

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Tesina presentada para obtener el grado académico de INGENIERO EN RECURSOS
NATURALES Y MEDIO AMBIENTE

DETERMINACIÓN ESTACIONAL Y TEMPORAL DE LOS ESFUERZOS DIRIGIDOS
AL ADECUADO CONTROL DE *Aedes Aegypti* MEDIANTE APLICACIONES
PERIÓDICAS DE BTI (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) EN LA
LOCALIDAD DE SANTA ROSA, LA PAMPA, ARGENTINA.

VICTOR JULIÁN BRESER

SANTA ROSA (LA PAMPA)

ARGENTINA

2012

Prefacio

Esta Tesina es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Ingeniero en Recursos Naturales y Medio Ambiente, de la Universidad Nacional de La Pampa y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad ni en otra Institución Académica. Se llevó a cabo en Laboratorio, dependiente del Departamento de Biología, durante el período comprendido entre el 25 de agosto de 2011 y el 28 de agosto de 2012, bajo la dirección de Dra. MICIELI, María Victoria; y bajo la codirección de Dra. QUIRAN, Estela Maris.

Agradecimientos:

- A la Universidad Nacional de La Pampa por darme la oportunidad de estudiar.
- A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por brindarme las herramientas necesarias para llegar hasta aquí, así como el material y el espacio necesarios para realizar mi tesina.
- A Dra. María Victoria Micieli por aceptar dirigirme y hacerlo en forma impecable.
- Agradecimiento especial a la Dra. Estela Maris Quirán por los consejos y el apoyo incondicional.
- Al Lic. Fernando Diez, sin su ayuda esto no hubiera sido posible.
- A mi familia que me bancó siempre y me permitió llegar hasta acá.
- A mis compañeros que lograron transmitirme su conocimiento.
- A mis amigos que siempre están presentes para liberar estrés.
- A mi novia que supo y sabe soportarme.

28 de agosto de 2012

Victor Julián, BRESER

Departamento de Recursos Naturales

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Resumen

Aedes aegypti Linnaeus es el mosquito antropofílico más estudiado en los últimos tiempos debido a que transmite el virus del dengue, enfermedad presente en gran parte del norte argentino. Hasta el momento no existe vacuna alguna contra esta enfermedad, siendo el control del vector el único medio para prevenirla. En La Pampa se comprueba la presencia del mosquito en 1992, 1998 y actualmente en 2009, 2010 y 2011. Debido a que el culícido varía su comportamiento, época de desarrollo y supervivencia en diferentes latitudes de Argentina, es importante conocer estos parámetros en La Pampa.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar el período de oviposición de *Ae. aegypti* en las cuatro estaciones del año, así como la persistencia del larvicida natural Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) en criaderos artificiales del vector. Se colocaron 5 ovitrampas en diferentes puntos de la ciudad con una revisión semanal. Los huevos recogidos se colocaron en recipientes de cría y se realizaron ensayos para determinar la persistencia y eficacia de Bti.

Como resultado se obtuvo la información necesaria para focalizar los esfuerzos dirigidos al control del vector en la capital de la provincia de La Pampa, Argentina.

Abstract

The anthropophilic mosquito *Ae. aegypti* Linnaeus is one of the most studied in the last years because it transmits the dengue virus, which cause dengue disease, present in much of northern Argentina. So far there is no vaccine against this disease, thus vector control remains the only means to prevent it. In La Pampa this mosquito specie was detected in 1992, 1998 and more recently in 2009, 2010 and 2011. Because this mosquito is able to vary their behavior, development and survival time in different latitudes of Argentina, it's important to know this biological parameters in La Pampa.

The objectives of this study were to determine the period of oviposition of *Ae. aegypti* in the four seasons, and the persistence of natural larvicide Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) on artificial breeding sites of the vector. Five (5) ovitraps were placed in different parts of the city with weekly review. Eggs were placed in containers for breeding and assays were performed to determine the persistence and effectiveness of Bti.

We obtained information useful to target efforts for vector control in the capital of the province of La Pampa, Argentina.

Índice

Introducción.....	1
Los insectos como vectores.....	1
Dengue.....	2
<i>Ae. aegypti</i>	2
Ciclo biológico.....	2
Huevo.....	2
Larva.....	3
Pupa.....	4
Adulto.....	4
Criaderos artificiales.....	5
Morfología del adulto.....	6
Distribución geográfica.....	6
Campaña de erradicación de <i>Ae. aegypti</i> en las Américas.....	7
Control integrado.....	8
Control químico.....	8
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	9
Situación en Argentina.....	10
Plan nacional de prevención y control del dengue y la fiebre amarilla.	10
<i>Ae. aegypti</i> y virus del dengue en la provincia de La Pampa.....	11
Objetivos e hipótesis.....	12
Materiales y métodos.....	13
Área de estudio.....	13
Clima.....	13
Ubicación.....	13
Período de oviposición.....	14
Persistencia de Bti.....	15
Resultados.....	17
Período de oviposición.....	17
Persistencia de Bti.....	26
Discusión.....	28
Conclusión.....	29
Período de oviposición.....	29
Persistencia de Bti.....	29
Referencias bibliográficas.....	31

Introducción

Los insectos como vectores

El rol de los insectos, para transmitir enfermedades ha sido estudiado en todo el mundo, debido a su perjudicial efecto sobre la salud pública (Gulland y Cranston, 2010). A los insectos capaces de transmitir agentes patógenos de un huésped animal o humano a otro se los denomina vectores, generando u ocasionando importantes enfermedades como: malaria, dengue, fiebre amarilla, oncocercosis o ceguera de río, leishmaniasis, filariasis o elefantiasis y tripanosomiasis o mal de Chagas, entre otras (McClelland, 1984).

Entre los insectos vectores más perjudiciales para la sociedad se encuentran los mosquitos, transmitiendo diferentes enfermedades específicamente según su género. Los mosquitos pertenecientes al género *Anopheles* transmiten malaria, los del género *Culex* elefantiasis, los géneros *Culex* y *Aedes* transmiten encefalitis y el género *Aedes* fiebre amarilla y dengue (Beaty y Marquardt, 1996).

Los ejemplos antes mencionados se refieren a transmisión biológica, muy específica entre vector, patógeno y huésped, la cual nunca puede ocurrir de forma natural sin estos 3 componentes. Este tipo de enfermedades se combate disminuyendo la densidad del vector, interrumpiendo el contacto entre vector y huésped o atacando directamente el patógeno, por lo general una vez dentro del huésped (Gulland y Cranston, 2010).

Los organismos que causan enfermedades y son transmitidos por insectos se denominan patógenos, pudiendo ser virus, bacterias, protistas o nematodos. Todos ellos presentan complejos ciclos de vida, replicándose tanto dentro del vector como del huésped. Luego de esta replicación el patógeno puede ser transmitido. El vector se contagia cuando ingiere sangre contaminada con patógenos, mientras que la infección de un huésped ocurre con la inyección de saliva por parte de un vector contaminado (Beaty y Marquardt, 1996).

Cuando un virus puede replicarse dentro de un vector invertebrado y de un huésped vertebrado se lo denomina arbovirus (arthropod borne virus). Entre los arbovirus transmitidos exclusivamente por mosquitos, se encuentran los 4 serotipos del virus del dengue, los cuales ocasionan la enfermedad comúnmente denominada dengue o fiebre rompe huesos (Clements, 2012). Dicha enfermedad es actualmente reconocida como la mayor amenaza mundial, en lo que respecta a enfermedades reemergentes, infectando infinidad de personas cada año y afectando severamente la economía de los países en los cuales sus poblaciones la padecen (Gubler, 2002; Guzman *et al.*, 2010).

Dengue

Se trata de una enfermedad tropical causada por la infección de un virus del género Flavivirus, perteneciente al grupo de los arbovirus. Esta enfermedad, que provoca un intenso dolor óseo y hasta la muerte, es causa de una gran preocupación a nivel mundial (Gubler, 2011, Gibbons y Vaughn 2002). Se caracteriza por un período de incubación de 7 a 10 días, seguido por un cuadro febril agudo de aproximadamente una semana, acompañado de cefalea, mialgias, artralgias, dolor retrorbital, alteraciones gastrointestinales y erupciones maculo papulares (Salvatella, 1996). Durante esta última semana la persona puede transmitir el virus.

Este patógeno posee 4 serotipos (DENV1-4) (Clements, 2012). Una persona puede sufrir la enfermedad y recuperarse, adquiriendo inmunidad a determinado serotipo, aunque aún puede sufrir nuevamente la enfermedad por otro de los serotipos mencionados anteriormente. Las infecciones sucesivas aumentan el riesgo de manifestar dengue hemorrágico, mucho más complicado y hasta letal (Ministerio de Salud de La Nación, 2012). Es importante identificar la procedencia de las personas infectadas al momento de

evidenciarse los síntomas, existiendo dos posibilidades de infección, autóctona o importada. Un caso se dice autóctono en una determinada localidad, cuando la persona es infectada en esa misma localidad, dándonos la certeza de que existe efectiva transmisión del virus en la zona. Por otro lado, un caso se denomina importado cuando se lo detecta en una localidad pero su infección ocurrió en otro lugar. Los casos importados son un reto significativo para las autoridades de sanidad en zonas donde el virus no se ha hecho presente hasta el momento, más aún si existe la presencia del mosquito transmisor. Estas personas deben ser identificadas rápidamente, aisladas y observadas para determinar si el período de contagio sigue presente o ya ha terminado.

La transmisión, en cualquiera de los casos, comienza cuando el mosquito vector se alimenta de la sangre de una persona infectada y el virus pasa a su tubo digestivo. Entre 5 y 20 días después de alimentarse el patógeno migra hacia sus glándulas salivales, pudiendo transmitirlo a una persona sana y susceptible por medio de su saliva (Beaty y Marquardt, 1996).

Una epidemia de dengue presenta un severo golpe a la actividad de las localidades que lo padecen, más allá de las probabilidades de sus formas complicadas. Gran parte de la población queda paralizada y una de las consecuencias inmediatas es la saturación del sistema de salud y la desatención de otras afecciones por falta de recursos. Hasta la actualidad no existe vacuna alguna contra esta enfermedad, siendo el control del vector el único medio para prevenirla y controlar su expansión (Stein *et al.*, 2002).

Los vectores de importancia en salud pública son *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus*. Ambos vectores del dengue están presentes en América siendo el principal vector *Ae. aegypti*, un mosquito con un alto grado de adaptación a ambientes humanos (Rossi y Almirón, 2004). Debido a su importancia sanitaria, diversos estudios se han llevado a cabo para identificar su comportamiento y mejorar su control (Gulland y Cranston, 2010).

Aedes aegypti

Pertenece al orden Diptera y familia Culicidae, es el mosquito antropofílico más estudiado en los últimos tiempos. Aún así, poco se sabe sobre su ecología (Vezzani *et al.*, 2001). Es vector de dos enfermedades, fiebre amarilla urbana y dengue, siendo esta última la que causa mayor preocupación mundial (Gubler, 2002; Guzman *et al.*, 2010).

Ciclo biológico

Cuenta con un ciclo de vida que comprende el estado de huevo, larva, pupa y adulto. Los primeros 3 son acuáticos, mientras que el estado adulto es terrestre y volador (Chistophers, 2009). El ciclo completo de esta especie se concluye aproximadamente en 10 días, aunque puede variar según las condiciones climáticas y geográficas (Grech *et al.*, 2010).

Huevo

Una hembra ovipone en promedio entre 100 y 300 huevos luego de realizar actividad hematófaga, habiéndose registrado como máximo 750 huevos por ejemplar. La longitud de éstos es de 1 mm de largo. Inicialmente presentan una coloración blanca, tornándose negros a la hora de ser ovipuestos (Fig. 1) (Chistophers, 2009). En el momento de la postura, el embrión comenzará a gestarse. Las primeras 48 horas son críticas, donde la temperatura y la humedad son cruciales para su desarrollo. Para completar el desarrollo embrionario requerirá de dos a tres días con humedad óptima. Una vez desarrollada

completamente la larva dentro del huevo es capaz de resistir hasta poco más de un año si las condiciones no son aptas para la eclosión (Thiri6n, 2010).



Fig. 1: Ovitrapa positiva de *Ae. Aegypti*.

Larva

Su vida es acuática y comienza con el primero de cuatro estadios larvales. A medida que se desarrolla mudará su exoesqueleto, abandonando una exuvia por cada muda realizada. Las larvas son vermiformes (Fig. 2) y se alimentan de microorganismos y detritos orgánicos; lo hacen la mayor parte del tiempo, moviéndose activamente para encontrar este alimento filtrando el agua por medio de cepillos bucales; reuniendo la energía necesaria para llevar a cabo las metamorfosis correspondientes con el fin de alcanzar el estado de adulto (Chistrophers, 2009). Las larvas cuentan con una modificación del IX segmento abdominal denominada sif6n, el cual es utilizado para romper la tensi6n superficial del agua y realizar intercambio gaseoso con la atm6sfera, permitiéndole respirar peri6dicamente cada vez que se desplaza hacia la superficie. Las larvas de esta especie son fotof6bicas, huyendo hacia sectores m6s oscuros con movimientos bruscos del abdomen ante cambios en la intensidad de luz (Chistrophers, 2009). El tiempo en el cual completará su estado de larva estar6 determinado por la temperatura, disponibilidad de alimento y densidad larval. Por lo regular ocurre de siete a diez d6as. Cuando la larva tiene las reservas energ6ticas necesarias se dispondrá a mudar hacia el estado de pupa.

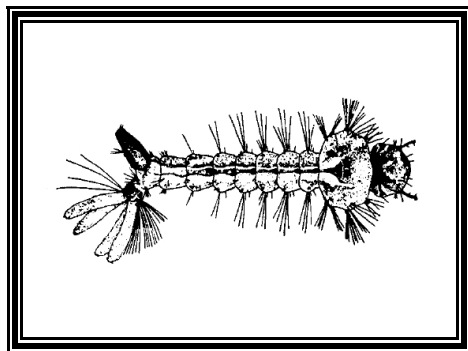


Fig. 2: Larva de *Ae. aegypti*.

Pupa

Es móvil y obtecta, su función es la metamorfosis del estado larval al adulto y el cambio de hábitat acuático por terrestre. La pupa respira mediante las trompetas respiratorias, al hacer contacto con la superficie. Estas se encuentran ubicadas en el cefalotórax, estructura formada entre el tórax y la cabeza (Fig. 3). En el abdomen cuenta con un par de paletas natatorias en forma de remos, que utiliza para nadar. Por lo general este estado durará 48 horas (Chistrophers, 2009). Bajo condiciones desfavorables, el tiempo del cuarto estadio larval se prolongará, dando lugar a pupas y adultos de tamaño más pequeño (Thiri3n, 2010).

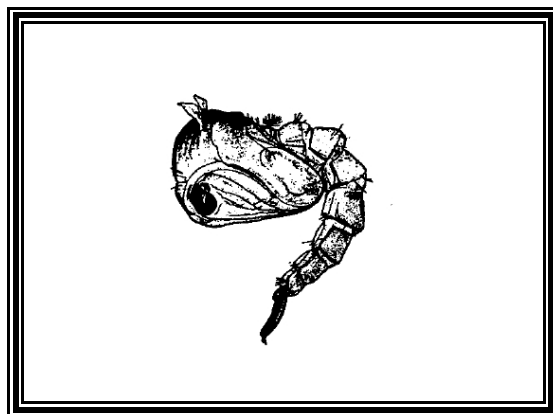


Fig. 3: Estado pupa, *Ae. aegypti*.

Adulto

Al emerger de la exuvia de pupa, el adulto reposará unos minutos sobre la pared del criadero o sobre el agua, acción que le permitirá endurecer el exoesqueleto y las alas (Thiri3n, 2010). Luego buscará refugio entre muebles o lugares húmedos de la casa, donde reposará hasta madurar. El cuerpo del adulto es pequeño, menor a 5 mm de longitud con patas largas. Los machos son pequeños y tienen antenas plumosas, mientras que las hembras poseen antenas filiformes, proporcionando un marcado dimorfismo sexual. En general los adultos de *Ae. aegypti* presentan una longevidad de 30 días aproximadamente (Chistrophers, 2009). Ambos se nutren del néctar de plantas o exudados de frutos y sólo la hembra se alimentará de sangre humana (Fig. 4) o de animales domésticos, los cuales serán detectados por medio de estímulos visuales, movimientos, tamaño, olor, humedad, temperatura, concentración de CO₂, entre otros (Thiri3n, 2010). Al momento de picar la hembra inyectará saliva, la cual tiene un efecto anestésico y anticoagulante, lo que le permitirá no ser detectada y mantener un flujo constante de sangre. El macho también volará en busca de personas o animales domésticos, pero lo hará con la meta de localizar una hembra y aparearse, tarea que realizan suspendidos en el aire. Luego del apareamiento la hembra no volverá a copular, pudiendo producir huevos varias veces con descendencia fértil si se alimenta con sangre antes de cada ovipositura (Fig. 4). Tal acción es necesaria para la maduración de los ovocitos y el aumento de su viabilidad (Chistrophers, 2009). Una vez maduros comenzará la búsqueda de sitios de oviposición, denominados criaderos.

Aedes aegypti proviene originalmente de ambientes silvestres, donde coloca sus huevos en huecos de árboles, troncos caídos, cavidades entre rocas o axilas en hojas de plantas que contengan agua (Rossi y Almir3n, 2004; Thiri3n, 2010). En las ciudades se genera un ambiente propicio para su desarrollo, habitando principalmente dentro o en la periferia de las casas, donde existen reservorios de agua pequeños como bebederos de animales,

macetas, neumáticos, floreros, etc., que utilizará para depositar sus huevos (Vezzani y Schweigmann, 2002; Rossi y Almirón, 2004; Thirión, 2010). La hembra coloca los huevos en las paredes verticales de los criaderos, justo sobre el nivel del agua. De este modo se asegura que los huevos eclosionen luego de ser cubiertos por agua y cuenten con un ambiente acuático adecuado. Distribuirá los huevos de una misma puesta en varios recipientes (Thirión, 2010). Cuando las condiciones sean propicias el mosquito no se alejará del sitio donde emergió, indicando con su presencia la proximidad de criaderos (Thirión, 2010). Cuando las condiciones no son propicias, el mosquito puede desplazarse, esto es denominado transporte activo y le permite a *Ae. aegypti* dispersarse y establecerse dentro de las ciudades. Por otro lado la dispersión a través de medios de transporte (automóviles, trenes, camiones, ómnibus, barcos, aviones, otros) es denominada transporte pasivo y es uno de los factores más importantes de diseminación del vector entre localidades (Rossi y Almirón, 2004).

Las hembras de *Ae. aegypti* se consideran las más eficientes de los mosquitos vectores, debido a que satisfacen todos sus requerimientos dentro o en la periferia del hogar, por lo cual el hombre mantiene un rol muy importante, tanto para su proliferación como para su dispersión (Thirión, 2010).

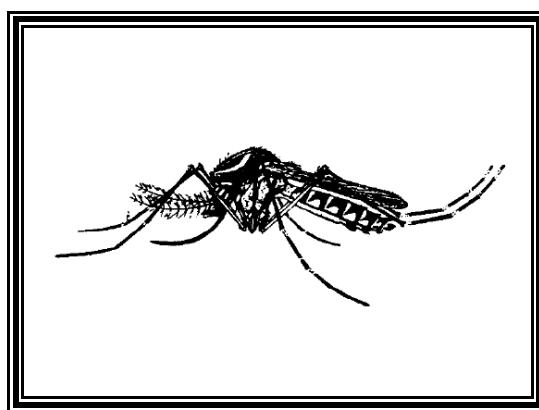


Fig. 4: Hembra de *Ae. aegypti*.

Criaderos artificiales

Como se mencionó anteriormente, los criaderos artificiales encontrados en las ciudades son recipientes o elementos comunes que tienen la capacidad de almacenar agua en su interior (Vezzani y Schweigmann, 2002). Es frecuente observar oviposición de *Ae. aegypti* en cubiertas en desuso, acción que puede deberse a que las mismas reúnen condiciones micro ambientales predilectas para su proliferación, limitando la evaporación y manteniendo un nivel constante de agua en su interior (Ministerio de Salud de La Nación, 2009), siendo muy dificultoso su vaciado o destrucción (Thirión, 2010).

Aun dejando de lado los neumáticos, existe una infinidad de objetos dentro de una zona urbana donde *Ae. aegypti* puede depositar sus huevos, dificultando considerablemente su control (Thirión, 2010).



Fig. 5: Posibles criaderos de *Ae. aegypti*.

Morfología del adulto

El adulto de *Ae. aegypti* es un mosquito oscuro, con manchas blancas producidas por setas y escamas. El mesotórax carece de sutura transversal, formando el escudo, escutelo y postescutelo, observándose marcas de escamas claras en forma de "lira" sobre el escutelo (Darsie, 1985). Este diseño en la parte superior del tórax no es muy visible a simple vista pero es determinante para su identificación. En los tarsómeros de las patas cuenta con bandas basales anchas de escamas claras, visibles a simple vista (Fig. 5) (Darsie, 1985).

Eliminado: .



Fig. 6: Adulto hembra de *Ae. aegypti*. Capturado en Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

Distribución geográfica

Este culicido es originario de África, probablemente oriundo de Etiopía (Gulland y Cranston, 2010), y muy probablemente fue transportado pasivamente hacia América en barcos cargueros (Gulland y Cranston, 2010). Sin control alguno el mosquito fue aumentando su distribución sobre el territorio americano y con excepción de Canadá o áreas donde las condiciones climáticas han impedido su colonización, *Ae. aegypti* infestó todos los países del continente americano. Aunque existieron controles nacionales en la mayor parte de los países infestados en el pasado (Thiri6n, 2010), actualmente la masiva movilizaci6n de personas ha permitido que el mosquito se disperse y establezca

nuevamente, existiendo epidemias de dengue en la mayoría de los países reinfestados (Salvatella, 1996).

Su distribución estacional está marcada principalmente por los períodos de lluvias en regiones tropicales, ya que al aumentar las precipitaciones aumenta el número de criaderos. En regiones templadas la duración del invierno, las temperaturas y las precipitaciones son factores que afectan su densidad (Rossi y Almirón, 2004; Thirión, 2010).

Campaña de erradicación de *Ae. aegypti* en las Américas

Según datos encontrados, se estima que hace más de 200 años que tanto el virus como el vector tienen distribución mundial (Thirión, 2010).

Luego de la Segunda Guerra Mundial, la Organización Panamericana de la Salud organizó una campaña continental de erradicación que comenzó en el año 1948, cuando los brotes de dengue se hacían cada vez más regulares. En 1950 la campaña recibió gran impulso en América Central debido a un brote de fiebre amarilla en Panamá y la posible tendencia de expansión de este virus en dirección norte (Severo, 1955). En ese entonces *Ae. aegypti* era combatido mediante el empleo de un compuesto organoclorado sintético denominado DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano). La utilización del insecticida DDT de manera perifocal (Fig. 7) era muy eficaz y de bajo costo (Severo, 1955).

Aunque el factor financiero contribuyó enormemente al atraso o ineficacia de la campaña en algunos países, gracias al apoyo de la Oficina Sanitaria Panamericana (Severo, 1955) se logró eliminar la presencia del vector en la mayor parte de la región para 1963 (Rossi y Almirón, 2004). Desafortunadamente algunos países restaron importancia al programa, reinfestándose nuevamente para 1970 y expandiendo el vector fuera de sus fronteras al poco tiempo. Para 1995 el culicido ya ocupaba la misma área de la que se lo había desplazado años atrás, logrando con un descuido desperdiciar dos décadas de esfuerzos combinados (Campos, 1993; Vezzani *et al.*, 2001; Rossi y Almirón, 2004; Thirión, 2010).

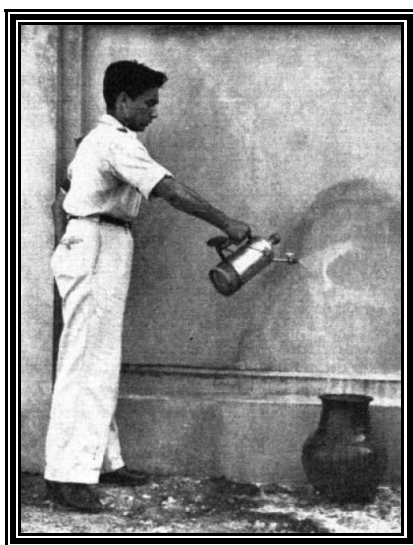


Fig. 7: Aplicación perifocal del insecticida DDT.

Control integrado

El control integrado de *Ae. aegypti* se basa en plantear estrategias que abarquen a todos los sectores de la sociedad vinculados al soporte o dispersión del mosquito, comprendiendo desde:

- Autoridades de Saneamiento, encargadas de mantener libre de criaderos los sectores públicos, fumigar áreas con altas densidades de adultos y controlarlas viviendas con inspectores.
- Autoridades de Salud pública, encargadas de monitorear la expansión del virus y capacitar a los profesionales de la salud para detectar tempranamente síntomas y tratamientos adecuados de la enfermedad.
- Centros de investigación públicos, encargados de mantener la mejor información posible del vector, para ubicar los períodos en que el mosquito sea más vulnerable o métodos de acción más efectivos. Así como también mejorar el conocimiento del virus.
- La comunidad en general, manteniendo libre de criaderos sus viviendas y cooperando con los inspectores domiciliarios.

Entre los efectos más puntuales o coyunturales se encuentra el tratamiento químico realizado por las autoridades de Saneamiento.

La pulverización para controlar altas densidades de adultos siempre es un caso extremo y aconsejable en última instancia, cuando se conoce que los mosquitos adultos cuentan con el virus o existe probabilidad de contagio. Hasta que esto ocurra y para establecer si el mosquito adulto se encuentra presente en la región, se lleva a cabo un muestreo de huevos, el cual determina la presencia o ausencia de culícidos maduros mediante la utilización de ovitrampas. Las ovitrampas son recipientes revisados periódicamente verificando si existen huevos en su interior, implicando el comienzo, continuidad o finalización de los períodos de oviposición.

Otro de los casos de tratamiento químico, aunque esta vez más preventivo que extremo, es la utilización de larvicidas para atacar los posibles criaderos que pudieran contener en su interior larvas del mosquito vector. Esta acción se realiza fácilmente en parques y otras zonas públicas, siendo más complicado a la hora de fumigar viviendas particulares. Con este objetivo en mente, la autoridad de Saneamiento Ambiental debe contar con un grupo de personas capacitadas en la detección de estadios acuáticos del mosquito y la educación de los habitantes de la vivienda. Al momento de ingresar al domicilio los inspectores cuentan todos los posibles criaderos existentes en la vivienda y su periferia, volcando la información recolectada en índices de infestación (número de recipientes infectados, número de casas infectadas, número de recipientes infectados por casa), que le permite a la autoridad competente enfocar los esfuerzos sobre los sectores más vulnerables de la comunidad.

Solo en aquellas oportunidades en que los criaderos no pueden ser invertidos (impidiendo que vuelvan a llenarse con agua) o destruidos, los inspectores utilizan un larvicida para matar las posibles larvas que en él se desarrollen (Thiri6n, 2010).

Control químico

En la mayoría de los países de América se utilizaba el insecticida DDT, mencionado anteriormente, para los programas de control de *Ae. aegypti*. Su eficacia se basaba en que era relativamente estable, de lenta degradación, con buena absorción y resistente a la biodegradación (Severo 1955). En la década del '80 y principios del '90 comenzó a reconocerse que, al igual que otros organoclorados, DDT contaba con

cualidades de bioacumulación por su alta solubilidad en grasas, llegando a afectar el sistema nervioso y producir cáncer (Devine *et al.*, 2008).

El alerta sobre la persistencia del DDT y sus efectos nocivos sobre la salud y medio ambiente indujo a los países mesoamericanos a apoyar la búsqueda de sustitutos con un menor daño ambiental y hacia la salud pública (Devine *et al.*, 2008).

Varias alternativas surgieron para reemplazar al DDT como insecticida en las campañas de control de *Ae. aegypti*, siendo la mayor parte de origen sintético.

Además de los problemas ambientales que generan, se está difundiendo cada vez más la resistencia del vector sobre los insecticidas sintéticos, existiendo numerosos estudios en Brasil (Macoris *et al.*, 1999; Macoris *et al.*, 2003; Macoris *et al.*, 2007; Pereira da Cunha *et al.*, 2005; de Cássia Sousa-Polezzi y Melara de Campos Bicudo, 2004; Beserra *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2004; Campos y Andrade, 2003; Pinheiro y Tadei, 2002; Luna *et al.*, 2004), Argentina (Vezzani *et al.*, 2004; Llinás *et al.*, 2010), Perú (Bisset *et al.*, 2007; Palomino *et al.*, 2006), Panamá (Bisset *et al.*, 2003), El Salvador (Bisset *et al.*, 2009), Colombia (Castro *et al.*, 2007; Santacoloma Varón *et al.*, 2010) y Cuba (Rodríguez *et al.*, 2004; Montada Dorta *et al.*, 2005; Montada Dorta *et al.*, 2007), en los que el resultado fue positivo.

Debido a que los insecticidas utilizados para controlar el vector generalmente son de origen artificial, muy dañinos para el medio ambiente (Martínez *et al.*, 2007; Polanczyk *et al.*, 2003; Melo-Santos *et al.*, 2001) y en su mayoría generalistas, es necesario encontrar sustitutos más específicos y con menor costo ambiental. Entre las posibilidades para su reemplazo se encuentra *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, una opción de control menos nociva para el ambiente (Lacey, 2007; Sauka y Benintende, 2008;).

Bacillus thuringiensis* var. *israelensis

Formulaciones de la bacteria *Bacillus thuringiensis* han sido utilizadas durante décadas como insecticidas biológicos contra plagas agrícolas (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2008), y más recientemente se comenzó a aplicar para el control de insectos vectores de enfermedades (Hofte y Whiteley, 1989; Lacey, 2007; Becker, 2010).

Una de sus variedades, Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*), es un larvicida natural utilizado en todo el mundo con una alta toxicidad selectiva e inocuo para mamíferos, aves, peces e insectos adultos (Sauka y Benintende, 2008; Lacey, 2007). Produce elevadas mortandades en estadios juveniles de mosquitos. Consiste en bacterias esporógenas que, como principal característica, durante el proceso de esporulación generan un compuesto proteínico cristalino muy tóxico, totalmente específico para larvas de culícidos. Estas proteínas se denominan Cry (Crystal) y constituyen la base de este insecticida biológico difundido a nivel mundial (Sauka y Benintende, 2008). Las larvas ingieren las endotoxinas y una vez en su sistema digestivo los cristales se disuelven y liberan fragmentos tóxicos. Estos fragmentos se alojan en las paredes intestinales, generando lisis celular.

Uno de los aspectos más importantes en el uso de Bti es considerar que las toxinas deben ingresar al sistema digestivo de las larvas, por lo cual éstas deben consumirlo. Por lo tanto deben aplicarse dosis adecuadas, en momentos adecuados y considerando períodos de reaplicación. Lo último mencionado surge con la realización de monitoreos permanentes. Melo-Santos (2001) y Pontes (2005) han demostrado una persistencia del larvicida Bti por un período aproximado de 4 semanas. Estos autores remarcan la necesidad de mantener un "efecto residual elevado", conservando la mortalidad por encima del 70% para que los resultados sean efectivos.

Situación en Argentina

En Argentina existen registros de dengue desde 1916. Fue erradicado en el año 1965 como resultado de un programa de erradicación de *Ae. aegypti* llevado a cabo por la Organización Panamericana de Salud anteriormente mencionado. Este mosquito es nuevamente detectado en el norte del país para la década del '80 (Micieli *et al.*, 2006; Vezzani y Carbajo, 2008), recuperando su antigua distribución en poco tiempo (Stein *et al.*, 2002). En 1990 se informa la presencia de *Ae. aegypti* en provincia de Buenos Aires (Campos, 1993; Salvatella, 1996). Los primeros casos autóctonos de dengue se detectan en 1997 en Salta (Avilés *et al.*, 1999). Desde ese entonces se registraron brotes de la enfermedad en Salta en el año 1998, Misiones y Formosa en el año 2000 (Vezzani *et al.*, 2004). Hacia mediados del 2007 Argentina registraba un total acumulado de 4700 casos de dengue notificados oficialmente, y en el 2009, por primera vez en la historia del país, se produjeron múltiples brotes de dengue sobre casi la mitad del territorio nacional, y peligrosamente nos hemos acercado a una epidemia de dengue generalizada (Ministerio de Salud de La Nación, 2012). Desde el 1 de enero del 2012 existen alrededor de 200 casos confirmados de dengue en el país. Se identificaron 6 áreas con circulación del virus para el 2012, la capital de La Rioja, San Ramón de la Nueva Orán, Salvador Mazza, Aguaray y Pichanal (Salta) y a la Ciudad de Buenos Aires. En los casos estudiados se determinaron tres serotipos, DEN-1, DEN-2 y DEN-3 (Ministerio de Salud de La Nación, 2012). Con respecto a la época de desarrollo de *Ae. aegypti* en el país, trabajos realizados anteriormente demuestran una oviposición permanente en la provincia de Salta (Micieli y Campos, 2003), y períodos de oviposición de octubre a mayo para la provincia de Córdoba (Domínguez *et al.*, 2000), de octubre a mayo para la provincia de Buenos Aires (Micieli *et al.*, 2006), de octubre a junio para la provincia de Chaco (Stein *et al.*, 2005) y de enero a marzo para la provincia de Neuquén (Grech *et al.*, 2012).

Plan nacional de prevención y control del dengue y la fiebre amarilla

El Ministerio de Salud de La Nación implementó en el año 2009 un Plan con el fin de afrontar el brote de dengue esperado para ese verano, basándose en una estrategia de control integrado. Esto involucra tanto al gobierno nacional como los gobiernos provinciales y locales, manteniendo un monitoreo de casos y prevención y tratamiento de la enfermedad.

Este Plan incluyó el control de la fiebre amarilla debido a que es el mismo vector el que las transmite, *Ae. aegypti*.

Objetivos generales

- Reducir la mortalidad por parte de estas dos enfermedades.
- Disminuir el riesgo de propagación de brotes y prevenir la endemidad,
- Reducir el impacto socioeconómico que causan tanto el dengue como la fiebre amarilla.

Estrategias generales

- Unificar políticas de conducción y generar una mesa de gestión integrada,
- Federar el plan en el Consejo Federal de Salud (COFESA),
- Regionalizar el plan en los Consejos Regionales de Salud (CORESA).

Metas puntuales

- Vigilancia epidemiológica. Detectar y notificar tempranamente reapariciones del virus en la sociedad,
- Atención al paciente. Garantizar tratamientos adecuados y evitar muertes,

- Control entomológico integrado. Vigilancia entomológica y acciones de control,
- Ambiente. Un ordenamiento ambiental disminuye riesgo de transmisión.
- Laboratorio virológico. Determinar oportunamente serotipos y orientar acciones,
- Comunicación social y participación comunitaria. Mejorar conocimientos, actitudes y prácticas de la población y las instituciones con relación a la prevención y control de la enfermedad.

***Aedes aegypti* y el virus del dengue en la provincia de La Pampa**

No existen registros del virus en la provincia (Ministerio de Salud de La Nación, 2012).

Con respecto a la situación de *Ae. aegypti* en La Pampa, la presencia del mosquito se comprueba en el año 1992 en la localidad de Toay (Carpintero y Leguizamón, 2004) y de ahí en adelante no hay registros hasta 1998, cuando se detecta oviposición en la localidad de Realicó (Curto, 2002). Actualmente se comprueba su presencia en la ciudad de Santa Rosa (Diez *et al.*, 2009; Diez *et al.*, 2010; Diez *et al.*, 2011; Breser *et al.*, 2010).

El avance en su distribución sur posiblemente se encuentre influenciado por el calentamiento global, ya que es una especie de hábitat tropicales y subtropicales (Vezzani y Carbajo, 2008).

Debido a que el culícido se encuentra establecido en la ciudad y éste varía su época de desarrollo y supervivencia, en diferentes latitudes de Argentina, es de crucial importancia sanitaria determinar su comportamiento en la localidad de Santa Rosa, provincia de La Pampa. El presente trabajo se realizó con el fin de obtener la información necesaria para focalizar los esfuerzos dirigidos al control del vector, de manera que esto pueda llevarse a cabo en forma preventiva ante casos de dengue autóctono.

Objetivos e hipótesis

Objetivos

Objetivo general:

- Determinación estacional y temporal de los esfuerzos dirigidos al correcto control del mosquito transmisor del dengue en la ciudad de Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

Objetivos específicos:

- 1) Determinar el período de oviposición del *Ae. aegypti* en las cuatro estaciones del año.
- 2) Persistencia de larvicida Bti en criaderos artificiales del vector.

Hipótesis

- 1) El período de oviposición de *Ae. aegypti* en Santa Rosa, La Pampa varía con respecto a otras provincias del país.
- 2) La capacidad larvicida de Bti en criaderos artificiales de *Ae. aegypti* en Santa Rosa, La Pampa tiene una persistencia de 4 semanas.

Materiales y métodos

Área de estudio

El área de estudio está comprendida en la ciudad de Santa Rosa ($36^{\circ}37'14.76''$ S, $64^{\circ}17'24.22''$ O), Departamento Capital, provincia de La Pampa. Esta ciudad cuenta con una población superior a los 100 mil habitantes y una superficie de más de 2000 hectáreas (Secretaría de Turismo, Gobierno de La Pampa).

Clima

Se encuentra ubicada dentro de una región hídrica Subhúmeda - seca, con una precipitación media anual próxima a los 600 mm y una evapotranspiración potencial cercana a los 800 mm, generando un déficit de aproximadamente 200 mm de humedad. Las mayores precipitaciones mensuales ocurren en el semestre estival. Los picos se encuentran en los meses de octubre y/o marzo. Las precipitaciones mínimas se focalizan en invierno, en el mes de agosto. Las enormes variaciones en las precipitaciones, tanto en los totales mensuales como en los totales anuales, son características de la región (Cano, 2004).

Cuenta con un clima templado, con una media de 15°C aproximadamente, aunque existe una gran amplitud térmica. En el verano la temperatura media es de 24°C (se calcula a partir del mes más caliente, enero), mientras que en la estación invernal la temperatura media del mes más frío (julio) es de alrededor de 8°C . La temperatura máxima anual media es de unos 40°C (Cano, 2004).

Las heladas, temperaturas iguales o inferiores a 0°C ocurrida a menos de 1,50 m. de altura, se proyectan desde finales de abril hasta principios de octubre (Cano, 2004).

Ubicación

La provincia de La Pampa se encuentra ubicada en el centro de la República Argentina, y su capital, Santa Rosa, en la parte Noreste de la misma (Fig. 7).

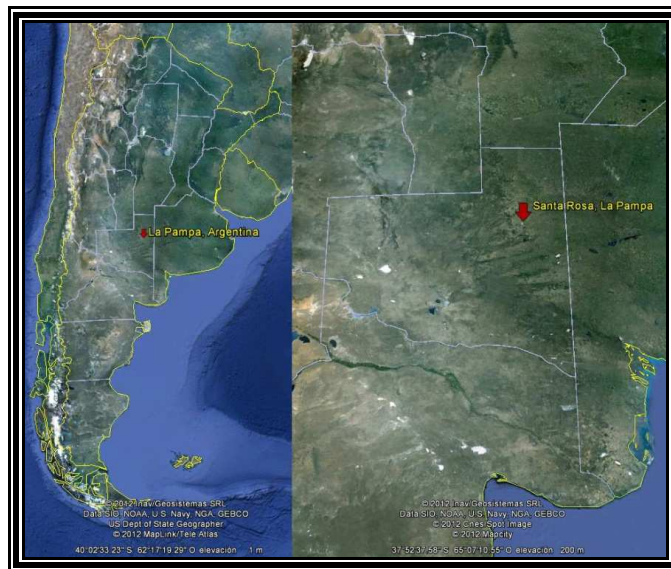


Fig. 8: Área de estudio, Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

Período de oviposición

Para determinar el período de oviposición de *Ae. aegypti* en Santa Rosa se dispusieron 5 ovitrampas en diferentes puntos de la ciudad (Fig. 8).

- Domicilio 1: 36°37'43.11"S, 64°16'35.06"O.
- Domicilio 2: 36°37'58.01"S, 64°16'49.88"O
- Domicilio 3: 36°37'37.32"S, 64°17'0.10"O.
- Terminal de ómnibus: 36°37'13.81"S, 64°16'48.27"O.
- Antigua estación de tren: 36°36'59.72"S, 64°17'33.28"O.



Fig. 9: Localización de ovitrampas en la ciudad de Santa Rosa. 1. Domicilio 1; 2. Domicilio 2; 3. Domicilio 3; 4. Terminal de ómnibus; 5. Antigua estación de tren.

Dichas acciones tuvieron inicio en enero 2011 y fueron llevadas a cabo hasta mediados de este año, concluyendo en mayo del 2012. Se examinaron las ovitrampas semanalmente. Las ovitrampas se constituyeron con el empleo de botellas de plástico de 2,25 lts cortadas a $\frac{3}{4}$ partes, presentando boca ancha, con un radio de 5 cm y superficie exterior color negro mate (Fig.9). Se las llenó con 1 lt de agua libre de cloro, cubriendo aproximadamente $\frac{2}{3}$ partes del recipiente, y se les colocó pasto cortado en pequeños trozos en su interior. También se tomaron de a dos paletas baja-lengua unidas por un extremo, generando tabletas más extensas, y se introdujeron en el interior de los recipientes como substrato para la colocación de huevos. Esta medida se realizó con el fin de poder retirar la superficie con oviposición efectiva y colocar una nueva paleta, sin la necesidad de retirar el criadero para su posterior exanimación (Fig.9).

Además se verificó que el nivel de agua sea el indicado, en la medida que fue necesario se agregó la cantidad necesaria de agua para mantener constante el nivel anteriormente indicado dentro de las ovitrampas. Las paletas baja-lengua positivas fueron retiradas y cuantificados sus huevos, colectando datos suficientes para determinar el período de oviposición de *Ae. aegypti* en la localidad (Micieli *et al.*, 2006, Stein *et al.*, 2005).



Fig. 10: Ovitrampas confeccionadas, colocación y observación de oviposición.

Conjuntamente se estableció el número promedio de huevos ovipuestos por ovitrampa. Las paletas positivas recolectadas se reemplazaron por nuevas y se conservaron en seco para utilizar los huevos en ensayos de persistencia de Bti. Debieron recolectarse nuevamente en el período de oviposición 2012 debido a un fallo en el método de conservación.

Los datos de oviposición fueron analizados con el test de Kruskal-Wallis y el post-test de Dunn para verificar cuál fue el momento de mayor actividad de oviposición. Asimismo, se recolectaron datos semanales de temperatura, humedad y precipitación en la ciudad, comparándolos mediante análisis de correlación de Spearman para estimar cuál de estas variables explica la variabilidad en la oviposición. Los datos fueron obtenidos de la estación meteorológica del aeródromo de Santa Rosa.

Persistencia de Bti

Se realizaron 2 ensayos de laboratorio para determinar la mortalidad larval y residuabilidad de Bti en instalaciones de la cátedra de Biología de Invertebrados II. Este experimento se realizó en cámara de cría bajo las siguientes condiciones: temperatura de $25 \pm 4^\circ\text{C}$ y un fotoperíodo de 14:10 hs luz/oscuridad. En cada ensayo se emplearon 4 recipientes conteniendo 650ml de agua libre de cloro en su interior (Fig.10). En 3 de ellos se colocó 0.5ml de Bti (gentileza de la empresa EXTER SRL), mediante el uso de micropipeta.

Los recipientes fueron nombrados tratamiento 1, tratamiento 2 y tratamiento 3. El 4to recipiente se denominó control (en el cual no se agregó el larvicida). En los 4 recipientes se agregó 20mg de balanceado triturado de conejo (Carvalho *et al.*, 2003), como alimento para las larvas. Junto con el alimento se agregaron 10 larvas de *Ae. aegypti* (L IV) (Fig.10). Se observó la evolución luego de los 7 días de la semana, verificando la mortalidad tanto en los tratamientos como en el control. Al comienzo de la siguiente semana se volvió a repetir el proceso, colocando nuevas larvas y producto balanceado, sin reponer el Bti, ya que el fin del experimento fue verificar su efecto residual. Al transcurrir las semanas se fue agregando agua perdida por evaporación, así como también se repuso el balanceado consumido.

En este estudio se optó por colocar las larvas en los recipientes una vez alcanzado el estadio 4, debido a la dificultad que se presenta al momento de contabilizar eclosiones o

mortalidades de L1, L2 si se colocaban en los recipientes directamente los huevos del vector.

Se aplicó 0.5ml (5 gotas aproximadamente) de Bti por recipiente en todos los casos, ya que esta es la dosis recomendada por varias empresas, incluida la compañía creadora del producto utilizado (EXTER SRL).



Fig. 11: Ensayos con Bti, recipientes con larvas y alimento balanceado molido.

Los datos fueron analizados mediante el test no paramétrico Kruskal-Wallis, para verificar si existieron diferencias entre las mortalidades en los tratamientos y el control.

Resultados

Período de oviposición

Se analizaron 18 semanas de muestreo, equivalentes a los primeros 5 meses del año 2011 (desde el 19 de enero hasta el 15 de mayo), período en el que se detectó oviposición. Los datos obtenidos en el segundo período muestreado (enero-mayo 2012), solo se utilizaron para ayudar a determinar el período de oviposición. Esto fue debido a repetidas desapariciones de ovitrampas, modificaciones en los sitios de muestreo y el encuentro de ovitrampas anuladas o vaciadas, que impidieron una correcta recolección de datos.

Se obtuvieron un total de 2437 huevos en el período de oviposición 2011, con un promedio de 487 huevos recolectados por ovitrampa.

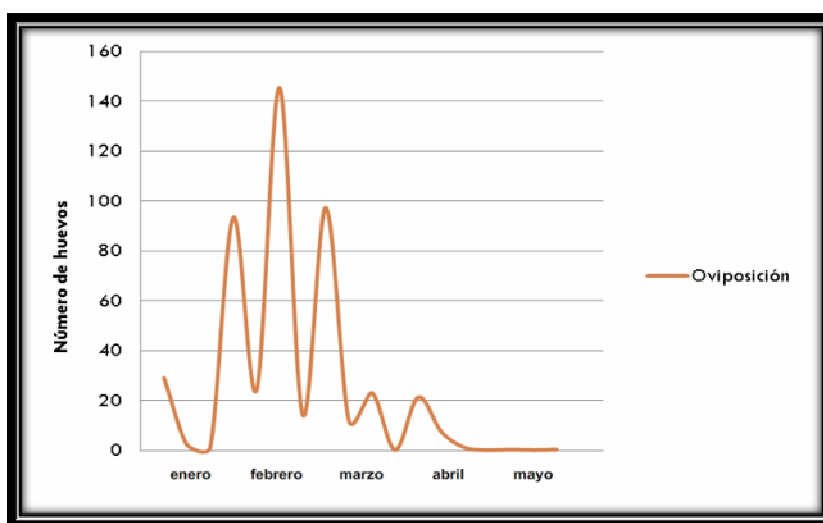


Fig. 12: Cantidad de huevos ovipuestos por semana entre las 5 ovitrampas observadas, durante el período de oviposición 2011.

Test no paramétrico Kruskal-Wallis.

Se realizó un test no paramétrico con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre la cantidad de huevos recolectados durante las diferentes semanas muestreadas.

Como se observa en la tabla 1, el análisis estadístico mostró diferencias significativas.

Tabla1: Resultados del análisis estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis.

Estadísticos de contraste ^{a,b}	
	ovitrampas
Chi-cuadrado	44,534
gl	17
Sig. asintót.	,000
a. Prueba de Kruskal-Wallis	
b. Variable de agrupación: semanas	

Post test de Dunn.

Para verificar cuales fueron las semanas entre las cuales se observaron diferencias significativas se efectuó el post test de Dunn. Se obtuvieron los parámetros necesarios (tabla 2), y se procedió con el ejercicio de determinación (tabla 3 y 4).

Tabla2: Obtención de valor 1-alfa, Z estándar y diferencia teórica a partir del alfa.

Alfa =	0,0001633
1-alfa =	0,999836
Z =	3,592119
$\Delta = Z\sqrt{((N(N+1)/12)((1/n_i)+(1/n_j))}$	

Tabla3: Resultados de la ecuación mencionada en la tabla anterior para cada semana con respecto al resto.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	5,17	5,91	2,60	3,00	2,53	3,28	2,59	3,40	3,02	-	3,06	3,75	6,21	-	9,65	-	9,65
2		6,66	5,10	5,19	5,09	5,26	5,10	5,30	5,19	-	5,20	5,42	6,89	-	9,89	-	9,89
3			5,87	5,93	5,86	5,98	5,87	6,01	5,93	-	5,94	6,10	7,28	-	10,05	-	10,05
4				2,71	2,00	3,06	2,10	3,20	2,73	-	2,78	3,60	6,17	-	9,63	-	9,63
5					2,65	3,34	2,70	3,46	3,10	-	3,14	3,80	6,22	-	9,65	-	9,65
6						3,02	1,98	3,16	2,68	-	2,73	3,57	6,16	-	9,63	-	9,63
7							3,05	3,66	3,36	-	3,39	3,96	6,27	-	9,67	-	9,67
8								3,19	2,73	-	2,78	3,60	6,17	-	9,63	-	9,63
9									3,47	-	3,50	4,04	6,29	-	9,67	-	9,67
10										-	3,15	3,81	6,22	-	9,65	-	9,65
11														-		-	
12												3,83	6,23	-	9,65	-	9,65
13													6,37	-	9,70	-	9,70
14																10,13	10,13
15																	
16																	11,68
17																	

Tabla4: Diferencia de rangos promedios para cada semana con respecto al resto.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	3,5	4,2	-21,8	-32,1	-44	-13,2	-30,4	-4,6	-22,6	11,4	-12,2	-4,5	4,5	11,4	5,6	11,4	5,6
2		0,7	-25,3	-35,6	-47,5	-16,7	-33,9	-8,1	-26,1	7,9	-15,7	-8	1	7,9	2,1	7,9	2,1
3			-26	-36,3	-48,2	-17,4	-34,6	-8,8	-26,8	7,2	-16,4	-8,7	0,3	7,2	1,4	7,2	1,4
4				-10,3	-22,2	8,6	-8,6	17,2	-0,8	33,2	9,6	17,3	26,3	33,2	27,4	33,2	27,4
5					-11,9	18,9	1,7	27,5	9,5	43,5	19,9	27,6	36,6	43,5	37,7	43,5	37,7
6						30,8	13,6	39,4	21,4	55,4	31,8	39,5	48,5	55,4	49,6	55,4	49,6
7							-17,2	8,6	-9,4	24,6	1	8,7	17,7	24,6	18,8	24,6	18,8
8								25,8	7,8	41,8	18,2	25,9	34,9	41,8	36	41,8	36
9									-18	16	-7,6	0,1	9,1	16	10,2	16	10,2
10										34	10,4	18,1	27,1	34	28,2	34	28,2
11											-23,6	-15,9	-6,9	0	-5,8	0	-5,8
12												7,7	16,7	23,6	17,8	23,6	17,8
13													9	15,9	10,1	15,9	10,1
14														6,9	1,1	6,9	1,1
15															-5,8	0	-5,8
16																5,8	0
17																	-5,8

En la tabla 4 pueden apreciarse las semanas contrastadas. Los valores marcados con color amarillo representan diferencias significativas entre las semanas observadas en los ejes.

En segundo lugar los datos de oviposición y climáticos obtenidos se separaron en semanas y meses para poder apreciar con mayor detalle la información.

Los datos expuestos en las tablas 5 y 6 fueron utilizados para verificar si existe correlación entre diferentes parámetros ambientales (temperatura media, humedad media y precipitaciones acumuladas) y el período de oviposición.

Tabla5: Variación mensual del número de huevos de *Ae. aegypti* y condiciones ambientales registradas en la ciudad de Santa Rosa, para el año 2011.

Meses	Número de huevos promedio	Temperatura media	Humedad media	Precipitación acumulada
Enero	49	23,1	57,2	137,42
Febrero	276,4	21,7	65,7	44,19
Marzo	132	19,9	62	235,2
Abril	29,6	16,3	55,6	112,02
Mayo	0,4	11,6	70,8	25,14

Tabla6: Variación semanal del número de huevos de *Ae. aegypti* y condiciones ambientales registradas semanalmente en la ciudad de Santa Rosa, para el año 2011.

Semanas	Número de huevos promedio	Temperatura media	Humedad media	Precipitación acumulada
1	29	21,46	48,6	35,05
2	2	25,12	52,83	0
3	1,2	22,89	56,89	37,09
4	93,4	20,75	65,7	2,28
5	24	23,01	64	0
6	145,4	21,26	71,71	13,97
7	14,2	23,97	59,71	0
8	97,2	21,91	69,14	42,16
9	11,8	17,53	58,14	0
10	23	17,26	63,71	193,04
11	0	18,49	56,29	0
12	21,2	17,84	57	0
13	7,4	16,2	53	3,05
14	1	15,53	44,71	0
15	0	14,24	69,43	127
16	0,2	12,07	60,14	0
17	0	12,44	74,43	7,11
18	0,2	12,6	72,86	0

Los datos semanales y mensuales de temperatura media, humedad media y precipitaciones acumuladas comparados mediante análisis de correlación de Spearman determinaron que solo la temperatura media semanal mantiene una correlación significativa con el período de oviposición.

Los resultados de cada parámetro y período de tiempo pueden observarse a continuación.

Número de huevos semanales y Temperatura media semanal

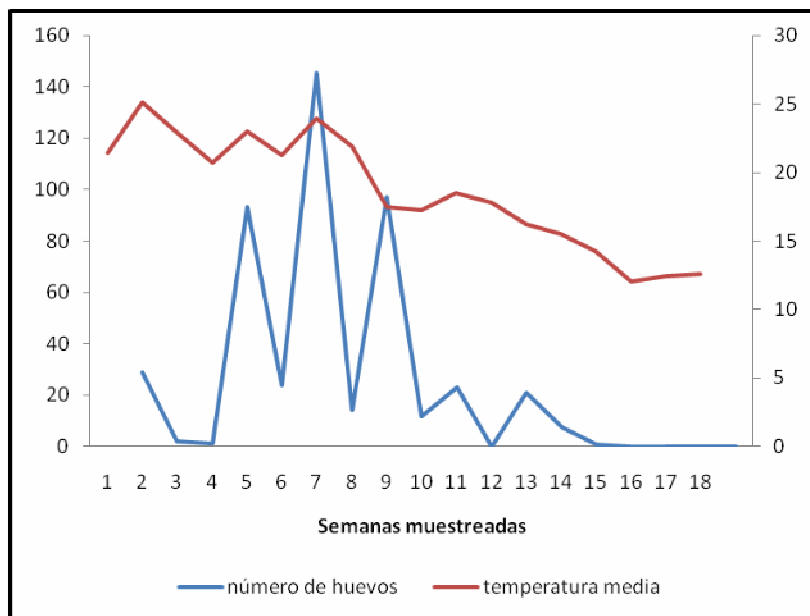


Fig. 13: Cantidad de huevos recolectados por semana y temperatura media semanal. Para las 18 semanas del período de oviposición 2011.

Tabla7: Análisis de correlación de Spearman, para el número semanal de huevos recolectados de *Ae. aegypti* y la temperatura media semanal registrada en la ciudad de Santa Rosa, para las 18 semanas de oviposición del año 2011.

Correlaciones				
			Número De huevos	Temperatura media
Rho de Spearman	Número De huevos	Coeficiente de correlación	1,000	,566*
		Sig. (bilateral)	.	,014
		N	18	18
	Temperatura media	Coeficiente de correlación	,566*	1,000
		Sig. (bilateral)	,014	.
		N	18	18

*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Número de huevos semanales y Humedad media semanal

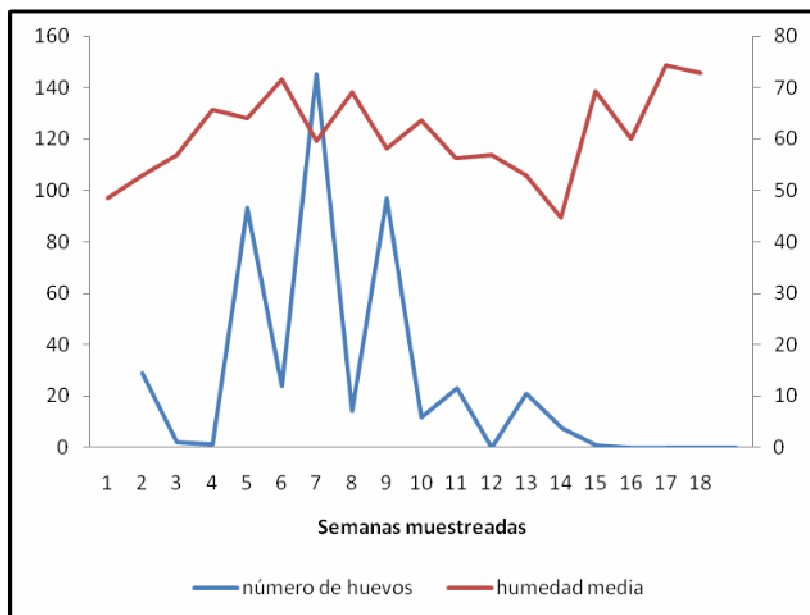


Fig. 14: Cantidad de huevos recolectados por semana y humedad media semanal. Para las 18 semanas del período de oviposición 2011.

Tabla8: Análisis de correlación de Spearman, para el número semanal de huevos recolectados de *Ae. aegypti* y la humedad media semanal registrada en la ciudad de Santa Rosa, para las 18 semanas de oviposición del año 2011.

Correlaciones				
			Número De huevos	Humedad media
Rho de Spearman	Número De huevos	Coefficiente de correlación	1,000	,039
		Sig. (bilateral)	.	,877
		N	18	18
	Humedad media	Coefficiente de correlación	,039	1,000
		Sig. (bilateral)	,877	.
		N	18	18

Número de huevos semanales y precipitaciones acumuladas semanalmente

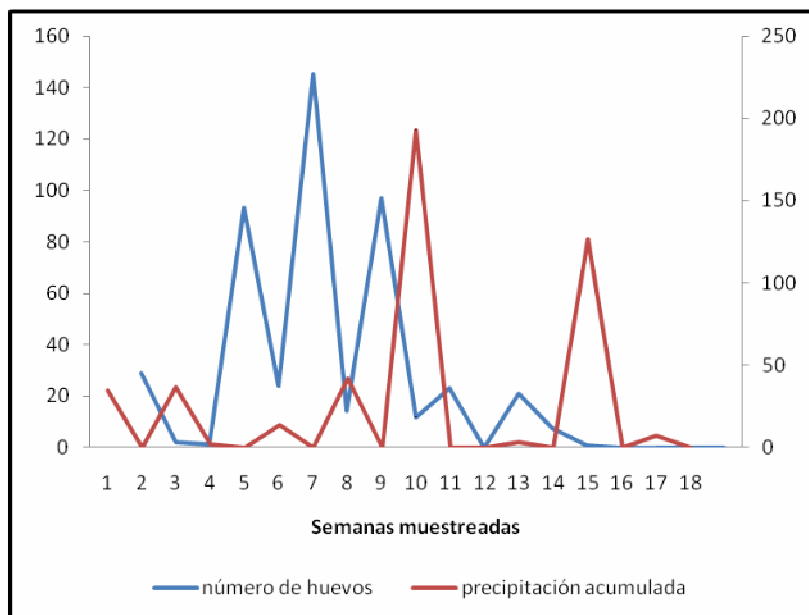


Fig. 15: Cantidad de huevos recolectados por semana y precipitaciones acumuladas semanalmente. Para las 18 semanas del período de oviposición 2011.

Tabla9: Análisis de correlación de Spearman, para el número semanal de huevos recolectados de *Ae. aegypti* y las precipitaciones acumuladas semanalmente registradas en la ciudad de Santa Rosa, para las 18 semanas de oviposición del año 2011.

Correlaciones				
			Número De huevos	Precipitaciones acumuladas
Rho de Spearman	Número De huevos	Coeficiente de correlación	1,000	,238
		Sig. (bilateral)	.	,342
		N	18	18
	Precipitaciones acumuladas	Coeficiente de correlación	,238	1,000
		Sig. (bilateral)	,342	.
		N	18	18

Número de huevos mensuales y temperatura media mensual

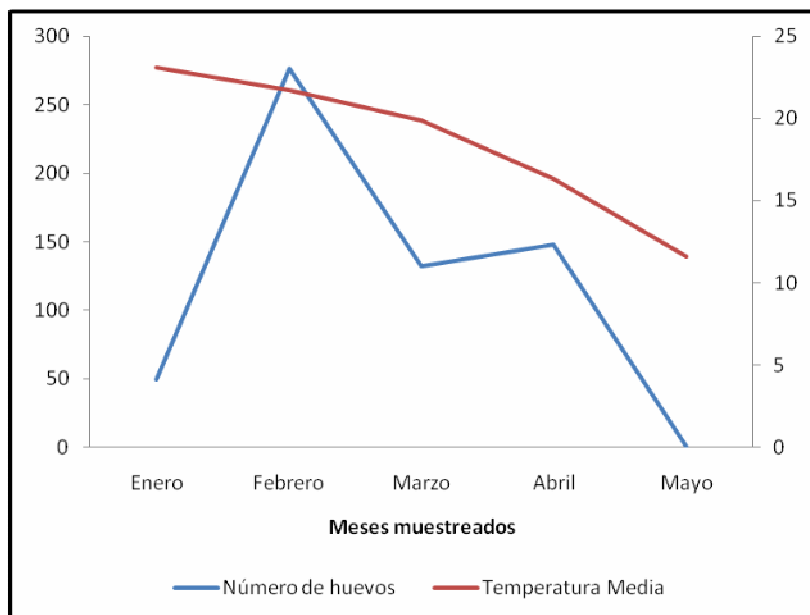


Fig. 16: Cantidad de huevos recolectados por mes y temperatura media mensual. Para los 5 meses del período de oviposición 2011.

Tabla10: Análisis de correlación de Spearman, para el número mensual de huevos recolectados de *Ae. aegypti* y la temperatura media mensual registrada en la ciudad de Santa Rosa, para las 18 semanas de oviposición del año 2011.

Correlaciones				
			Número De Huevos mensuales	Temperatura Media mensual
Rho de Spearman	Número De Huevos mensuales	Coeficiente de correlación	1,000	,700
		Sig. (bilateral)	.	,188
		N	5	5
	Temperatura Media mensual	Coeficiente de correlación	,700	1,000
		Sig. (bilateral)	,188	.
		N	5	5

Número de huevos mensuales y humedad media mensual

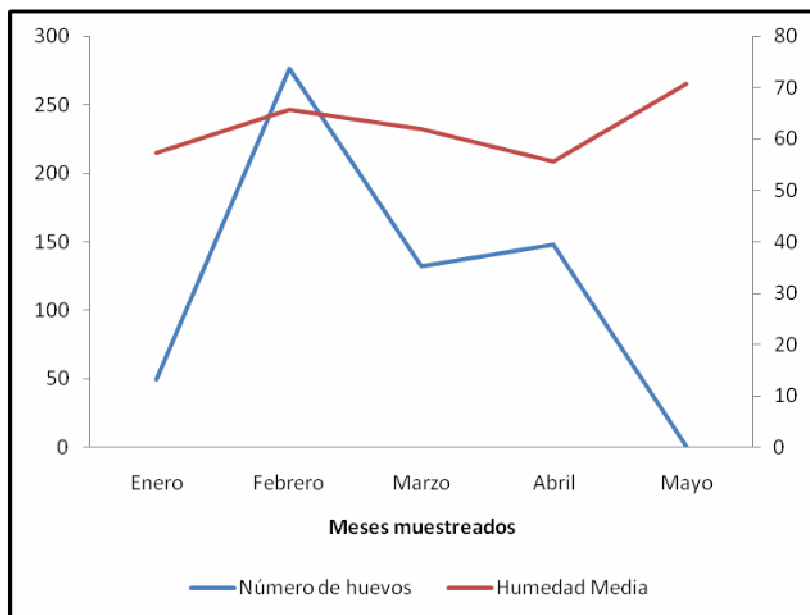


Fig. 17: Cantidad de huevos recolectados por mes y humedad media mensual. Para los 5 meses del período de oviposición 2011.

Tabla 11: Análisis de correlación de Spearman, para el número mensual de huevos recolectados de *Ae. aegypti* y la humedad media mensual registrada en la ciudad de Santa Rosa, para las 18 semanas de oviposición del año 2011.

Correlaciones				
			Numero De Huevos mensuales	Humedad Media mensual
Rho de Spearman	Numero De Huevos mensuales	Coeficiente de correlación	1,000	,000
		Sig. (bilateral)	.	1,000
		N	5	5
	Humedad Media mensual	Coeficiente de correlación	,000	1,000
		Sig. (bilateral)	1,000	.
		N	5	5

Número de huevos mensuales y precipitaciones acumuladas mensualmente

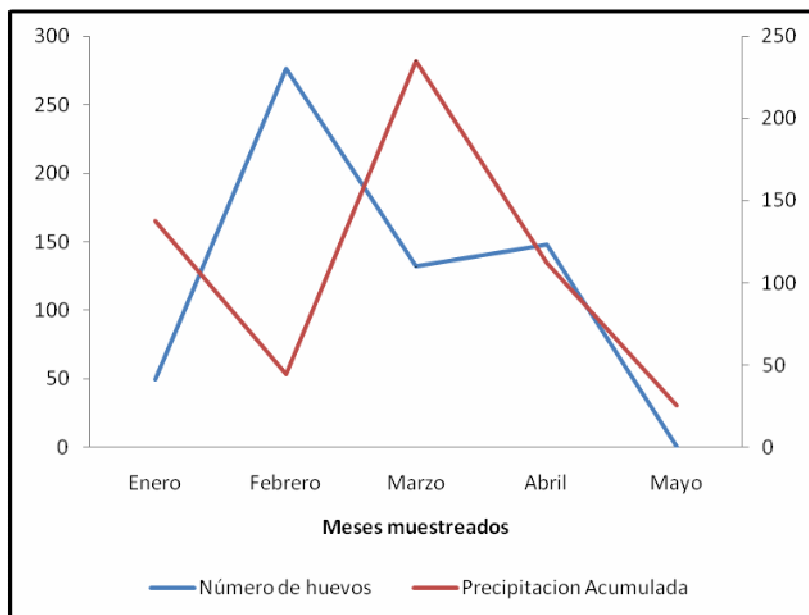


Fig. 18: Cantidad de huevos recolectados por mes y precipitaciones acumuladas mensualmente. Para los 5 meses del período de oviposición 2011.

Tabla12: Análisis de correlación de Spearman, para el número mensual de huevos recolectados de *Ae. aegypti* y las precipitaciones acumuladas mensualmente registradas en la ciudad de Santa Rosa, para las 18 semanas de oviposición del año 2011.

Correlaciones				
			Número De Huevos mensuales	Precipitaciones Acumuladas mensualmente
Rho de Spearman	Número De Huevos mensuales	Coeficiente de correlación	1,000	,400
		Sig. (bilateral)	.	,505
		N	5	5
	Precipitaciones Acumuladas mensualmente	Coeficiente de correlación	,400	1,000
		Sig. (bilateral)	,505	.
		N	5	5

Persistencia de Bti

En los ensayos realizados se obtuvieron porcentajes de mortalidad por encima del 70% únicamente en las primeras dos semanas desde la aplicación. Luego de este lapso la mortalidad disminuye drásticamente, pudiendo observarse un efecto larvicida nulo para la cuarta semana (tabla 13 y 14).

No hubo mayores dificultades debido a que la mortalidad natural fue 0% (cero por ciento) en los recipientes control para ambos ensayos.

El análisis estadístico realizado entre los 2 ensayos mediante el test no paramétrico Kruskal-Wallis no otorgó diferencias significativas. (Tabla 15). Para el análisis realizado entre los ensayos y el control, existieron diferencias significativas para las 2 primeras semanas. No hubo diferencias para las semanas posteriores. (Tabla 16).

Tabla13: Ensayo 1. Porcentajes de mortalidad para cada semana desde la aplicación de Bti. En el promedio se saca una media de los tratamientos, sin tomar en cuenta el control.

Semana	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Control	Promedio
1	100%	100%	100%	0%	100%
2	100%	90%	100%	0%	96.6%
3	10%	10%	10%	0%	10%
4	0%	0%	0%	0%	0%

Tabla14: Ensayo 2. Porcentajes de mortalidad para cada semana desde la aplicación de Bti. En el promedio se saca una media de los tratamientos, sin tomar en cuenta el control.

Semana	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Control	Promedio
1	100%	100%	100%	0%	100%
2	80%	90%	70%	0%	80%
3	0%	20%	0%	0%	6.6%
4	0%	0%	0%	0%	0%

Tabla15: Resultados del análisis estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis entre los 2 ensayos.

Estadísticos de contraste ^{a,b}				
	semana1	semana2	semana3	semana4
Chi-cuadrado	,000	3,232	,500	,000
gl	1	1	1	1
Sig. asintót.	1,000	,072	,480	1,000
a. Prueba de Kruskal-Wallis				
b. Variable de agrupación: Ensayo				

Tabla16: Resultados del análisis estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis entre los 2 ensayos y el control.

Estadísticos de contraste ^{a,b}				
	semana1	semana2	semana3	semana4
Chi-cuadrado	7,000	5,992	2,967	,000
gl	2	2	2	2
Sig. asintót.	,030	,050	,227	1,000
a. Prueba de Kruskal-Wallis				
b. Variable de agrupación: Ensayo				



Fig. 19: Diferencias en los períodos de oviposición del país. 1. Salta, oviposición permanente (excepto en los meses de junio y julio); 2. Córdoba, oviposición de octubre a mayo; 3. Buenos Aires, oviposición de diciembre a mayo; 4. La Pampa, oviposición de enero a mayo; 5. Neuquén, oviposición de enero a marzo; 6. Chaco, oviposición de octubre a junio.

Discusión

La oviposición del mosquito en el sitio de estudio del presente trabajo puede estar relacionada con el aumento o descenso en la temperatura. Aunque no pudo determinarse el factor que da comienzo al período de oviposición, éste parece disminuir abruptamente y volverse nulo a mediados del mes de mayo, cuando la temperatura media desciende por debajo de los 16°C. Esto concuerda con lo establecido por Domínguez *et al.* (2000) y Stein *et al.* (2005), quienes no registraron oviposición por debajo de los 17°C y 16,5°C respectivamente.

El hecho de que el análisis mensual de correlación entre número de huevos y temperatura media no sea significativo pudo ser debido a las variaciones de temperatura dentro de cada mes, que no son tomadas en cuenta en una media mensual.

No pudo encontrarse una correlación entre la oviposición y las precipitaciones acumuladas, ésto se diferencia de datos publicados anteriormente (Domínguez *et al.*, 2000; Micieli y Campos, 2003 y Stein *et al.*, 2005) en donde se verifica una correlación entre ambas variables. La razón por la cual las precipitaciones no influyeron en la oviposición detectada en el presente trabajo pudo deberse al hecho de que las ovitrampas eran cubiertas manualmente con agua hasta el nivel determinado inicialmente, eliminando la necesidad del vector de esperar por las lluvias para oviponer.

Conclusión

Período de oviposición

Los datos obtenidos sugieren que el período de oviposición en Santa Rosa, (provincia de La Pampa, Argentina) se extiende desde principios de enero hasta mediados de mayo (Fig. 19), con lo cual se acepta la Hipótesis 1: "El período de oviposición de *Ae. aegypti* en Santa Rosa, La Pampa varía con respecto a otras provincias del país".

Con los resultados del post test de Dunn se concluye que en la 6ta semana de oviposición se obtuvo el mayor número de huevos. Estos datos proponen un único pico de oviposición para mediados del mes de febrero.

Con respecto al análisis estadístico de Spearman al que se expusieron los datos de oviposición y climáticos, tanto semanales y mensuales, solo se encontró correlación significativa ($r=0.566$; $p=0,014$) entre el número de huevos recolectados semanalmente y la temperatura media registrada semanalmente.

Persistencia de Bti

Como consecuencia de que la mortalidad decae luego de dos semanas de aplicación del larvicida, los datos proponen que se rechace la Hipótesis 2: "La capacidad larvicida de Bti en criaderos artificiales de *Ae. aegypti* en Santa Rosa, La Pampa tiene una persistencia de 4 semanas", que suponía mantener un nivel superior al 70% de mortalidad durante ese período de tiempo.

De esta manera, en Santa Rosa es aconsejable repetir la aplicación de larvicida una vez alcanzada la segunda semana de exposición, manteniendo el "efecto residual elevado" e inhibiendo la proliferación del vector.

Recomendaciones de control para Santa Rosa

La utilización de ovitrampas es un indicador muy práctico para detectar la presencia y el inicio de actividad del mosquito *Ae. aegypti*. Dicha acción debería realizarse anualmente para mantener una información actualizada de las densidades del mosquito vector del dengue.

Aunque el período de oviposición en la ciudad de Santa Rosa comienza en la segunda semana del mes de enero, la fumigación zonal para el volteo de adultos voladores puede comenzar al menos una semana antes, disminuyendo la densidad de mosquitos que produzcan huevos la semana siguiente.

El larvicida Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) debe ser aplicado cada 15 días (según los resultados obtenidos en esta tesina), observando cuidadosamente los recipientes antes de cada nueva aplicación para determinar el tamaño de las poblaciones larvales. De esta manera si los recipientes anteriormente tratados cuentan con una gran densidad de estadios juveniles a la hora de ser examinados, puede inferirse que las condiciones ambientales afectaron el efecto residual del producto y redujeron su persistencia, abreviando los lapsos entre aplicaciones.

Estudios futuros sobre residualidad del producto a campo deberían llevarse a cabo para determinar si los factores ambientales afectan la persistencia de este larvicida, antes del empleo del mismo en condiciones naturales.

El trabajo logró el objetivo general de dirigir los esfuerzos para el correcto control del mosquito transmisor del dengue en la ciudad de Santa Rosa, La Pampa, determinando el comienzo del período de oviposición de *Ae. aegypti* y la persistencia del larvicida biológico Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*), uno de los productos no contaminantes más efectivo actualmente.

Referencias bibliográficas

- Avilés, G., G. Rangeón, V. Vorndam, A. Briones, P. Baroni, D. Enria, M. S. Sabattini. 1999. Dengue reemergence in Argentina. *Emerg. Infect. Dis.* Vol 5(4):575-578.
- Beaty, W. C., Marquardt. 1996. The Biology of Disease Vectors. *University Press of Colorado*. 632 pp.
- Becker, N. 2010. The Rhine larviciding program and its application to vector control. P 209-219. *Vector Biology, ecology and control*. Atkinson P. W. (Ed.). Springer. 260 pp.
- Beserra E. B., Carlos R. M. Fernandes, Maiene de F. C. de Queiroga, Francisco P. de Castro Jr. 2007. Resistência de Populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology*. Vol. 36(2): 303-307.
- Bisset J. A., María Magdalena Rodríguez, Lorenzo Cáceres. 2003. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. *Rev. Cubana Med. Trop.* Vol. 55(3): 191-5.
- Bisset J. A., María Magdalena Rodríguez, Ditter Fernández, Miriam Palomino. 2007. Resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de 2 provincias del Perú. *Rev. Cubana Med. Trop.* Vol. 59(3): 202-8.
- Bisset J. A., María M. Rodríguez, José L. San Martín, José E. Romero, Romeo Montoya. 2009. Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Rev. Panam. Salud Pública*. Vol. 26(3): 229-34.
- Cano E. 2004. Inventario Integrado de los Recursos Naturales de la provincia de La Pampa. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, provincia de La Pampa, Universidad Nacional de La Pampa. Buenos Aires, 2ª edición.
- Campos R. E. 1993. Presencia de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera: Culicidae) en la localidad de Quilmes (Buenos Aires, Argentina). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 52 (1-4).
- Campos J., Carlos F. S. Andrade. 2003. Susceptibilidade larval de populações de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* a inseticidas químicos. *Rev. Saúde Pública*. Vol. 37(4): 523-7.
- Carpintero D. J., Miriam N. Leguizamón. 2004. Description of a new *Culex (Culex)* species (Diptera: Culicidae) from La Pampa Province, Argentina, and a preliminary list of the mosquitoes of the province. *Studia dipterologica* 11 Heft2. ISSN 0945-3954. 501-503.
- Carvalho A. F. U., Vânia María Maciel Melo, Afrânio Aragão Craveiro, Maria Iracema Lacerda Machado, Márcia Braga Bantim, Emanuelle Fontenele Rabelo. 2003. Larvicidal Activity of the Essential Oil from *Lippiasidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 98(4): 569-571.
- Carvalho M. L., Eloísa Dutra Caldas, Nicolas Degallier, Paulo de Tarso Ribeiro Vilarinhos, Luís César Kenupp Rodrigues de Souza, Maria Amélia Cavalcanti Yoshizawa,

- Monique Britto Knox, Cristiane de Oliveira. 2004. Suscetibilida de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. *Rev. Saúde Pública*. Vol. 38(5): 623-9.
- Castro M., Nilson Quintana, Martha L. Quiñones. 2007. Evaluación de dos Piretroides en el Control del Vector del Dengue en Putumayo, Colombia. *Rev. Salud Pública*. Vol. 9(1): 106-116.
- Christophers, S. R. 2009. *Aedes aegypti* (L.) The Yellow Fever Mosquito: Its Life History, Bionomics and Structure. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK. 752 pp
- Clements, A. N. 2012. The biology of mosquitoes. Transmission of viruses and interactions with bacteria. Volume 3. *Cambridge University Press*, Cambridge, UK. 571 pp.
- Curto S. I., Rolando Boffi, Anibal E. Carbajo, RominaPlastina, Nicolás Schweigmann. 2002. Reinfestación del territorio argentino por *Aedes aegypti*. Distribución geográfica (1994-1999). *Actualizaciones en artropodología sanitaria argentina. FundaciónMundo Sano*.
- Darsie R. F. 1985. Mosquitoes of Argentina Part I, Keys for Identification of Adult Females and Fourth Stage Larvae in English and Spanish (Diptera, Culicidae). *Mosquito Systematics* Vol. 17(3)
- De Cássia Sousa-Polezzi R., Hermione Elly Melara de Campos Bicudo. 2004. Effect of phenobarbital on inducing insecticide tolerance and esterase changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Genetics and Molecular Biology*. Vol. 27(2): 275-283.
- Devine G. J., Dominique Eza, Elena Ogusuku, Michael J. Furlong. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev. Peru Med. Exp. Salud Publica*. Vol. 25 (1): 74-100.
- Diez F., Estela Quirán, Gustavo Rossi. 2009. Establecimiento de *Aedes aegypti* (Insecta: Diptera) en la Provincia de La Pampa, Argentina. X Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales, 29 y 30 de octubre 2009, Santa Rosa, La Pampa.
- Diez F., Julián Breser, Gustavo Rossi, Estela Quirán. 2010. Nuevos registros de mosquitos (Diptera: Culicidae) en La Pampa (Argentina). I Congreso Latinoamericano (IV Argentino) de Conservación de la Biodiversidad, 22 al 26 de noviembre 2010, San Miguel de Tucumán, Tucumán. Pp. 39.
- Diez, F., Julián Breser, Estela M. Quirán y Gustavo C. Rossi. 2011. "Nuevos registros de mosquitos (Diptera: Culicidae) en la Provincia de La Pampa, Argentina". *Soc. Entomol. Argent.* Vol. 70: 347-349. ISSN 0373-5680
- Domínguez, M. C., Francisco F. Ludueña Almeida, Walter R. Almirón. 2000. Dinámica poblacional de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Córdoba capital. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 59 (1-4): 42-50. ISSN 0373-5680
- Estelita Pereira Lima E. P, Alfredo Martins de Oliveira Filho, José Wellington de Oliveira Lima, Alberto Novaes Ramos Júnior, Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti, Ricardo José Soares Pontes. 2006. Resistência do *Aedes aegypti* ao Temefós em Municípios do Estado do Ceará. *Rev. Soc. Brasileira Med. Trop.* Vol. 39(3): 259-263.

- Gibbons, R. V., D. W. Vaughn. 2002. Dengue: an escalating problem. *BMJ*. Vol 324: 1563-1566.
- Grech, M. G., F. Ludueña-Almeida, W. R. Almirón. 2010. Bionomics of *Aedes aegypti* subpopulations (Diptera: Culicidae) from Argentina. *J Vector Ecol*. Vol 35(2): 277-85.
- Grech, M., Andrés Visintin, Magdalena Laurito, Elizabet Estallo, Pablo Lorenzo, Irene Roccia, Maximiliano Korin, Facundo Goya, Francisco Ludueña-Almeida, Walter Almirón. 2012. New records of mosquito species (Diptera: Culicidae) from Neuquén and La Rioja provinces, Argentina. *Rev. Saúde Pública*. Vol.46 (2): 387-389. ISSN 0034-8910
- Gubler, D. J. 2002. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. *Arch. Med. Res*. Vol 33: 330-342.
- Gubler, D. J. 2011. Dengue, Urbanization and Globalization: The Unholy Trinity of the 21(st) Century. *Trop. Med. Health*. Vol 39: 3-11.
- Gullan P. J., Peter S. Cranston. 2010. *The Insects, An Outline of Entomology*. Willey-Blackwell.
- Guzman, M. G., S. B. Halstead, H. Artsob, P. Buchy, J. Farrar. 2010. Dengue: a continuing global threat. *Nat. Rev. Microbiol*. Vol 8: 7-16.
- Hernández-Rodríguez C. S., Adri Van Vliet, Nadine Bautsoens, Jeroen Van Rie, Juan Ferré. 2008. Specific Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry2A Insecticidal Proteins to a Common Site in the Midgut of *Helicoverpa* Species. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 74, (24): 7654–7659.
- Hofte H., H. R. Whiteley. 1989. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. *American Society for Microbiology*. Vol. 52 (2): 242-255.
- Lacey, L.A. 2007. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus shaericus* for mosquito control. P 133-163. *Biorational Control of Mosquitoes*. Floore T.G. (Ed). J. Amer Mosq Ctrol Assoc. Vol 23 (2) Bull. No 7
- Lima J. B. P., Nilson Vieira de Melo, Denise Valle. 2005. Persistence of Vectobac WDG and Metoprag S-2G against *Aedes aegypti* larvae using a semi-field bioassay in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*. Vol. 47(1): 7-12.
- Llinás G. A., E. Seccacini, C. N. Gardenal, S. Licastro. 2010. Current resistance status to temephos in *Aedes aegypti* from different regions of Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 105(1): 113-116.
- Luna J. E. D., Marcos Ferrer Martins, Adriana Felix dos Anjos, Eduardo Fumio, Kuwabara, Mário Antônio Navarro-Silva. 2004. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. *Rev Saúde Pública*. Vol. 38(6): 842-3.
- Macoris M. G., María Teresa M. Andrighetti, Luiz Takaku, Carmen M. Glasser, Vanessa C. Garbeloto, Vanusa C.B. Cirino. 1999. Alteração de resposta de suscetibilidade de

- Aedes aegypti* a insecticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública*. Vol. 33(5): 521-22.
- Macoris M. G., María Teresa M. Andrighetti, Luiz Takaku, Carmen M. Glasser, Vanessa C. Garbeloto, José Eduardo Bracco. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* from the State of São Paulo, Brazil, to Organophosphates Insecticides. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 98(5): 703-708.
- Macoris M. G., María Teresa Macoris Andrighetti, Vanessa Camargo Garbeloto Otrera, Lídia Raquel de Carvalho, Antonio Luiz Caldas Júnior, William G Brogdon. 2007. Association of insecticide use and alteration on *Aedes aegypti* susceptibility status. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 102(8): 895-900.
- Martínez A. M., Elkin J. Galeano, Jorge Cadavid, Yuly R. Miranda, Juliana L. Llano, Karla M. Montalvo. 2007. Acción insecticida de extractos etanólicos de esponjas del golfo de Urabá sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*. *Vitae, Revista de la Facultad de química farmacéutica* ISSN 0121-4004. Vol. 14(2): 90-94.
- McClelland, G. A. H. 1984. Medical Entomology. University of California, Davis.
- Melo-Santos M. A., Elizabeth Gomes Sanches, Fernando Justino de Jesus, Lêda Regis. 2001. Evaluation of a New Tablet Formulation Based on *Bacillus thuringiensis* sorovar. *israelensis* for Larvicidal Control of *Aedes aegypti*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 96: 1-2.
- Mieli M. V., Raúl Ernesto Campos. 2003. Oviposition Activity and Seasonal Pattern of a Population of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Subtropical Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 98(5): 659-663.
- Mieli M. V, Juan J. García, María F. Achinelly, Gerardo A. Martí. 2006. Dinámica poblacional de los estadios inmaduros del vector del dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): un estudio longitudinal (1996-2000). *Rev. Biol. Trop.* Vol. 54(3): 979-983. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)
- Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. 2009. Manual de control del vector. Prevención de dengue. <http://www.ms.gba.gov.ar/EducacionSalud/dengue/>
- Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. 2012. Actualización de la situación de vigilancia de dengue en la República Argentina al 08-06-2012. <http://www.msal.gov.ar/dengue/>
- Montada Dorta D., Mayda Castex Rodríguez, Silvia Suárez Delgado, Daisy Figueredo Sánchez, Maureen Leyva Silva. 2005. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev. Cubana Med. Trop.* Vol. 57(2): 137-42.
- Montada Dorta D., Ivón Calderón Morales, Maureen Leyva Silva, Daisy Figueredo Sánchez. 2007. Niveles de susceptibilidad de una cepa de *Aedes aegypti* procedente de Santiago de Cuba ante los insecticidas lambda cialotrina, cipermetrina y clorpirifos. *Rev. Cubana Med. Trop.* Vol. 59(1): 40-5.

Palomino M. S., Lely Solari, Walter León, Rosario Vega, Máximo Vergaray, Luis Cubillas, Rosa Mosqueda, Norma García. 2006. Evaluación del efecto residual del temephos en larvas de *Aedes aegypti* en Lima, Perú. *Rev. Peru Med. Exp. Salud Pública*. Vol. 23(3): 158-62.

Pereira da-Cunha M. P., José Bento Pereira Lima, William G. Brogdon, Gonzalo Efrain Moya, Denise Valle. 2005. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 100(4): 441-444.

Pinheiro V. C. S., Wanderli Pedro Tadei. 2002. Evaluation of the residual effect of temephos on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae in artificial containers in Manaus, Amazonas State, Brazil. *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro*. Vol. 18(6): 1529-1536.

Polanczyk R. A., Marcelo de Oliveira Garcia, Sérgio Batista Alves. 2003. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. *Rev. Saúde Pública*. Vol. 37(6): 813-6.

Rodríguez M. M., Juan A. Bisset, Ditter Fernández, Omayda Pérez. 2004. Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. *Rev Cubana Med. Trop*. Vol. 56(1): 54-60.

Rossi G. C., Juan C. Mariluis, Juan A. Schnack, Gustavo R. Spinelli. 2002. Dípteros vectores (Culicidae y Calliphoridae) de la provincia de Buenos Aires. *Probiota*. Vol. 3: 3-45.

Rossi G. C., Walter R. Almirón. 2004. Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina. *Fundación Mundo Sano*. Publicación monográfica N° 5.

Salvatella R. 1996. *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae) y su papel como vectores en las Américas. La situación de Uruguay. *Rev. Med. Uruguay*. Vol. 12: 28-36.

Santacoloma Varón L, B. Chaves Córdoba, H. L. Brochero. 2010. Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. *Rev. Panam. Salud Publica*. Vol. 27(1): 66-73.

Sauka D., Graciela B. Benintende. 2008. *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. *Revista Argentina de Microbiología* . Vol. 40: 124-140.

Secretaría de Turismo. Gobierno de La Pampa.
<http://www.turismolapampa.gov.ar/principales-localidadesmnu/56-santa-rosa.html>

Severo O. P. 1955. Eradication of the *Aedes aegypti* Mosquito from the Americas. Yellow fever, a symposium in commemoration of Carlos Juan Finlay, 1955. Paper 6. http://jdc.jefferson.edu/yellow_fever_symposium/6

Stein M., Griselda Inés Oria, Walter Ricardo Almirón. 2002. Principales criaderos para *Aedes aegypti* y culícidos asociados, Argentina. *Rev. Saúde Pública*. Vol. 36(5): 627-30.

Stein M., Griselda I. Oria, Walter R. Almirón, Juana A. Willener. 2005. Fluctuación estacional de *Aedes aegypti* en Chaco, Argentina. *Rev. Saúde Pública*. Vol. 39(4): 559-64.

Thirión J.. 2010. El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México. Bayer Environmental Science. Bayer de México, S.A. de C.V. ISBN 03-2004-010911491600-01

Vezzani D., Stella M. Velázquez, Silvina Soto, Nicolás J. Schweigmann. 2001. Environmental Characteristics of the Cemeteries of Buenos Aires City (Argentina) and Infestation Levels of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 96(4): 467-471.

Vezzani D., Nicolás Schweigmann. 2002. Suitability of Containers from Different Sources as Breeding Sites of *Aedes aegypti* (L.) in a Cemetery of Buenos Aires City, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 97(6): 789-792.

Vezzani D., Stella Maris Velázquez, Nicolás Schweigmann. 2004. Control of *Aedes aegypti* with temephos in a Buenos Aires cemetery, Argentina. *Rev. Saúde Pública*. Vol. 38(5): 738-40.

Vezzani D., Stella Maris Velázquez, Nicolás Schweigmann. 2004. Seasonal Pattern of Abundance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires City, Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 99(4): 351-356.

Vezzani D., Anibal E. Carbajo. 2008. *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and dengue in Argentina: current knowledge and future directions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. Vol. 103(1): 66-74.