  ( $\bar{x} \pm \text{DE}$ :  $4,3 \pm 2,4$  para el DDT y  $8,0 \pm 1,4$  para la permetrina;  $p < 0,05$ ), generando efecto de fuga en más del 50% de los vectores estudiados. En tanto que, la bifentrina requiere de una dosis 20 veces más alta ( $250 \text{ nmol/cm}^2$ ) para lograr efectos similares a los obtenidos por los otros insecticidas ( $\bar{x} \pm \text{DE}$ :  $8,5 \pm 0,8$ ;  $p < 0,05$ ) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Respuestas de hembras de *Aedes aegypti* (L)<sup>1</sup> en el análisis de irritación por contacto a 4 diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina.

Concentración (nmol/ cm <sup>2</sup> )	N° ensayos (N° mosquitos)	N° escapados (media $\pm$ DE)		p <sup>2</sup>
		Control	Tratamiento	
<b>DDT</b>				
0,025	6 (60)	2,50 $\pm$ 0,55	4,33 $\pm$ 2,42	0,092
2,5	6 (60)	2,50 $\pm$ 0,55	5,00 $\pm$ 1,56	0,027
25	6 (60)	2,50 $\pm$ 0,55	5,50 $\pm$ 0,55	0,024
250	6 (60)	2,50 $\pm$ 0,55	5,83 $\pm$ 0,75	0,026
<b>Permetrina</b>				
0,025	6 (60)	5,17 $\pm$ 2,04	7,00 $\pm$ 3,03	0,207
2,5	6 (60)	5,17 $\pm$ 2,04	8,00 $\pm$ 1,41	0,042
25	6 (60)	5,17 $\pm$ 2,04	5,83 $\pm$ 2,40	0,577
250	6 (60)	8,00 $\pm$ 0,00	7,33 $\pm$ 1,03	0,157
<b>Bifentrina</b>				
0,025	6 (60)	8,50 $\pm$ 1,38	8,50 $\pm$ 1,38	0,891
2,5	6 (60)	8,50 $\pm$ 1,38	9,00 $\pm$ 1,67	0,467
25	6 (60)	8,50 $\pm$ 1,38	8,67 $\pm$ 1,03	1,000
250	6 (60)	10,0 $\pm$ 0,00	8,50 $\pm$ 0,84	0,034

<sup>1</sup> Insectos de 2 a 7 días de edad, sin alimentación sanguínea, suspendidos de la alimentación con azúcar 24 horas antes de la prueba.

<sup>2</sup> Valores de p obtenidos con la prueba de Wilcoxon para dos muestras diferentes entre el número de escapados en el tratamiento con insecticida y el tratamiento con acetona (control).

La prueba no paramétrica de Wilcoxon ( $p < 0,05$ ), demostró que para concentraciones mayores de  $0,025 \text{ nmol/cm}^2$  de DDT no existen diferencias significativas entre el control y el tratamiento, por lo que, una dosis de  $2,5 \text{ nmol/cm}^2$  bastaría para producir efecto repelente del más del 50% de los vectores. Con permetrina, la concentración de  $2,5 \text{ nmol/cm}^2$  se reporta como la más adecuada y suficiente para repeler más del 50% de la población de *Ae. aegypti* (L). En permetrina, a la concentración de  $250 \text{ nmol/cm}^2$  existe diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el control y tratamiento para el efecto irritante (Tabla 1), mientras que para las otras concentraciones, no existe tal diferencia. En el caso de la bifentrina, requiere una dosis 20 veces más alta para lograr efectos similares que las conseguidas por el DDT y la permetrina, a una dosis de  $2,5 \text{ nmol/cm}^2$ . Por tanto, este insecticida es el que tiene menor efecto irritante en comparación a los otros insecticidas evaluados.

#### REPELENCIA ESPACIAL

El porcentaje promedio de respuesta en repelencia espacial de las hembras de *Ae. aegypti* (L), fue similar para cada una de las concentraciones evaluadas. El DDT, la bifentrina y la permetrina, producen respuestas repelentes en *Ae. aegypti* (L) en forma similar con un promedio de hembras repelidas de 7 a 27% del total de 15 hembras sometidas a prueba para DDT: 7(7) a 14(8);

permetrina: 9(7) a 15(9) y bifentrina 19(8) a 27(11). Estadísticamente no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) para el porcentaje de la media de respuesta y la media del SAI, en las concentraciones evaluadas (Tabla 2).

#### TOXICIDAD

El DDT requiere de dosis  $> 25 \text{ nmol/cm}^2$  para lograr efectos de derribe (KD) altamente significativos (más de 51% de la población de *Ae. aegypti* (L)), con una mortalidad  $> 19\%$  ( $F = 74,4$ ,  $p < 0,001$ ). Con permetrina, las concentraciones  $> 0,025 \text{ nmol/cm}^2$ , son suficientes para obtener resultados altamente significativos de derribe (KD) ( $> 55\%$ ) y mortalidad ( $> 25\%$ ), ( $F = 49,6$ ,  $p < 0,001$ ). La bifentrina requiere de concentraciones  $> 0,025 \text{ nmol/cm}^2$  para obtener efectos KD en una población de *Ae. aegypti* (L), superiores a 34%; la mortalidad, bajo estas condiciones es  $> 40\%$ , resultados que son altamente significativos ( $F = 35,7$ ,  $p < 0,001$ ).

El análisis bifactorial de toxicidad mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,01$ ) para las respuestas de derribe (KD) a las cuatro diferentes concentraciones (0,025(a), 2,5(b), 25(c) y  $250 \text{ nmol/cm}^2$ (d)) de DDT(a), permetrina(b) y bifentrina(c), demuestran que existe marcada diferencia significativa entre los insecticidas ( $F = 189,3$ ,  $p < 0,001$ ) y las dosis probadas ( $F = 139,4$ ,  $p < 0,001$ ), por lo que cada

**Tabla 2.** Respuestas de hembras de *Aedes aegypti* (L)<sup>1</sup> en el análisis de repelencia espacial a cuatro diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina.

Concentración (nmol/cm <sup>2</sup> )	Nº ensayos (Nº mosquitos)	% de respuesta (media ± DE)	SAI <sup>2</sup> (media ± DE)	SR <sup>3</sup>	P > S
<b>DDT</b>					
0,025	9 (135)	14 ± 7	-0,05 ± 0,41	0,4	0,683
2,5	9 (135)	14 ± 8	-0,11 ± 0,65	-1,4	1,160
25	9 (135)	12 ± 10	-0,11 ± 0,79	0,0	1,000
250	9 (135)	7 ± 7	0,14 ± 0,65	1,0	0,303
<b>Permetrina</b>					
0,025	9 (137)	14 ± 10	-0,01 ± 0,57	0,4	0,683
2,5	9 (137)	10 ± 5	-0,15 ± 0,52	-0,4	0,683
25	9 (138)	9 ± 7	-0,27 ± 0,50	0,0	0,968
250	9 (138)	15 ± 9	-0,26 ± 0,45	0,0	1,000
<b>Bifentrina</b>					
0,025	9 (135)	27 ± 11	-0,28 ± 0,36	0,0	0,968
2,5	9 (135)	19 ± 8	0,01 ± 0,49	0,4	0,683
25	9 (135)	21 ± 14	0,02 ± 0,63	-0,7	0,495
250	9 (139)	19 ± 9	0,14 ± 0,48	-1,4	0,160

<sup>1</sup> Insectos de 2 a 7 días de edad, sin alimentación sanguínea, suspendidos de la alimentación con azúcar 24 horas antes de la prueba.

<sup>2</sup> SAI: índice de actividad espacial de repelencia. Vea el texto para los detalles.

<sup>3</sup> SR: rango estadístico derivado del análisis mediante SPSS 10.

**Tabla 3.** Derribe y mortalidad de hembras de *Aedes aegypti* (L)<sup>1</sup> en el análisis de toxicidad a cuatro diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina.

Concentración (nmol/cm <sup>2</sup> )	N° ensayos (N° mosquitos)	1 h Derribe <sup>2</sup> (media ± DE)	24 mortalidad <sup>2</sup> (media ± DE)	F <sup>3</sup>	p <sup>4</sup>
<b>DDT</b>					
0,025	6 (91)	19 ± 5a	4 ± 5a	74,4	<0,001
2,5	6 (90)	40 ± 4b	12 ± 8ab		
25	6 (90)	51 ± 4c	19 ± 8bc		
250	6 (92)	58 ± 5c	28 ± 7c		
<b>Permetrina</b>					
0,025	6 (90)	55 ± 8a	25 ± 6a	49,6	<0,001
2,5	6 (90)	85 ± 8b	61 ± 7b		
25	6 (91)	95 ± 7bc	96 ± 3c		
250	6 (89)	100 ± 0c	100 ± 0c		
<b>Bifentrina</b>					
0,025	6 (90)	34 ± 11a	40 ± 7a	35,7	<0,001
2,5	6 (90)	48 ± 14a	53 ± 13a		
25	6 (90)	74 ± 6b	78 ± 9b		
250	6 (90)	91 ± 3b	88 ± 0b		

<sup>1</sup> Insectos de 2 a 7 días de edad, sin alimentación sanguínea, suspendidos de la alimentación con azúcar 24 horas antes de la prueba.

<sup>2</sup> El derribe y la mortalidad en los controles fue menor del 1% en su totalidad. Los valores de cada columna señalados por la misma letra no tuvieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las concentraciones de tratamiento.

<sup>3</sup> F es el resultado del Análisis de Varianza para la transformación del arcoseno de la  $\sqrt{\%$  mortalidad corregida.

<sup>4</sup> Nivel de significancia ( $p < 0,01$  altamente significativo).

producto evaluado, estaría ejerciendo efecto diferente, directamente proporcional a las concentraciones ( $F = 5,101$ ,  $p < 0,001$ ). La prueba de Tukey ( $p < 0,01$ ) para la mortalidad, indica que existen diferencias significativas altas entre los efectos causados por el DDT(a) y la permetrina(b), sin embargo dichas diferencias no existen cuando se comparan la bifentrina(b) y la permetrina(b) ( $F = 216,4$ ,  $p < 0,001$ ). En las dosis, las concentraciones 0,025(a), 2,5(b) y 25 nmol/cm<sup>2</sup>(c), son diferentes en el efecto de mortalidad, con alta significancia estadística ( $F = 77,8$ ,  $p < 0,001$ ). La interacción entre los insecticidas y la concentración, demuestra que los productos evaluados y las dosis guardan estrecha relación en cuanto a los efectos alcanzados, no siendo diferentes estadísticamente ( $F = 2,9$ ,  $p = 0,11$ ) (Tablas 3 y 4).

## DISCUSIÓN

Es innegable que la irritación y la repelencia producidas en presencia de un insecticida pueden tener un impacto dramático en la eficacia del control químico sobre los mosquitos vectores, así afectando profundamente la transmisión local de enfermedades <sup>(18)</sup>. El DDT y la

permetrina, dentro de este concepto, resultan ser los insecticidas que significativamente tienen mayor efecto irritante en hembras de *Ae. aegypti* (L), en tanto que bifentrina requiere una dosis 20 veces más alta para lograr efectos similares.

En el análisis de repelencia, los mosquitos de la generación F<sub>1</sub> de *Ae. aegypti* (L) del área Metropolitana de Monterrey (Nuevo León – México), mostraron respuestas similares en todas las concentraciones evaluadas. El posible efecto repelente de los insecticidas sobre estos mosquitos ha sido sugerido como un importante factor en los programas de control de *Ae. aegypti* (L) debido a su naturaleza endofílica y antropofílica, que lo hace un blanco ideal para la aplicación de insecticidas domésticos <sup>(19)</sup>.

Al analizar la toxicidad, la permetrina y la bifentrina son los que generan mayor efecto *knockdown* y mortalidad. Los resultados hallados son importantes porque permiten conocer la respuesta conductual de *Ae. aegypti* (L) frente a los insecticidas evaluados, así como las dosis recomendables a ser aplicadas en tentativos programas de vigilancia y control vectorial que se desarrollen en el

**Tabla 4.** Análisis bifactorial de respuestas de derribe y mortalidad en pruebas de toxicidad de hembras de *Aedes aegypti* (L) frente a cuatro diferentes concentraciones de DDT, permetrina y bifentrina.

Variable	F	P	Prueba de Tukey <sup>1</sup>					
			DDT	Permetrina	Bifentrina	0,025	2,5	25
<b>Derribe (una hora)</b>								
Insecticida	189,3	<0,001	a	b	c			
Concentración	139,4	<0,001				a	b	c
Insecticida/concentración	5,1	<0,001						
<b>Mortalidad (24 horas)</b>								
Insecticida	216,4	<0,001	a	b	B			
Concentración	77,8	<0,001				a	b	c
Insecticida/concentración	2,9	0,11						

<sup>1</sup> Letras diferentes marcan diferencia significativa entre grupos.

<sup>2</sup> Concentraciones expresadas en nmol/cm<sup>2</sup>

área Metropolitana de Monterrey (Nuevo León – México), sin embargo es necesario probar otros insecticidas con el equipo modular HITSS. El diseño modular del sistema toma en cuenta las rápidas repeticiones que se pueden realizar entre un experimento y otro, por lo que en adelante las investigaciones de campo de un insecticida deberían basarse en el uso de este equipo a fin de evitar el desarrollo de resistencia con la consecuente resurgencia en las poblaciones plaga. Los efectos tóxicos de los compuestos experimentales, que incluye el derribe y la mortalidad, deberían ser considerados al evaluar los resultados de las pruebas de respuesta de comportamiento, porque la intensa actividad tóxica podría afectar la habilidad de un mosquito para moverse<sup>(20)</sup>.

El fenómeno de excito-repelencia e irritación, ha generado interés y controversia en término de los resultados hallados y la interpretación que pueden generar para adoptar medidas de control de los vectores o de la enfermedad<sup>(4,21,22)</sup>. Algunos especialistas consideran a la repelencia como la razón del éxito del DDT y otros insecticidas usados como aerosoles residuales, por ser un obstáculo importante para el vector en la transmisión de la malaria<sup>(23-25)</sup>. Sin embargo, otros investigadores han propuesto un reexamen serio de la repelencia a la luz del comportamiento y del poco éxito en el control vectorial.

## AGRADECIMIENTO

Al Laboratorio de Entomología Médica de la Universidad Autónoma de Nuevo León por el apoyo en el desarrollo del estudio. A los doctores Adriana Flores Suárez y Gustavo Ponce García por su contribución en la discusión y análisis de los resultados. A Rosa María Sánchez

Casas, Aldo Ortega, Quetzali Siller, Guadalupe Reyes, Artemio Barragán, Nidya Rodriguez y Haydee Loayza por su ayuda en la colecta y mantenimiento en insectario de la población de insectos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gratz NG. Emergency and control of *Aedes aegypti* as disease vector in urban areas. J Am Mosq Control Assoc. 1991; 7(3): 353-65.
2. Lindsay SW, Adiamah JH, Miller JE, Armstrong JR. Pyrethroid-treated bednet effects on mosquitoes of the *Anopheles gambiae* complex in the Gambia. Med Veter Entomol. 1998; 5(4): 477-83.
3. Sampath TR, Yadav RS, Sharma VP, Adak T. Evolution of lambda-cyhalothrin-impregnated bednets in malaria endemic area of India. Part 2. Impact on malaria vectors. J Am Mosq Control Assoc. 1998; 14(4): 431-36.
4. Roberts DR, Andre RG. Insecticide resistance issues in vectors-borne disease control. Am J Trop Med Hyg. 1994; 50(6 Suppl): 21-34.
5. Rutledge LC, Echana NM, Gupta RK. Responses of male and female mosquitoes to repellents in the World Health Organization insecticide irritability test system. J Am Mosq Control Assoc. 1999; 15(1): 60-64.
6. Chareonviriyaphap T, Prabaripai A, Sungvornyothin S. An improved excito-repellency test chamber for mosquito behavioral test. J Vector Ecol. 2002; 27(2): 250-52.
7. Roberts DR, Chareonviriyaphap T, Harlan HH, Hshieh P. Methods of testing and analyzing excito-repellency responses of malaria vectors to insecticides. J Am Mosq Control Assoc. 1997; 13(1): 13-17.
8. Evans RG. Laboratory evaluation of the irritancy of bendiocarb, lambda-cyhalothrin and DDT to *Anopheles gambiae*. J Am Mosq Control Assoc. 1993; 9(3): 285-93.
9. Chareonviriyaphap T, Roberts DR, Andre RG, Harlan HJ, Manguin S, Bangs MJ. Pesticide avoidance behavior in *Anopheles albimanus*, a malaria vector in the Americas.



- J Am Mosq Control Assoc. 1997; 13(2): 171-83.
10. **Chareonviriyaphap T, Prabaripai A, Bangs MJ.** Excitatory repellency of deltamethrin on the malaria vectors, *Anopheles minimus*, *Anopheles dirus*, *Anopheles swadiwongporni*, and *Anopheles maculatus*, in Thailand. J Am Mosq Control Assoc. 2004; 20(1): 45-54.
  11. **Grieco JP, Achee NL, Chareonviriyaphap T, Suwonkerd W, Chauhan K, Roberts DR.** A new classification system for the actions of IRS chemicals traditionally used for malaria control. PLoS ONE. 2007; 2(8): e716.
  12. **Fay RW, Eliason DA.** A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. Mosq News. 1966; 26: 531-35.
  13. **Reiter P, Amador MA, Colon N.** Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. J Am Mosq Control Assoc. 1991; 7(1): 52-55.
  14. **Villaseca P, León W, Palomino M, Mostorino R, Lecca L.** Validación de sustratos atractivos a oviposición para la detección de *Aedes aegypti*. Rev Med Exp. 2000; 18(3-4): 77-81.
  15. **Ordóñez-Gonzalez JG, Mercado-Hernandez R, Flores-suarez AE, Fernández-Salas I.** Use of the sticky ovitraps to estimate dispersal of *Aedes aegypti* in northeastern Mexico. J Am Mosq Control Assoc. 2001; 17(2): 93-97.
  16. **Vargas M.** Uso de ovitrampas en los programas de prevención y control del dengue. Rev Col MQC Costa Rica. 2002; 8(5): 122-24.
  17. **Kramer WL, Mulla MS.** Oviposition attractants and repellents of mosquitoes: oviposition response of *Culex* mosquitoes to organic infusions. Environ Entomol. 1979; 8(6): 1111-17.
  18. **Sungvornyothin S, Chareonviriyaphap T, Prabaripai A, Thirakhupt V, Ratanatham S, Bangs MJ.** Effects of nutritional and physiological status on behavioral avoidance of *Anopheles minimus* (Diptera: Culicidae) to DDT, deltamethrin and lambda-cyhalothrin. J Vector Ecol. 2001; 26(2): 202-15.
  19. **Surtees G.** The distribution, density and seasonal prevalence of *Aedes aegypti* in West Africa. Bull World Health Organ. 1967; 36(4): 539-40.
  20. **Haynes KF.** Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. Annu Rev Entomol. 1988; 33: 149-68.
  21. **Muirhead-Thomson RC.** The significance of irritability, behaviouristic avoidance and allied phenomena in malaria eradication. Bull World Health Organ. 1960; 22: 721-34.
  22. **De Zulueta J.** The irritability of mosquito to DDT and its importance in malaria eradication. Riv Malariol. 1962; 41: 169-78.
  23. **Bang YH.** Implication in the control of malaria vectors with insecticides in tropical countries of South-East Asia region. Part I. Insecticide resistance. J Commun Dis. 1985; 17: 199-218.
  24. **Bruce-Chwatt LJ.** Global review of malaria control and eradication by attack on the vector. In: Conference on Anopheline Biology and Malaria Eradication. Misc Pubs Entomol Soc Am. 1970; 7: 7-27.
  25. **Roberts DR, Alecrim WD, Hshieh P, Grieco JP, Bangs M, Andre RG, et al.** A probability model of vector behavior: Effects of DDT repellency, irritancy, and toxicity in malaria control. J Vector Ecol. 2000; 25(1): 48-61.

---

Correspondencia: Blgo. Yuri Ayala Sulca, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga  
 Dirección: Portal Independencia N°. 57, Ayacucho, Perú.  
 Teléfono:  
 Correo electrónico: yuriayala27@hotmail.com

**Consulte las ediciones anteriores de la  
 Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública  
 en WWW.SCIELO.ORG.PE**

