

Utilización de sales minerales para el control larvario de
Aedes aegypti en contenedores de agua en zonas endémicas de El
Salvador.



PONENCIA COSTA RICA. RED- CADAN 2010

PRESENTADO POR:

Master Dr. Antonio Vásquez Hidalgo

Microbiólogo Médico-Salubrista

Docente Microbiología. Facultad de Medicina.

Universidad de El Salvador

RESUMEN

Se utilizó un diseño experimental in Vitro, un nivel de confianza 95 % y nivel alfa 5 %. La muestra fueron larvas de *zancudos de Aedes aegypti* tratados con una concentración de 1,3,5 PPM a una concentración inocua para el ser humano con minerales naturales. Se obtuvo una mortalidad de 100 % en los estadios L1 a L4 de las larvas y fase de huevo. De los cuatro estadios larvarios a los diez minutos fases L1 y L2 mortalidad inmediata, a la hora L3 y L4 una mortalidad 100 % de las larvas. Tiene un efecto larvicida y ovicida. **CONCLUSION.** La utilidad de la formula para controlar larvas y huevos en pruebas in Vitro tiene un efecto larvicida y ovicida a 5 ppm.

PALABRAS CLAVE. Minerales, *Aedes aegypti*, larvicida, ovicida, ppm.

ABSTRACT

Experimental design was used in vitro, a level of 95% and 5% alpha level. The sample consisted of larvae of *Aedes aegypti* mosquitoes treated with a concentration of 1.3 at a concentration 5 ppm safe for humans with natural minerals. We obtained a 100% mortality in stages L1 to L4 stage larvae and eggs. Of the four larval stages ten minutes L1 and L2 immediate mortality, when L3 and L4 100% mortality of larvae. It has a larvicidal and ovicidal effect. **CONCLUSION.** The usefulness of the formula to control larvae and eggs in vitro tests have larvicidal and ovicidal effect at 5 ppm.

KEY WORDS. Minerals, *Aedes aegypti*, larvicidal, ovicidal, ppm

INTRODUCCION

El Paludismo y el Dengue se consideran epidemiológicamente como una de las Enfermedades que reportan cifras estadísticas en aumento por el Ministerio de Salud. Definidas como alto riesgo en áreas endémicas. De igual forma se ha reportado en regiones costeras y hoy en áreas urbanas con mayor morbilidad.



(Ministerio de Salud, 2010). Ver mapa de El Salvador.


Para abril **2009** se tiene sospecha por dengue de 1259 casos, reportándose Sonsonate y La Libertad con el mayor número de casos. A nivel mundial se estima 1 380 millones en riesgo de transmisión por *plasmodium falciparum*. Hasta septiembre del 2010 se han reportado 19205 casos sospechosos de **Dengue Clásico**, con mayores tasas en la Ciudad de San Salvador y por **Dengue hemorrágico** 144 casos.

Se hacen esfuerzos mundiales auspiciados o dirigidos por la **OMS, OPS** y otros, para controlar y erradicar el vector, pero que hasta el momento ha sido imposible de lograr resultados prometedores. Se han utilizado diversos métodos de control, en las que se destaca el uso de químicos en las plantaciones y áreas domiciliarias, con el consiguiente riesgo de causar intoxicaciones en el ser humano.

Al momento la malaria y dengue son problemas de Salud Pública y de gobiernos, debido a que se invierten millones de dólares en erradicar el vector y tratar la enfermedad, derivados del presupuesto nacional asignado a salud.

El Salvador no es la excepción, debido a que por su climatología y densidad poblacional, hace favorable la transmisión palúdica, con predominio en la estación seca y lluviosa con temperaturas entre 22⁰C a 30⁰C en zonas costeras o sabanas tropicales y desplazamiento en alturas menores de 300 mts hacen propicio condiciones ideales para su estancia y propagación.

El 80-90% del total de casos del país según reporte de Malaria del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), se ubica en áreas endémicas (principalmente en la costa del Pacífico). Las tasas reportadas con mayores números de casos han sido en los años setenta y noventa, con un rango entre 5000 a 96,000 casos infectados con Malaria y una tasa de 200 a 2,600 X 10.000 hab.



Los esfuerzos por erradicar el dengue utilizando múltiples recursos han sido sobrehumanos por el Ministerio de Salud, así como gastos publicitarios es oneroso. Se necesita mayor educación y concientización con apoyo jurídico hacia las comunidades a nivel colectivo e individual. Al momento se hace uso del abate como medida de prevención y control sanitario sin tener el impacto esperado.

OBJETIVOS

GENERAL:

Determinar la eficacia del preparado mineral contra larvas de zancudos de *Aedes aegypti*.

ESPECIFICOS:

1. Determinar a cual concentración del preparado es eficaz contra larvas de zancudos.
2. Realizar pruebas in Vitro para determinar efecto larvicida y ovicida

MATERIAL Y METODOS.

Para el estudio se utilizó un diseño experimental o diseño por bloques al azar, con un nivel de confianza del 95 % y un error de estimación de un 0.05 %, para una muestra de larvas de *zancudos de Aedes*. Entre las hipótesis del estudio están: H1 el uso del preparado del mineral natural tiene eficacia contra larvas de zancudos como hipótesis de trabajo, y como Ho hipótesis nula el preparado natural no tiene eficacia contra larvas de zancudos. Se trabajo con diseño estadístico de bloques al azar, para una muestra estimada de 60 larvas de *Aedes aegypti* con 3 tratamientos, con 10 repeticiones en cada bloque a una concentración estandarizada. Se utilizó SPSS v18 para análisis estadísticos.

Las larvas se almacenaron en unos frascos de 1 litro conteniendo agua, 20 larvas en cada botella de 1 litro a diferentes concentraciones. Utilizando los estadios larvarios de L1 a L4 y huevos. En total fueron 60 larvas de zancudos de *Aedes*. Luego se aplica a una pila de agua de 3x4 metros cúbicos equivalente a 28.3 metros cúbicos (28,300 litros) por inmersión, como prevención e eliminación de larvas.

METODOLOGIA.

A. Concentración. Se utilizaron 3 concentraciones de **1, 3 y 5 PPM**. Para preparar el reactivo se siguieron los siguientes pasos: 1. Concentración del producto, 2. Mezcla del producto con minerales de Cloruro de sodio 10 g su dosis letal DL50 oral es 3 g/kg, Hidróxido de calcio 20 g su DL50 oral es > 2000 mg/kg, Bicarbonato de sodio 10 g su DL50 oral es 4 mg/kg, hipoclorito de sodio 1 ml su dosis DL50 oral es 8910 mg/kg, todos están disponibles en plaza, 3. Se prepara en un frasco de plástico o vidrio 250 ml o de un litro perforando en el cuello 5 agujeros (ver foto 1), 4. Se pesa la cantidad necesaria y se mezcla en 1000 ml de agua, 5. Se sumerge en la pila o contenedor, 6. Se esparce bajo inmersión el producto en toda la pila, 7. Se utiliza un indicador de pH, 8. Se aplica directamente a los recipientes que contenían los criaderos.

B. **Larvas.** En cada bloque se agregó el preparado a las 3 botellas de 1 litro con 20 larvas cada una, excepto al testigo no tenía el preparado. El total de larvas fueron 60, con 10 repeticiones, en cada concentración habían 20 larvas más 10 repeticiones a 3 concentraciones de 1,3 y 5 ppm. Para identificar las larvas se utilizaron clasificaciones taxonómicas y se prepararon láminas al fresco para observar en un microscopio a 4X. El testigo se utilizó para determinar tipo de especie.

C. **Método estadístico.** Se utilizó análisis de varianza, tabla de ANOVA utilizando el método por diseños de bloques al azar.

D. **Área de Estudio.** El ensayo se realizó en los laboratorios de UES.

E. **Criterios de selección.** Para la selección de la muestra, se utilizaron los siguientes **criterios de inclusión:** 1. Muestra en estado larvario cada semana, 2. Misma especie *Aedes Aegypti* 3. Igual número de larvas en cada recipiente, 4. Concentración homogénea del extracto x ml, 5. Peso en g del producto, 6. Testigo de la misma especie, 7. Observación a la hora, 8. Número de 3 tratamientos, 9. Condición ambiental adecuada. Entre los **criterios de exclusión,** están: 1. Muestra contaminada. 2. Diferente especie diferente a la descrita en los recipientes, 3. Mal dilución o concentración del producto, 4. Mayor número de larvas por recipiente, 5. Testigo otra especie, 6. Desigualdad en las observaciones, 7. Tratamiento inadecuado, 8. Condiciones ambientales inadecuadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

El uso prolongado de insecticidas ha producido resistencia en vectores de zancudos, se han utilizado diversos medios de control, sin resultados de impacto al momento.

El estudio midió la eficacia de los minerales contra larvas de *Aedes aegypti*. Del preparado en los recipientes de 1 litro a los primeros minutos se pueden apreciar las larvas en movimiento, Los huevos y los estadios L1 y L2 se paralizan a los diez minutos, aumentando movilidad luego disminuye manteniéndose al fondo del recipiente y disminuyendo su capacidad de oxígeno, quedándose al fondo, rara vez suben a la superficie, fagocitan constantemente el mineral natural luego mueren paralizadas a los 10 minutos y la de estadios L3 y L4 mueren a la hora por privación de oxígeno el 100 % de las larvas. Por microscopia se observa que el tubo digestivo está erosionado.

Posteriormente a la semana no se observaron nuevas poblaciones ni movimiento de nuevas especies con los recipientes al descubierto. El total de larvas quedan muertas al fondo. El preparado embotellado por inmersión se esparció en pila, se dejó al fondo de pila recipiente ancho y se sujetó contiguo al chorro la botella con el preparado. Ver foto 1.



Foto 1 – Recipiente perforado y ubicación en pila.

De las Pruebas realizadas posterior al tratamiento se tiene que durante la primera hora, a las concentraciones de 1,3 y 5 PPM resulta que la concentración del 5 PPM a los 30 minutos el número de larvas muertas es alto > 96 %. La de 3 PPM el efecto es moderado a alto 66 %, y la 1 PPM quedan algunas larvas vivas. El efecto letal es evidente sobre las poblaciones de *zancudos*. (Tabla I) En una hora la muerte es el 100 %. Del total de larvas las muertes fueron: de 5 PPM un 100 %, 3 PPM un 66 %, y 1 PPM un 30 %. A los 60 minutos el 100 % las larvas estaban muertas.

TABLA No 1.

Resultado de Pruebas realizadas en minutos por 1 hora en el control de larvas de *zancudos*. Larvas muertas de *Aedes aegypti*. Concentración 1,3,5 PPM

Tx/minutos	0	5	30	60	TOTAL	X**	Control
5	0	10	18	20	48	12	20
3	0	8	9	10	27	6.95	20
1	0	3	4	4	11	2.75	20
TOTAL	0	21	31	34	86		60
X	0	7	10.33	11.33			

** Media de 10 repeticiones. FUENTE: Resultado pruebas in vitro.

La media de tratamientos realizados según concentraciones, el número de larvas muertas es variable es decir la media al 5 ppm de 12, a 3 ppm es de 6.95 y de 1 ppm es de 2.75. El rango promedio de larvas muertas como indicador principal es variable de acuerdo al tratamiento a las diferentes concentraciones entre una media de 9 a 29 por minuto. Al dejar el mineral en la pila el zancudo no realiza oviposturas.

En un estudio en Lima Perú sobre el efecto residual del abate se encontró que hay una disminución de mortalidad de larvas del 11 % al séptima semana. (Palomino, 2006) en contraste con nuestro estudio que la hora la mortalidad fue del 100 % con efecto inmediato.

Los resultados obtenidos en nuestra investigación demuestran que a mayores concentraciones del producto la eficacia es directamente proporcional al número de muertes del vector. Se puede inferir que si el producto es un larvicida y ovocida puede ejercer control sobre el *Aedes aegypti* y otros vectores.

Otro estudio en Colombia sobre comparación de la eficacia de diversos métodos contra el vector del dengue, encontraron que 52 % de mortalidad a DDT, concluyendo que Aedes presenta resistencia a órganos fosforados. (Mota, 1998).

Se observó además que al dejar en reposo durante 15 s 30 días los recipientes al descubierto con el preparado no se encontraron huevos o larvas de nuevas poblaciones.

En la tabla II de ANOVA la significancia estadística del 5% a diferentes concentraciones no hay diferencias altamente significativas, por lo que el preparado tiene acción sobre las larvas sin haber variabilidad.

**TABLA 2.TABLA DE ANOVA
CONCENTRACIONES por diseño bloques al azar.**

F de V	GL	SC	CM	FC	Ft 5 %
Tratamiento	3	172.17	86.08	2.02	2.92
Repetición	10	236.33	23.63	2.77	
Error	30	85.17	4.25		
TOTAL	43	493.67			

Fuente: Resultado de Pruebas Estudio experimental.

F de V = Fuente de Variación, **GL**= Grados de Libertad, **SC**= Suma de Cuadrados, **CM**= Cuadrado Medio, **Ft 5 %**= Factor de tablas.

Se hicieron pruebas en pilas de agua en casas con un promedio de capacidad de 28,300 libras, a la pila se le administro el preparado que contenía la formula 5 ppm, se tubo como control otra pila de agua sin preparado, encontrándose al momento: 0 larvas en la pila que contenía el tratamiento, en el otro recipiente hubo presencia de larvas.

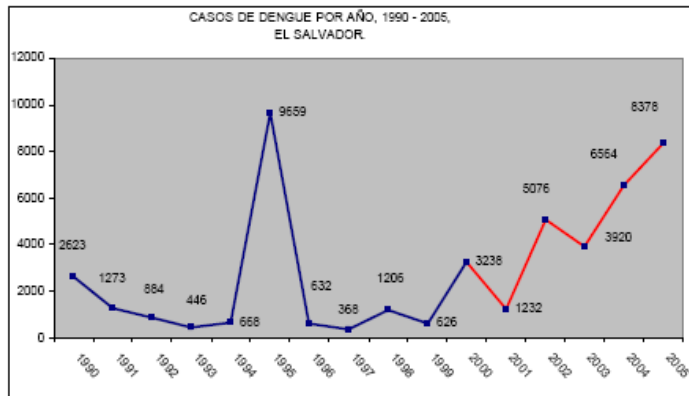
En general el 100 % de las larvas a una concentración de 5 ppm la mortalidad es total a una hora, por lo que se recomienda esta concentración en los contenedores de agua en pilas, barriles, tanques entre otros.

Se hicieron pruebas in Vitro en recipientes de 500 ml de agua conteniendo la formula 5 PPM en 5 recipientes al aire en el jardín y 5 recipientes grupo control, se observo durante una semana, encontrándose 0 larvas y 0 huevos en los recipientes que contenían la fórmula del preparado, en los grupos control hubo crecimiento de larvas.

En otros estudios usaron del Fenitotrión al 1 % la mortalidad fue del 100 % a los treinta minutos, además ensayaron sobre las trampas de ovoposición las cuales resultaron un fracaso. (Mota, 1998).

Diversos estudios han demostrado la resistencia del Aedes con el uso de control con *Bacillus thuringiensis* como control biológico. (Gato, 2007)

La mayor tasa de mortalidad la media fue de 6 a 12 larvas por concentración, encontrando una mayor relación directa entre dosis letal y estadio larvario con marcada sensibilidad a los 10 minutos en la fase de huevo y estadio L1 y L2.



Fuente: Unidad de Epidemiología, Dirección de Control y Vigilancia Epidemiológica, MSPAS

Grafico 1- Casos de Dengue en El Salvador

En el grafico 1 se observa que los casos se han ido incrementado desde el año 2005, con alertas amarillas decretadas por el Ministerio de Salud a nivel nacional. Las cifras de datos van aumentando en forma alarmante, las medidas preventivas han fracasado por el alto índice de consulta por dengue en los principales establecimientos de salud, predominando el dengue clásico.

En la tabla III se observa que desde el 2006 al 2010 sea incrementado dos veces la probabilidad de infección por dengue. Los casos se reportaron más en el 2010. Los departamentos de San Salvador y Santa Ana fueron los de mayor índice larvaria.

Tabla III. Casos de dengue reportados en El Salvador boletín semanal No 35 del 2010.

Ministerio de Salud		Boletín Semanal No. 35 / 2010 (Del 29 de Agosto al 4 de Septiembre de 2010)				
Tabla.1 Resumen de la situación del dengue atendido en El Salvador semana 1 - 35 del 2006 al 2010						
Semana 1-35	2006	2007	2008	2009	2010	
Casos sospechosos	15,268	8,691	4,347	5,962	18,934	
Hospitalizaciones	2,412	1,938	739	1,097	2,796	
Casos confirmados	5,611	3,982	953	2,156	7,840	
Dengue clásico	5,436	3,916	927	2,113	7,685	
Dengue hemorrágico	175	66	26	43	155	

Tabla.2 Casos de dengues atendidos en El Salvador semana 1-35 del 2006 al 2010					
Departamento	2006	2007	2008	2009	2010
AHUACHAPAN	74	94	26	149	196
SANTA ANA	436	839	116	71	1,277
SONSONATE	821	99	51	382	325
CHALATENANGO	200	172	56	136	311
LA LIBERTAD	529	368	122	194	864
SAN SALVADOR	2,678	1,123	357	853	2,237
CUSCATLAN	198	133	20	69	425
LA PAZ	117	317	31	72	633
CABAÑAS	66	152	13	43	194
SAN VICENTE	245	251	22	38	270
USulután	62	123	12	33	206
SAN MIGUEL	121	147	53	61	403
MORAZAN	38	60	36	25	228
LA UNION	26	102	38	28	217
Total País	5,611	3,980	953	2,154	7,786

Fuente: Ministerio de Salud. Boletín Epidemiológico No 35. 2010

Un informe de Cruz Roja manifiesta que los factores de riesgo principales están: a) Alta densidad poblacional que favorece el hacinamiento y aumento en el ciclo de transmisión. b) Condición climatológica tropical con inviernos copiosos y períodos prolongados sin lluvias (canículas) que dejan múltiples sitios de almacenamiento ideales para la reproducción del vector (*Aedes aegypti*) responsable de transmitir esta enfermedad. c) La escasez de agua, propicia a un almacenamiento indiscriminado sin vigilancia y control epidemiológico de los criaderos de zancudo. d) La falta de educación y de información adecuada, que se demuestra al no poner en práctica las medidas preventivas para evitar esta enfermedad entre otros. (Cruz Roja, febrero 2010)

CONCLUSIONES

- La eficacia en el uso del preparado del mineral es eficaz como larvicida y ovicida para el control de *Aedes aegypti* en contenedores de agua como pilas o barriles.
- La dosis letal a una concentración del 5 PPM es la ideal como control larvario. EL PREPARADO. NO SE DEBE INGERIR.
- Las pruebas in Vitro realizadas demuestran que el número total de larvas mueren a concentraciones de 5 ppm en una hora. Las larvas de los estadios L1 y L2 mueren a los 10 minutos y los estadios L3 y L4 a la hora.

BIBLIOGRAFIA.

1. Asman. S. & others. 1981. Field studies of the genetic control systems of mosquitoes annual review entomology. 26: 289-318.
2. Ayad, H. % others. 1975. Resistance to organophosphates and carbamates in *Anopheles albimanus* based on reduced sensivity of acethyl cholinesterase. J. Entomology. 68: 295-297.
3. Breeland, S. 1972. Studies on the ecology of *Anopheles albimanus* based in reduced sensitivity of acethyl cholinesterase. J. Entomology 68: 295-297.
4. Brow, A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: a Pragmatica review, J. Mosquitos control Assoc.
5. Brow, A.W. 1972. Beingolea, O. 1977. Consideraciones sobre control biológico y predación. Revista Peruana de Entomología Agrícola. 20 : 33-47
6. Brown, A. W. 1972 .Alternative Methods of vector control. Vector control and the recrudescense of vector-Borne. Diseases. Washington. D.C. PP 59-63
7. Brown, H.W. 1991. Protozoarios de la sangre y tejido del hombre-mosquito. Parasitología clínica. 5ª edic. nueva Interam. México. 84: 278-287
8. Cruz Roja. Informe epidemiológico. Febrero 2010.
9. Bruce, J. 1987. Malaria and its control. Annual review of publica health 8: 75-100.
10. Chumutterer, H. 1984. Natural Pesticides from the Neen tree and other tropical plants. Germany.
11. De Bach, P. 1987. Control Biológico de las Plagas de insectos y malas hierbas. 13 edic. edit. Continental.
12. Fajardo, N. y otros. 1997. Utilización del Carbón Vegetal como controlador biológico de larvas de *Anopheles y Aedes*. UES.
13. Frederickson, E. Christian. 1993. Bionomía y control de *Anopheles albimanus*. OPS Publicación Científica No 34.
14. Gato, 2007. Estudio de resistencia de *Aedes aegypti* a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*
15. García, E.M. 1988. Estudio y desarrollo y aplicación de extractos acuosos en el combate de plagas y enfermedades de cultivos agrícolas.
16. Georghiou, G. 1972. Studios on resistance to carbamate and organophophate insecticides in *Anopheles albimanus* :J.A. Trop Medicine. 21: 790-806
17. Jawetz. 1996. Microbiología Médica. 15 edic.
18. King, A. S. 1984. Las plagas de invertebrados de cultivos anuales alimenticios en América central. Costa Rica.
19. Koneman, Allen. 1996. Diagnóstico Microbiologico. 3ª edic. 15: 746-747
20. Little, M.T. & Hills. 1987. Métodos Estadísticos para la Investigación de la Agricultura.
21. López, F.J. 1990. Microscopic diagnosis of malaria parisietes in the blood. "Diagnosis in Malarie" Public. Cientif. 512: 37-47
22. Lowe, R. & others. 1980- Field and laboratory assessment of tempfos for larval control of *Anopheles albimanus* in El Salvador and evidence for resistance. Mosqu. News 40: 418-423.
23. Mejía, M.A y otros. 1990. Manual de Diseños Experimentales con aplicación a la Agricultura y Ganadería. Agronomía. UES.
24. Melgar, M. 1996. Tendencias modernas en el control de vectores y problemas asociados al uso de insecticidas en el control de vectores de malaria y dengue en El Salvador.



25. MSPAS. 1992. Aspectos generales del Programa de Malaria.
26. MSPAS. Reportes Epidemiológicos de 1980-1996
27. Munch, E. L. 1988. Plantas con propiedades plaguicidas. Posibilidades para el Departamento de Choluteca. Honduras.
28. O.M.S. 1987. Vector control in Primary Health Care. No 765. Geneva.
29. OMS. 1987. Weekly epidemiological Record. Geneva.
30. OMS. 1994. Aplicación de la estrategia mundial de lucha antipalúdica. Managua. Informe técnico. No 839.
31. OPS. 1974. Fiebre viricas transmitidas por artrópodos. 11 edic. Washington.
32. OPS. 1992. Guías técnicas de control físico y Aplicación de insecticidas en los programas de Malaria. Nicaragua.
33. Palomino, M. 2006. Evaluación del efecto residual del themefos en Aedes aegypti EN LIMA, PERÚ.
34. Mota, 1978. Comparación de la eficacia de varios métodos de aplicación de insecticidas para el control o la erradicación del Aedes agypti en Colombia.