

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima. Ciencias Biológicas, Oceánicas y
Recursos Naturales



“ESTUDIO COMPARATIVO DEL CICLO DE DESARROLLO Y SOBREVIVENCIA DEL *Aedes aegypti* DURANTE LA ÉPOCA SECA Y ÉPOCA LLUVIOSA EN LA CIUDAD DE GUAYAQUIL”

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:

BIÓLOGO

Presentado por:

SERGIO ALEJANDRO PINCAY MONTES

Guayaquil – Ecuador

2015

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la vida y por las oportunidades que me presenta en el camino.

A mis padres por su amor, su valiosa confianza y todo su esfuerzo y sacrificio para sacarnos adelante y ayudarme a lograr esta meta.

A mis hermanos Cristian, Fabricio y Pablito, a mis abuelos Lorenzo y Celia, a mis tías (o) Lorena, Lupe, Gina, Maritza y Narciso por su compañía y amistad.

Al M.Sc. César Bedoya, la Dra. Varsovia Cevallos, al Lcdo. Diego Morales, al M.Sc. Giovanni Ramón, al Dr. Patricio Ponce y al equipo en general de los Proyectos SATVEC, por sus conocimientos, palabras de motivación y confianza transmitida.

A mis amigos Karla, Teresa, Emy, Ondina, Lex y César por haber estado conmigo en esta importante y hermosa etapa de mi vida.

DEDICATORIA

A mi mamá:

Cristina Montes

A mi abuelos Celia y Lorenzo.

A mis hermanos:

Cristian, Fabricio y Pablito

No hubiese llegado hasta aquí
sin ustedes

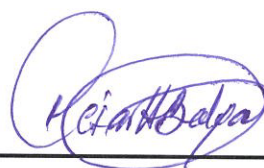
Sergio Alejandro Pincay Montes

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



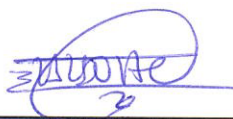
Jerry Landívar Zambrano, M.Sc.

PRESIDENTE



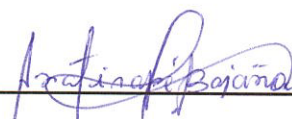
César Bedoya Piloza, M.Sc.

DIRECTOR DE TESIS



Varsovia Cevallos Viteri, Ph.D.

CO-DIRECTORA DE TESIS



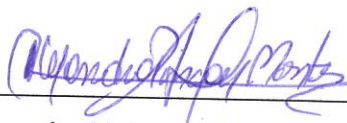
Ana Tirapé Bajaña, Ph.D.

VOCAL PRINCIPAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”.

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)



Sergio Alejandro Pincay Montes

RESUMEN

El mosquito *Aedes aegypti* es el principal vector de varios arbovirus que causan el dengue, la chikungunya y la fiebre amarilla. Posee una amplia distribución en zonas tropicales y subtropicales a nivel mundial. Se lo considera una especie cosmopolita asociada frecuentemente a las actividades y distribución humanas. Generalmente los sitios de cría que utiliza son de origen artificial. En su ciclo de vida manifiesta una metamorfosis completa, que consta inicialmente de fases larvales acuáticas y culmina su desarrollo con forma de vida aérea. Múltiples factores afectan su desarrollo, siendo la temperatura la principal causa que modifica el tiempo en que completa su desarrollo y su sobrevivencia.

El presente trabajo tuvo como objetivo registrar por primera vez los tiempos de desarrollo de esta especie y su sobrevivencia en la ciudad de Guayaquil durante la época seca y lluviosa. Se registró que esta especie completó su desarrollo en 61 días durante la época seca mientras que durante la época lluviosa completó su desarrollo en 38 días. Así mismo, la sobrevivencia reportada fue mayor durante la época lluviosa con un 32,33% mientras que la época seca obtuvo un 17%.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	VI
ÍNDICE GENERAL.....	VII
ABREVIATURAS.....	IX
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	X
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	XI
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XIII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1	7
1 GENERALIDADES	7
1.1 Biología y Ecología del <i>Aedes aegypti</i>	7
1.1.1 Distribución y hábitat.....	7
1.1.2 Ciclo de vida.....	9
1.1.2.1 Adulto.....	10
1.1.2.2 Huevo.....	14
1.1.2.3 Larva.....	15
1.1.2.4 Pupa.....	19
1.2 Epidemiología del dengue y chikungunya	20
1.2.1 Epidemiología del dengue	20
1.2.2 Epidemiología del chikungunya	22
1.3 <i>Ae. aegypti</i> como vector	23
1.4 Control vectorial.....	26
CAPÍTULO II	29
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
2.1 Área de Estudio	29
2.2 Material biológico.....	30

2.3 Montaje de las colonias	31
2.4 Obtención de huevos fértiles	32
2.5 Estudio de desarrollo de vida y sobrevivencia	32
2.6 Análisis estadísticos	35
2.6.1 Análisis de temperatura.....	35
2.6.2 Análisis de supervivencia y tiempo de desarrollo	36
CAPÍTULO III	38
3 RESULTADOS	38
3.1 Época seca	39
3.1.1. Correlación de temperatura y sobrevivencia durante la época seca	44
3.2 Época lluviosa	46
3.2.1 Correlación entre temperatura y sobrevivencia.....	51
3.3 Comparación entre época seca y lluviosa	53
3.3.1 Variaciones en la temperatura del agua	53
3.3.2 Análisis de tiempo de emergencia de los adultos	55
CAPÍTULO IV.....	62
4.1. DISCUSIÓN.....	62
CAPÍTULO V.....	65
5.1. CONCLUSIONES.....	65
5.2. RECOMENDACIONES.....	68
BIBLIOGRAFÍA.....	70

ABREVIATURAS

DENV	Dengue virus
msnm	metros sobre el nivel del mar
m.	metros
Km.	kilómetros
ml.	millilitos
°C	Grados Celsius

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Mapa de las áreas en riesgo de transmisión de dengue debido a los límites de distribución del <i>Aedes aegypti</i>	8
Ilustración 2. Ciclo biológico del <i>Aedes. aegypti</i>	10
Ilustración 3. Zonas escogidas para la recolección de muestras en la ciudad de Guayaquil	30

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Fotografía en vista lateral del <i>Aedes aegypti</i> hembra en su fase adulta.	12
Fotografía 2. Huevos de <i>Aedes aegypti</i>	15
Fotografía 3. Fotografía en vista dorsal del <i>Aedes aegypti</i> en su fase larval.....	16
Fotografía 4. Fotografía en vista lateral del <i>Aedes aegypti</i> en su fase pupal.	20
Fotografía 5. Contenedores de crianza de larvas de <i>Aedes aegypti</i> bajo condiciones naturales.	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Registro de rango de duración de los estadios de <i>Ae. aegypti</i> con su porcentaje de sobrevivencia durante la época seca.	40
Tabla II. Registro de rango de duración de los estadios de <i>Ae. aegypti</i> con su porcentaje de sobrevivencia durante la época lluviosa.....	47

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Variación promedio de la temperatura en los contenedores de plástico y vidrio durante la época seca.	41
Gráfico 2. Variación promedio de la temperatura a lo largo del día durante el desarrollo del estudio (época seca).	42
Gráfico 3. Temperatura promedio en cada uno de los tipos de contenedor (vidrio vs. Plástico).	43
Gráfico 4. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de vidrio y la sobrevivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material durante la época seca.	44
Gráfico 5. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de plástico y la sobrevivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material durante la época seca.	45
Gráfico 6. Variación promedio de la temperatura en los contenedores de plástico y vidrio durante la época lluviosa.	48
Gráfico 7. Variación promedio de la temperatura a lo largo del día durante el desarrollo del estudio (época lluviosa).	49
Gráfico 8. Temperatura promedio en cada uno de los tipos de contenedor (vidrio vs. Plástico).	50
Gráfico 9. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de vidrio y la sobrevivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material.	51
Gráfico 10. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de plástico y la sobrevivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material durante la época lluviosa.	52
Gráfico 11. Variación diaria promedio de la temperatura del agua en los contenedores de plástico y vidrio a lo largo del estudio de desarrollo de <i>Ae. aegypti</i>	53
Gráfico 12. Variación promedio de la temperatura del agua a lo largo del día durante el desarrollo del estudio de desarrollo de <i>Ae. aegypti</i>	54
Gráfico 13. Diagrama de cajas sobre la duración del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i> entre la época seca y lluviosa.	56
Gráfico 14. Diagrama de cajas sobre la duración del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i> entre las zonas de la ciudad de Guayaquil.	57

Gráfico 15. Diagrama de cajas sobre la duración del ciclo de vida de <i>Ae. aegypti</i> entre los dos tipos de contenedores.	58
Gráfico 16. Diferencias en los tiempos de emergencia (días) de los adultos entre las zonas de la ciudad de Guayaquil (Centro, Norte y Sur) tanto en época lluviosa como seca.	60
Gráfico 17. Gráfico de las diferencias significativas entre las medias de los niveles de la variable zona en base a un test post-hoc de Tukey.	61

INTRODUCCIÓN

Aedes aegypti Linnaeus, 1762, (Diptera: Culicidae), es el principal vector de los arbovirus que causan el dengue, la fiebre amarilla y la chikungunya (1, 2, 3); también es capaz de transmitir otros arbovirus como el Ross River y el virus de la encefalitis del Valle Murray (4). Este mosquito se encuentra distribuido entre los 35° de latitud norte y 35° de latitud sur en regiones tropicales y subtropicales en altitudes promedio por debajo de los 1 200 msnm. (5, 6).

Originario de África, después de salir de este continente durante la trata de esclavos, se extendió a Asia por medio de los intercambios comerciales en los siglos XVIII y XIX, Con el aumento en el movimiento de las personas en los últimos 50 años, el virus del dengue se expandió a nivel mundial con el aumento de los viajes (5, 6, 7). Los brotes de dengue en las Américas datan del año 1600 y en la expansión de la enfermedad en la región se pueden distinguir cuatro fases: introducción (1600-1946), una erradicación (1947-1970) que logró eliminar el vector en 18 países del continente para 1962, reinfestación (1971-1990) y expansión del rango geográfico del *Ae. aegypti* y la circulación del virus del dengue (2000-2010) (8).

La Oficina Regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud (PAHO, por sus siglas en inglés) reportó hasta el año 2010 37 692 casos de dengue grave con un total de 1280 muertes debido a esta enfermedad (9) y 23.400 casos de chikungunya con un total de 152 muertes debido a la misma en todo el continente americano (10, 11). En el Ecuador, el mosquito *Ae. aegypti* es el único vector del dengue y chikungunya reportado hasta la actualidad, ya que el vector secundario, *Aedes albopictus*, no se ha detectado en el país a pesar de ser reportado en Colombia a 200 km de la frontera con Ecuador (12, 13).

El primer caso de dengue en nuestro país se registró en la ciudad de Guayaquil en el año 1988 ocasionada por el serotipo DENV-1 del virus; posteriormente los serotipos DENV-4 y DENV-2 genotipo americano aparecieron en los años 1992 y 1993. En el año 2000 se introdujeron los genotipos asiáticos del DENV-2 y DENV-3, provocando la aparición de los primeros casos de dengue hemorrágico en el país (14) reportando 22 937 casos (15). Actualmente los cuatro serotipos circulan en el país y el serotipo DENV-3 genotipo asiático es el que más prevalece desde el año 2004 (14, 16). El primer caso de chikungunya en nuestro país se registró en Loja en octubre de 2014, tratándose de un caso importado desde Colombia. Hasta el momento se reportan un total de 6 277 casos en todo el territorio ecuatoriano, aún sin víctimas mortales (17).

El dengue y la chikungunya han sido transmitidos por una amplia zona geográfica y ha habido un aumento preocupante en su incidencia, motivo por el cual el desarrollo de vacunas contra estas enfermedades es una prioridad en la salud pública (7). Sin embargo, hasta ahora no se ha logrado desarrollar una vacuna efectiva (18). Por lo tanto el control de las poblaciones del vector es crucial para la reducción de casos de estas enfermedades (10, 13, 20).

Uno de los claros impedimentos para la creación de una adecuada intervención política y un subsecuente programa funcional en contra estas enfermedades, es el pobre conocimiento de los costos que estas representan, no solamente el modelo de epidemia sino también en su estado endémico. Los costos directos e indirectos de los pacientes, el costo neto hospitalario, los costos de control de mosquitos y los costos de productividad perdidos (18).

Para el correcto control poblacional del *Ae. aegypti* es necesario conocer la ecología del mismo, la cual incluye su ciclo de vida y tasas de supervivencia. Estos van a depender tanto de factores bióticos como abióticos; entre estos últimos destaca la temperatura que a su vez varía dependiendo de la época del año. Entre los factores bióticos destacan la densidad, tipo de criaderos, la disponibilidad de alimento, la competencia intra e interespecífica y la calidad del agua; todos estos, determinarán la capacidad vectorial (5, 13, 21). El estudio de estos factores permite generar información para enfocar correctamente los programas de vigilancia, control y erradicación.

En este contexto, se desarrolló el presente trabajo de investigación, titulado: “Estudio comparativo del ciclo de desarrollo y sobrevivencia del *Aedes aegypti* durante la época seca y época lluviosa en la ciudad de Guayaquil” con el objetivo de determinar la duración del ciclo de vida y sobrevivencia del *Ae. aegypti* en la ciudad de Guayaquil durante la época seca y lluviosa.

Para tal efecto se desarrollaron los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar la duración de las fases inmaduras del *Ae. aegypti* en dos tipos de contenedores: plástico versus vidrio.
2. Comparar la duración y la tasa de sobrevivencia observada de los diferentes estadios inmaduros durante la época seca (Noviembre y Diciembre 2014) y la época lluviosa (Febrero y Marzo 2015) en la ciudad de Guayaquil.
3. Analizar el efecto de la temperatura del agua sobre el tiempo de desarrollo y sobrevivencia de las fases inmaduras del *Ae. aegypti*.
4. Comparar si existe diferencia entre tiempos de desarrollo y supervivencia entre poblaciones de *Ae. aegypti* de tres regiones geográficas de la ciudad de Guayaquil: Norte, Centro-norte y Sur.

Este estudio está enmarcado dentro de las investigaciones realizadas por el Proyecto de Sistema Nacional de Vigilancia y Alerta Temprana para el control del Vector de Dengue y Fiebre Amarilla (SATVEC-FASE 1) a cargo del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI-RN, financiado por la Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT

CAPÍTULO 1

1 GENERALIDADES

1.1 Biología y Ecología del *Aedes aegypti*

1.1.1 Distribución y hábitat

El *Ae. aegypti*, originario de África, se encuentra globalmente distribuido a lo largo de las zonas tropicales y subtropicales. Su dispersión se ha dado mayormente debido a causas antropogénicas (5). Se encuentra en altitudes promedio por debajo de los 1 200 msnm, aunque existen registros en altitudes de hasta 2 400 msnm (5, 6, 22). Los factores que modifican su.

distribución son la temperatura, la humedad. Los factores que modifican su distribución son la temperatura, la humedad relativa, las precipitaciones y la presencia de poblaciones humanas con sus distintos factores socioeconómicos (5). Debido a su gran distribución es considerado una peste importante para la transmisión de diversos arbovirus (23).

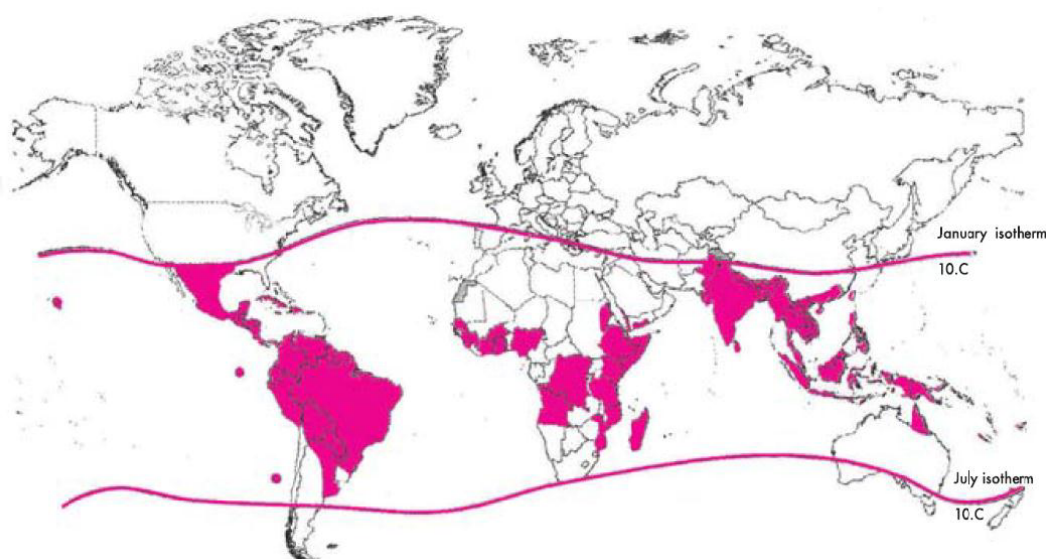


Ilustración 1. Mapa de las áreas en riesgo de transmisión de dengue debido a los límites de distribución del *Aedes aegypti*.

Mapa mundial que muestra en color las áreas en riesgo de transmisión de dengue en 2008 debido a los posibles límites geográficos norte y sur de la distribución del *Ae. aegypti* para supervivencia durante todo el año. [Fuente: Organización Mundial de la Salud (OMS) y Programa Especial para la Investigación y Capacitación de Enfermedades Tropicales (TDR). (2009)].

Desde sus orígenes selváticos, durante el proceso de dispersión esta especie se fue adaptando para coexistir con los humanos en los sitios donde este habita. Es así que actualmente esta es una especie totalmente adaptada

a paisajes urbanos (5). Los sitios de cría en su mayoría son de origen artificial entre los que destacan lotes baldíos, basurales y cementerios en las áreas urbanas y neumáticos, floreros y contenedores de agua de cualquier tipo como criaderos domésticos y entre los criaderos naturales destacan las axilas de plantas y huecos de los árboles (5, 21).

1.1.2 Ciclo de vida

En el ciclo de vida del *Ae. aegypti* se evidencia una metamorfosis completa (holometábolo), es decir que las formas iniciales o inmaduras de vida son totalmente diferentes a las formas maduras. El ciclo de desarrollo del mosquito *Ae. aegypti* consta de cuatro claras fases: huevo, larva, pupa y adulto (5). Los tres primeros estadios son de vida acuática mientras que el último es de vida aérea (21).

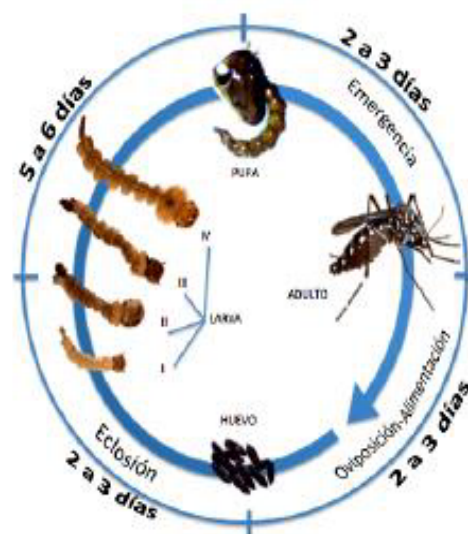


Ilustración 2. Ciclo biológico del *Aedes. aegypti*.

Ciclo biológico del *Ae. aegypti*: huevo, larva, pupa y adulto. Al igual que otros culícidos esta especie presenta un desarrollo larval acuático en el que se puede distinguir 5 fases (Larva 1, larva 2, larva 3, larva 4 y pupa). [Fuente: <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/dengue/vector.html>].

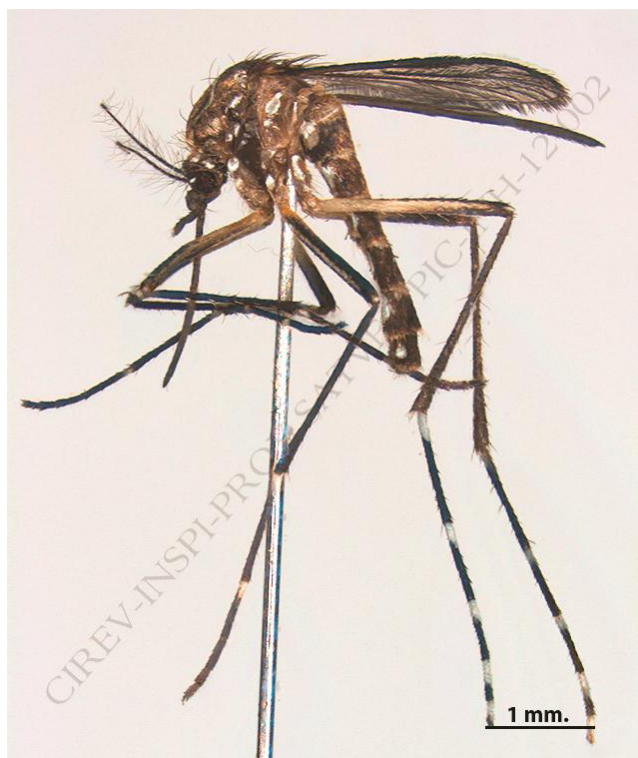
1.1.2.1 Adulto

El mosquito *Ae. aegypti* posee una coloración oscura, con franjas plateadas en sus patas y presentan un patrón de escamas plateadas en forma de lira dorsalmente en el tórax (5). La hembra difiere del macho al ser mucho más voluminosa, poseer casi el doble de peso, la velocidad de vuelo, la nota emitida en el zumbido y sobre todo en la duración promedio de vida que va desde una semana para el macho, mientras que en la hembra puede ser de mes. Sin olvidar la hematofagia, característica exclusiva de las hembras por la cual son capaces de transmitir enfermedades (6, 24).

Poseen hábitos diurnos, generalmente procuran lugares húmedos sin corrientes de aire en los cuales puedan permanecer en reposo (24). Se alimentan de sustancias ricas en azúcar y exudados de frutas (fitófagos). Luego de 24 horas siguientes a la emergencia, ambos sexos pueden aparearse y las hembras necesitan una alimentación sanguínea para iniciar su ciclo gonotrófico (25, 26). Pican preferentemente durante las últimas horas del atardecer y las primeras horas del amanecer (5).

Cuando una hembra completa su alimentación (2 a 3 mm de sangre) logrará desarrollar huevos, que serán dispuestos en distintos sitios para asegurar la viabilidad de la especie. Una hembra puede poner entre 10 a 100 huevos cada 4 a 5 días después de cada ingesta de sangre (11, 27). Se han registrado hasta 750 huevos colocados por una hembra (21).

Bajo condiciones favorables el mosquito no se aleja mucho de los sitios de oviposición, por lo general, una hembra no sobrepasa los 50 m de distancia de vuelo. Sin embargo, cuando los recursos están dispersos puede volar distancias mayores (5). Por ejemplo, si no hay recipientes adecuados, la hembra gravida puede volar hasta 3 Km en busca de un sitio favorable para poner sus huevos (28, 29). También puede dispersarse pasivamente en medios de transporte terrestres, aéreos, marítimos y fluviales (5).



Fotografía 1. Fotografía en vista lateral del *Aedes aegypti* hembra en su fase adulta.

Ae. aegypti hembra. Se observan las franjas plateadas en patas, dorso y abdomen características en la especie. [Fotografía: Giovanni Ramón. Centro de Investigación en Vectores. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI-RN].

Los adultos no resisten temperaturas extremas. La exposición a temperaturas de 38 °C o más suele ser letal en pocos minutos, de igual manera mueren prematuramente al solo estar expuestos a rangos muy próximos o por debajo de los 0 °C (28). La sobrevivencia de los adultos esta correlacionada inversamente con la temperatura, los rangos de sobrevivencia más altos de esta especie se encuentran en temperaturas cercanas a 15 °C y

los rangos más bajos de sobrevivencia se encuentran cerca de los 35 °C (30).

La literatura reporta que el tamaño de los mosquitos adultos puede determinar su eficiencia como vector (31). Así, el tamaño de los mosquitos adultos puede influir en la eficiente transmisión del virus del dengue (32). Dentro del género *Aedes*, características como una mayor frecuencia de ingesta de sangre, mayor sobrevivencia y mayor fecundidad se asocia comúnmente con individuos de mayor tamaño, pudiendo afectar a la capacidad vectorial (33, 34). La longevidad y dispersión no han sido necesariamente asociadas a tamaños más grandes (35).

Sin embargo, algunos estudios han encontrado que mientras más pequeño sea el *Ae. aegypti*, este logrará alimentarse de sangre con mucho más éxito y con mucha más frecuencia infiriendo que los mosquitos pequeños pueden ser mejores vectores que los de mayor tamaño (36, 37, 38).

1.1.2.2 Huevo

Los huevos generalmente no alcanzan el milímetro de longitud, en promedio miden entre 0,6 a 0,8 mm (6, 21). La oviposición se realiza de manera individual en horas del día de baja luminosidad o bien por la noche (21). Cuando recién son colocados, los huevos son de coloración clara y se oscurecen después de unas horas (11, 28). El periodo embrionario generalmente se completa en 48 horas y varía conforme a diversos factores externos, siendo la temperatura el factor de mayor importancia (39).

Los huevos son capaces de resistir la desecación una que han completado su desarrollo embrionario, pudiendo permanecer por meses y aún años en criaderos secos (40). Esto facilita su dispersión (41) y persistencia ante condiciones adversas (42). Cuando los huevos son eventualmente mojados, por la acción bacteriana de la materia orgánica presente en el agua, ocurre una disminución en la saturación de oxígeno que proporciona un estímulo para la eclosión. Algunos huevos responden a este estímulo eclosionando en pocos minutos y otros pueden no responder a este hasta haber sido mojados varias veces (43). La temperatura óptima para la eclosión de los huevos se reporta entre los 24 y 25 °C (44), mientras que temperaturas mayores a 37 °C son letales para estos (44, 45).



Fotografía 2. Huevos de *Aedes aegypti*

Huevos de *Ae. aegypti*: Son colocados de manera individual, de coloración oscura y menor a 1 mm de diámetro. [Fuente: Autor]

1.1.2.3 Larva

Las larvas que eclosionan inician un ciclo de crecimiento de cuatro estadios larvales, completándolo a lo largo de tres mudas. Su tamaño va desde un milímetro hasta los seis o siete mm finales. Poseen gran movilidad con movimientos característicos verticales entre el fondo y la superficie en forma de “S” (44). En su cuerpo se distinguen tres regiones: cabeza, tórax y abdomen (21) en los que destacan ciertos caracteres morfológicos típicos: espículas torácicas laterales fuertes y quitinizadas, un peine de escamas unilinear en el octavo segmento y un sifón con forma de oliva corta de color negro (6, 44).



Fotografía 3. Fotografía en vista dorsal del *Aedes aegypti* en su fase larval.

Figura que muestra la anatomía del estadio larval del *Ae. aegypti*. Se observan sus regiones distintivas: cabeza, tórax y abdomen. [Fotografía: Giovanni Ramón. Centro de Investigación en Vectores. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI].

La alimentación se basa en microorganismos (bacterias, hongos y protozoos) y restos orgánicos (animales o vegetales) suspendidos en el agua (45). Las larvas emergen periódicamente a la superficie para respirar. Las larvas poseen un fuerte fototropismo negativo; invariablemente estas nadan lejos de la luz y se acumulan en la parte del criadero más alejada a la fuente de luz (6). También son altamente sensibles a las vibraciones (6).

La duración del periodo larval generalmente varía entre ocho a diez días cuando las condiciones ambientales son altamente favorables. Numerosos factores influyen sobre el crecimiento de las mismas, algunos inherentes de la propia especie y otros dependientes del ambiente como la temperatura, disponibilidad de alimentos, densidad larval y presencia de depredadores (6, 21). Debido a que son poiquiloterms, la temperatura es un factor principal que afecta a su supervivencia (46, 47). Las larvas son incapaces de resistir temperaturas inferiores a 10 °C o superiores a 42 °C (44).

La temperatura óptima para el desarrollo larval es alrededor de los 28 °C, temperaturas superiores exigen un mayor coste energético provocando que exista un ligero aumento en el tiempo de la tasa de desarrollo, disminución en el tamaño e incremento de la tasa de mortalidad en las primeras etapas del ciclo (48). Las altas y bajas temperaturas pueden ser muy perjudiciales para la supervivencia y desarrollo de las larvas. Para la continuidad de la especie se necesitan temperaturas entre 16 y 34 °C (6).

Las grandes fluctuaciones de temperatura en torno a la media común de 28 °C provocan un aumento en el tiempo de desarrollo del ciclo gonotrófico. También la reducción de la supervivencia de los inmaduros y de

la fecundidad femenina (49). La disponibilidad de alimento afecta la competencia como vector del mosquito (48). Si las larvas se crían en escasez de alimento, el tiempo de desarrollo aumenta y el tamaño de los adultos resultantes se reduce (6). Además, bajo condiciones de hambruna éstas pierden todo rastro de grasa y se vuelven transparentes con el paso del tiempo. El primer estadio larvas puede permanecer algunos días sin comida sin afectar su desarrollo futuro (6).

Las poblaciones son reguladas por procesos dependientes de la densidad poblacional (50, 51). Ésta está basada principalmente en la competencia indirecta entre las larvas por el acceso a los recursos nutricionales (52). A mayor densidad, mayor mortalidad larval y mayor tiempo hasta la pupación (51). Se definen tres tipos de dependencia de densidad basados en la relación entre la densidad inicial y el número final de individuos que sobreviven en etapas posteriores: dependencias de densidad compensatoria, bajocompensatoria y sobrecompensatoria (52).

Por otro lado las poblaciones también son reguladas por procesos independientes de la densidad. A presencia de depredadores acuáticos de los huevos, larvas y pupas de *Ae. aegypti* disminuye la sobrevivencia de las larvas. Este es uno de los factores que tiene en cuenta la hembra grávida

antes de realizar la ovoposición (53). Los depredadores pueden influir directamente en el potencial de crecimiento de las larvas debido a que reducen su densidad y al aumentan la cantidad de materia orgánica del medio (56, 57, 58).

1.1.2.4 Pupa

El estado de pupa es un periodo transitorio, en el cual ocurren profundas transformaciones que llevan a la formación del estadio adulto y al cambio de hábitat acuático por el terrestre. Inicialmente poseen un color blancuzco y mientras maduran se van tornando oscuras (11, 28). La pupa no requiere de alimentación, únicamente usará la energía acumulada durante el estado larval haciendo posible los cambios que ocurrirán (24) para completar su desarrollo hasta la emergencia del adulto entre uno a tres días. Las variaciones extremas de temperatura pueden acelerar este periodo transitorio (56). Las pupas son el estadio acuático con la mayor resistencia, seguida por los estadios larvales L4 y L3 (59). Un estudio reporta que a temperaturas superiores de 40 °C, los estadios inmaduros de *Ae. aegypti* están restringidos a su forma larval, sin poder pupar (59).



Fotografía 4. Fotografía en vista lateral del *Aedes aegypti* en su fase pupal.

Anatomía de la pupa en posición de reposo, mostrando el cefalotórax y el abdomen. [Fuente: Giovanni Ramón. Centro de Investigación en Vectores. Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI].

1.2 Epidemiología del dengue y chikungunya

1.2.1 Epidemiología del dengue

Existen epidemias de dengue en todos los continentes, excepto en la Antártida, principalmente en países pobres donde provoca grandes daños económicos y sociales. El dengue posee la mayor morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Su incidencia ha aumentado en las últimas décadas desencadenando un problema de salud pública global (60).

Se estima que aproximadamente dos quintas partes de la población mundial está en riesgo de contagio y se reportan casos en más de cien países (61). La incidencia anual alcanza los 50 millones de casos, de los cuales 500 000 terminan en hospitalización y 20 000 en muerte. El dengue afecta en su mayoría a niños menores de 15 años (60). El mayor brote reportado sucedió en Vietnam en 1987 con 370 000 casos (61).

El número de casos va en aumento y se están extendiendo a nuevas áreas provocando epidemias de tipo explosivo. Antes de 1970, sólo nueve países reportaban tener epidemias graves, ahora su incidencia ha aumentado 30 veces en las últimas cinco décadas (61).

Durante las últimas décadas, las Américas han registrado el más drástico incremento en la actividad del dengue en especial Brasil, Colombia, Cuba, Ecuador, Perú, Venezuela y Paraguay. Entre 2001 y 2006 se reportaron 3 419 914 casos de dengue en América, de los cuales 79 664 corresponden a dengue hemorrágico con 982 muertes con la circulación de los cuatro serotipos (61).

1.2.2 Epidemiología del chikungunya

La fiebre chikungunya ha sido detectada en más de 60 países en todos los continentes a excepción de Oceanía y la Antártida (10, 62). La enfermedad es originaria de África con infecciones humanas relativamente escasas durante las últimas décadas. Entre los años 1999 y 2000 se reportó un brote importante en la República Democrática del Congo y en 2007 se reportó un brote similar en Gabón (10).

En 2005 se reportaron brotes importantes en islas del Océano Índico, relacionados con casos importados hacia Europa sobre todo en el año 2006. En 2006 y 2007 se reportaron grandes brotes en India, en el cual se vieron afectados países de Asia Sudoriental reportando más de 1,9 millones de casos. En 2007 se reportó el primer brote en Europa registrando 197 casos (10).

En diciembre de 2013 se reportó el primer brote en América en Guayana Francesa y desde entonces el Chikungunya se ha extendido a 24 países de la región, siendo República Dominicana el país más afectado con más de la mitad de los casos del continente (10). En Ecuador, la fiebre chikungunya ha generado hasta abril del presente año 3.692 casos siendo las provincias de Esmeraldas y Manabí las más afectadas (11).

1.3 *Ae. aegypti* como vector

Ae. aegypti es conocido por poder adaptarse a condiciones ambientales variantes, mostrando incrementos poblacionales temporales y variabilidad temporal en la competencia vectorial (63). Múltiples factores biológicos y antropogénicos determinan la epidemiología del dengue, la ecología y el comportamiento del vector entre los que destacan: cambios demográficos de las poblaciones humanas, urbanización, velocidad y volumen del tráfico internacional, introducción de nuevos genotipos del virus del dengue, resistencia a insecticidas, prácticas de manejo deplorables y picos estacionales en la población del vector y la ocurrencia de dengue (64, 65).

La capacidad vectorial describe la propensión de un vector para transmitir el virus del dengue teniendo en cuenta las interacciones vector-humano-virus. La relación entre los factores climáticos y la biología del *Ae. aegypti* están bien establecidas y determinan la eficiencia del vector en transmitir el dengue (59). Esta es altamente dependiente de la temperatura (66). La fórmula de la capacidad vectorial (C) está dada por:

$$C = \frac{m a^2 p^n}{-\ln p}$$

Dónde: m = densidad del vector en relación a los humanos

a = número de alimentaciones sanguíneas tomadas en humanos por vector por día (= índice de alimentación sanguínea humana multiplicado por 0.5 si el ciclo gonotrófico se asume en dos días)

p = probabilidad de sobrevivencia diaria (o la proporción de la sobrevivencia del vector por día

n = periodo de incubación en el vector (días) (67)

La temperatura puede influir en el desarrollo de los estadios larvales, ejerciendo influencia en la capacidad de los adultos de infectarse y transmitir los virus (29). Condiciones óptimas de temperatura para el desarrollo de inmaduros se obtienen por encima de los 20°C, se ha demostrado que el límite térmico inferior para el desarrollo completo (con un 24% de sobrevivencia) es de 14°C. A temperaturas iguales o inferiores a 13°C se reporta una mortalidad total (68). Mientras que el límite superior de temperatura se establece en 35°C, temperaturas por encima de este límite ocasionan un decline en el desarrollo (69).

Estudios han demostrado que el rango de temperatura diurna (DTR) puede alterar las estimaciones del desarrollo de los estadios inmaduros en mosquitos aedinos y anofelinos y su competencia vectorial por los parásitos de malaria y el virus del (49, 69). Un gran DTR reduce la supervivencia de las larvas y extiende el tiempo de desarrollo de *Ae. aegypti*; por otro lado un pequeño DTR acelera la velocidad de desarrollo de los machos y aumenta la reproducción femenina (49).

La supervivencia del vector es uno de los componentes más importantes de la transmisión de patógeno. El aumento de la supervivencia permite al vector producir más descendencia, dispersarse a mayores distancias, sobrevivir el tiempo suficiente para convertirse en infeccioso y poder obtener picaduras más infecciosas durante el resto de su vida (70, 71)

Un aumento limitado de la temperatura favorecerá un aumento en la tasa de picadura, acelerará el desarrollo de los mosquitos y por lo tanto aumentará la densidad relativa del vector (72). También se reduce el periodo de incubación intrínseca, aumenta la tasa de replicación del virus y el número de comidas de sangre durante el ciclo gonotrófico. La alta humedad también contribuye a un aumento de la replicación del virus (59).

1.4 Control vectorial

Debido a que no se ha podido desarrollar una vacuna efectiva, el control de la enfermedad se ha focalizado en la reducción de las poblaciones del mosquito vector (18). Uno de los métodos de control consiste en atacar los criaderos más productivos para la reproducción del vector. Este manejo ambiental se enfoca en cambiar el ambiente alterando y eliminando los recipientes abandonados que sirven como hábitats larvarios, con el fin de minimizar la propagación del vector y el contacto con humanos (5, 13).

Otras estrategias basadas en el manejo ambiental consisten en mejorar los sistemas de suministro y almacenamiento de agua, el uso de recipientes a prueba de mosquitos para el almacenamiento de agua, el buen manejo de los desechos sólidos, mantener la limpieza de las calles y realizar mejoras en las estructuras de edificios (13).

Otro sistema de control que se emplea habitualmente es el control químico mediante el uso de larvicidas y adulticidas, este método debería ser empleado complementariamente al manejo ambiental y restringirse a aquellos recipientes que no se puedan manejar ni eliminar de otra forma. Los larvicidas basados en metopreno, piriproxifeno y temefos han sido los más usados. Se han realizado varias pruebas por parte del Programa

Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas (IPCS por sus siglas en inglés) para determinar su uso como tal en agua potable en dosis que sean efectivas contra larvas de *Ae. aegypti* (13).

El uso de adulticidas en fumigaciones espaciales solo se recomienda en el control de situaciones de emergencia, para detener una epidemia en proceso o para prevenirla en sus primeras fases. La fumigación tiene como objetivo la destrucción rápida y masiva de las poblaciones de vectores adultos. Entre los factores esenciales para la eficiencia de este método destacan la susceptibilidad al insecticida, el tamaño de las gotas, la tasa de aplicación y la penetración del insecticida en la vivienda (13). La selección del insecticida usado en la fumigación debe basarse en el impacto ambiental inmediato que pueda generar y la conformidad de las comunidades (13).

El amplio uso de insecticidas para el control de los vectores del dengue ha dado como resultado la aparición de poblaciones de *Ae. aegypti* resistentes a insecticidas. Se han reportado niveles de resistencia significativos a plaguicidas organofosforados, piretroides, carbamatos y organoclorados. Esta resistencia representa una amenaza potencialmente grave en los controles efectivos del vector (13, 73).

El control biológico es otra alternativa para diezmar las poblaciones de *Ae. aegypti*. Este consiste en la introducción de organismos que depreden, parasiten, compitan o de alguna forma reduzcan las poblaciones de las especies objetivo. Para el control de *Ae. aegypti* han sido efectivos ciertas especies de peces larvívoros (*Gambusia affinis*, *Poecilia reticulata*, *Tilapia mossambica* y *Sarotherodon niloticus*) (74), nematodos parásitos (75) y copépodos depredadores (*Macrocyclus albidus* y *Mecocyclops longisetus*) (13).

Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) es una bacteria Gram-positiva usada como larvicida; actúa cuando es ingerido (76) al liberar inclusiones cristalinas denominadas d-endotoxinas altamente tóxicas sólo para insectos (77). Debido a su alta toxicidad selectiva y su bajo impacto ambiental se lo ha usado desde la década de los ochenta (78) y ha reemplazado al uso de temefos organofosforados (79). Hasta el momento no se ha reportado resistencia a la bacteria (80, 81, 82, 83). Para un correcto control de mosquitos con Bti se debe considerar la temperatura del agua, densidad de las larvas, origen de las poblaciones y concentraciones de uso (84).

CAPÍTULO II

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de Estudio

El estudio de ciclo de vida de *Ae. aegypti* se realizó en la sede de Salud Animal del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) en la ciudad de Guayaquil (2°09'49.0" S, 79°53'32.8" O, 0 msnm).

2.2 Material biológico

La toma de ejemplares de *A. aegypti* en estadios inmaduros y maduros se realizó dentro de 50 casas en tres zonas geográficas de Guayaquil: Bastión Popular -2,080749 S, -79,933771 W (Norte), Cooperativa Juan Montalvo -2,123078 S, -79,924437 W (Centro-Norte) y Guasmo -2,260880 S, -79,889267 W (Sur) durante los meses de octubre de 2014 y enero-febrero de 2015, para montar las colonias respectivas, las cuales sirvieron para la realización del estudio de ciclo de vida.



Ilustración 3. Zonas escogidas para la recolección de muestras en la ciudad de Guayaquil

(Fuente: Google maps)

Los ejemplares en estadios inmaduros se recolectaron por extracción con pipeta dentro de los criaderos encontrados en las viviendas de los sectores escogidos. Los adultos se recolectaron por medio de aspiraciones con mochila.

2.3 Montaje de las colonias

Para obtener huevos de *Ae. aegypti* de las tres zonas, fue necesario montar tres colonias distintas; por ello a los individuos recolectados fueron criados en laboratorio hasta que alcanzaron su fase adulta y fueran capaces de reproducirse.

A los individuos inmaduros se los mantuvo en contenedores de plástico con aproximadamente 250 ml de agua, manteniendo la misma cantidad de individuos en que se encontraban en su criadero original, y se los alimentó dos veces a la semana con solución de levadura al 1%. Se dispuso de flotadores dentro de los criaderos para que puedan emerger los individuos adultos. Se procedió a rescatar a los adultos por medio de un aspirador manual, se cuantificaron y sexaron.

Los adultos emergidos fueron depositados dentro de sus respectivas jaulas de cría. Se les proporcionó solución de sacarosa al 10% embebida en algodón para su alimentación. Se depositó un cobayo (*Cavia porcellus*) dentro de la jaula de la colonia durante cinco días a la semana por un lapso de 3 a 4 horas diarias para que las hembras puedan proceder a la ingesta de sangre. Se colocaron recipientes con agua con una tira de papel filtro para que las hembras pudieran realizar la oviposición.

2.4 Obtención de huevos fértiles

Los huevos depositados se mantuvieron sumergidos en agua por un periodo de 48 horas para asegurar la viabilidad de los mismos. Luego se los dejó secar a temperatura ambiente por lapso de dos horas y se los almacenó en cajas Petri hasta la realización del estudio.

2.5 Estudio de desarrollo de vida y sobrevivencia

Una vez eclosionados los huevos obtenidos previamente, las larvas (n=20) fueron depositadas en sus respectivos contenedores con 250 ml de agua reposada. En total se usaron 30 contenedores los cuales se dividieron en 15 contenedores por tipo de material (vidrio y plástico), los cuales se subdividieron en 5 contenedores por cada zona (norte, centro y sur). En cada contenedor se colocó una malla de tela fina, asegurada con un elástico, para

evitar que los mosquitos escapen al emerger. Adicionalmente se colocó dos contenedores control (sin larvas), uno plástico y el otro de vidrio en los cuales se colocaron los data loggers para la medición de temperatura del agua con el registrador modelo HOBO Water Temp Pro v2. Estos data loggers fueron programados previamente para registrar la temperatura del agua cada media hora a lo largo del estudio.

El estudio se montó en un espacio abierto en las instalaciones de del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI, Edificio de Salud Animal en la ciudad de Guayaquil. Se escogió este sitio para que los estadios inmaduros de esta especie pudieran experimentar las condiciones naturales de temperatura y humedad durante las épocas seca y lluviosa. Sin embargo, el lugar donde se colocaron los contenedores estuvo bajo techo para proteger a los contenedores de la lluvia y evitar que estos se inunden.



Fotografía 5. Contenedores de crianza de larvas de *Aedes aegypti* bajo condiciones naturales.

(Fuente: Autor)

Las larvas se alimentaron con una frecuencia de dos veces por semana con una solución de levadura al 1% y se realizaron cambios de agua a todos los contenedores cada vez que la turbidez del agua fue excesiva (dos veces durante la época seca y una vez durante la época lluviosa). Las larvas muertas y las exuvias fueron extraídas diariamente para llevar un registro diario de mortalidad y desarrollo de vida.

2.6 Análisis estadísticos

Se calcularon los porcentajes de sobrevivencia y por estadios y de los adultos emergidos de todos los contenedores. Así mismo, se calcularon los rangos del tiempo que duró el desarrollo de los estadios inmaduros.

2.6.1 Análisis de temperatura

También se calculó la temperatura promedio de todos los contenedores de ambos tratamientos (vidrio y plástico) con su respectiva desviación estándar, tanto para la época seca como para la época lluviosa. Para establecer si existían diferencias entre las temperaturas registradas entre los dos tipos de contenedores (vidrio vs. plástico) tanto para la época seca como la lluviosa, se usó una prueba de T sobre las medias diarias de la temperatura. Se usó un Test de Shapiro para ver si los datos estaban normalmente distribuidos.

Se hicieron correlaciones entre las temperaturas y la supervivencia en cada tipo de contenedor. Para esto se promedió el número de larvas para todos los contenedores de vidrio (norte, centro y sur) y para los de plástico (norte, centro y sur) y se hicieron las dos correlaciones respectivas con los datos de temperatura de cada tipo de contenedor para ambas épocas. Debido a que los datos de supervivencia diaria (número de larvas) no

estaban normalmente distribuidos se usó una correlación de Spearman en cada caso.

Para comparar la temperatura registrada diariamente entre las dos épocas se usó una prueba de "T" no pareada con igualdad de varianzas. Para comparar la variación de la temperatura a lo largo del día entre las dos épocas se usó un Test de Wilcoxon.

2.6.2 Análisis de supervivencia y tiempo de desarrollo

Se realizó un ANOVA en el que se compararon los tiempos de desarrollo de *Ae. aegypti* entre las épocas (seca y lluviosa), las zonas (norte, centro y sur) y los tipos de contenedores (vidrio y plástico). Se usaron tests de Shapiro para ver si los datos estaban normalmente distribuidos y tests de Levene para ver si las varianzas eran homogéneas; esto para cada comparación. Debido a que en algunos casos los datos no estaban normalmente distribuidos y las varianzas no eran homogéneas se realizó una transformación logarítmica ($\log_{10}$) de los datos, lo que permitió un mejor ajuste.

Debido a que los factores de interacción entre todas las variables resultaron no-significativos (ver Resultados), se volvió a correr el ANOVA sin incluir dichos términos. Esto con el fin de mejorar el modelo y asegurar la validez de los resultados del test. Los análisis estadísticos se hicieron usando el software R (versión 3.1.3).

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS

Luego de descargar los datos de temperatura del agua registrada por los data loggers y obtener el registro de sobrevivencia y ciclo de vida del *Ae. aegypti* durante las épocas seca y lluviosa se obtuvieron los siguientes resultados:

3.1 Época seca

El estudio de ciclo de vida durante la época seca se realizó desde el 04/11/2014 hasta el 03/01/2015 teniendo una duración total de 61 días hasta que el último individuo alcanzó su fase adulta o falleció.

Los individuos correspondientes a la zona sur fueron los primeros en completar su ciclo de desarrollo en 54 días y una tasa de sobrevivencia del 14%. Los individuos de la zona centro fueron los que completaron su desarrollo en el periodo más largo con una duración de 61 días y una tasa de sobrevivencia de 18,5 %. Los individuos de la zona norte completaron su desarrollo en 58 días con una tasa de sobrevivencia del 19,5 %. Siendo ésta la más alta entre las tres zonas.

La tasa de sobrevivencia de los individuos en el tratamiento de vidrio fue de 21% en la zona norte, 13% en la zona centro y de 12% en la zona sur; obteniendo una sobrevivencia global de 15,66%. Por otro, lado la tasa de sobrevivencia en el tratamiento de plástico fue de 18% en la zona norte, 22% en la zona centro y de 16% en la zona sur; obteniendo una sobrevivencia global de 19%.

La observación de la primera larva en estadio L4 fue en el día 18 en un contenedor de plástico de la zona norte. La primera pupa fue observada en ese mismo contenedor en el día 19. Y el primer adulto en emerger se observó en ese mismo contenedor en el día 20.

El tiempo de desarrollo (número de días) y sobrevivencia (%) de cada estadio fue el siguiente:

Tabla I. Registro de rango de duración de los estadios de *Ae. aegypti* con su porcentaje de sobrevivencia durante la época seca.

En esta tabla se encuentran los registros de sobrevivencia, rango de duración del desarrollo de los estadios inmaduros, rango de emergencia de los adultos de las tres zonas para los dos tipos de contenedores durante la época seca. También se incluye la moda del tiempo de duración de desarrollo de los estadios inmaduros. (Fuente: Elaborado por el Autor)

Zona	Contenedor		Estadio				
			L1L2	L3	L4	P	A
Norte	Vidrio	Rango	8-28	4-37	3-18	1-3	29-56
		Moda	18	15	11	2	40
		Sobrev.	55	32	24	21	21
	Plástico	Rango	2-21	3-21	1-24	1-3	20-51
		Moda	15	6	19	2	39
		Sobrev.	63	41	22	19	18
Centro	Vidrio	Rango	8-26	7-20	7-24	1-3	33-52
		Moda	19	11	11	2	45
		Sobrev.	62	30	15	13	13
	Plástico	Rango	8-26	5-23	8-24	1-5	33-61
		Moda	21	8	14	2	49
		Sobrev.	79	42	28	22	22
Sur	Vidrio	Rango	2-23	1-22	7-28	1-3	36-55
		Moda	18	8	17	2	47
		Sobrev.	66	30	13	12	12
	Plástico	Rango	2-22	1-22	9-23	1-3	30-55
		Moda	19	17	9	2	45
		Sobrev.	66	38	18	16	16

La temperatura promedio registrada en todos los contenedores fue de 27,14 °C. La temperatura promedio registrada en el tratamiento vidrio fue de 26,96 °C $\pm$ 3,83°C. Y la temperatura promedio registrada en el tratamiento plástico fue de 27,32 °C $\pm$ 4,05°C. La máxima temperatura registrada en todos los contenedores fue de 37,87 °C y se registró en el tratamiento de plástico. La mínima temperatura registrada en todos los contenedores fue de 21,22 °C y se registró en el tratamiento de vidrio.

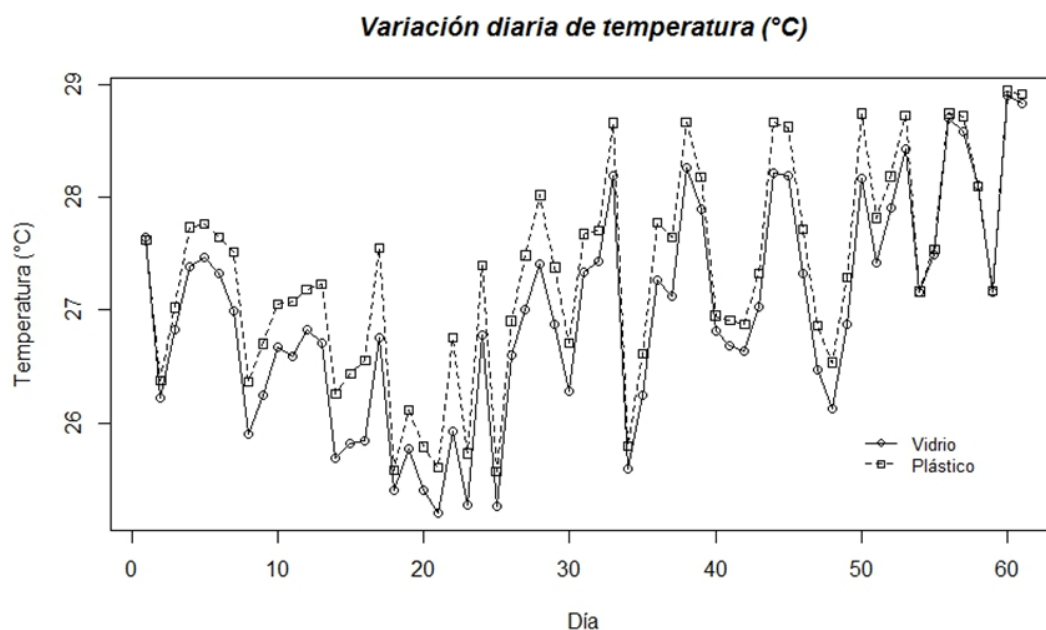


Gráfico 1. Variación promedio de la temperatura en los contenedores de plástico y vidrio durante la época seca.

Gráfico que muestra la variación promedio de la temperatura en los contenedores de vidrio y de plástico durante el estudio de ciclo de vida en la época seca comprendida entre los meses de noviembre y enero, con una duración de 61 días. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

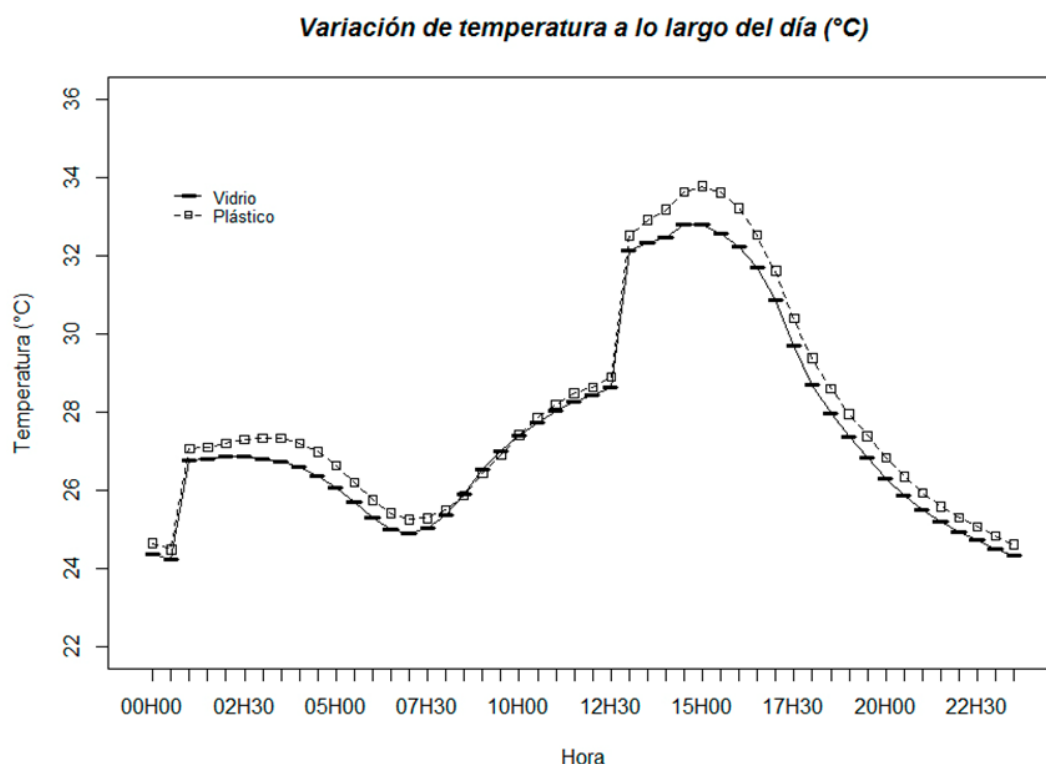


Gráfico 2. Variación promedio de la temperatura a lo largo del día durante el desarrollo del estudio (época seca).

Gráfico que demuestra la variación promedio de la temperatura a lo largo del día en los contenedores de vidrio y de plástico durante el estudio de ciclo de vida en la época seca comprendida entre los meses de noviembre y enero. Para elaborar este gráfico se tomó el promedio de temperatura cada media hora durante 61 días. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

Usando un Test de Shapiro se demostró que tanto los datos de temperatura de los contenedores de vidrio ($W = 0,97$, $P = 0,30$) como de los de plástico ($W = 0,97$, $P = 0,11$) estaban normalmente distribuidos.

Usando una prueba de T sobre las medias diarias de temperatura se encontró diferencias significativas entre los dos tratamientos ($t_{(2)120} = -2,09$, $P = 0,038$ media vidrio= 26,96, media plástico= 27,32). En este caso la temperatura promedio fue mayor en los contenedores de plástico.

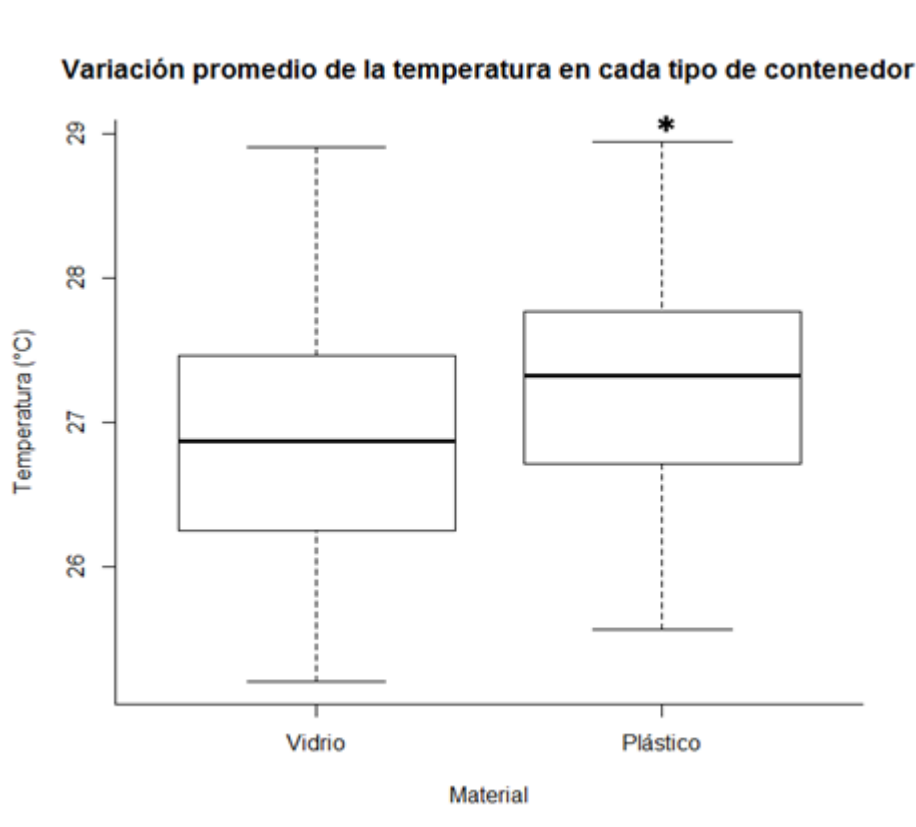


Gráfico 3. Temperatura promedio en cada uno de los tipos de contenedor (vidrio vs. Plástico).

Grafico que muestra la variación promedio de la temperatura registrada en la época seca entre los contenedores de vidrio y de plástico. La prueba de T encontró diferencias significativas entre los dos tratamientos ($t_{(2)120} = -2.09$, $P = 0.038$). (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

3.1.1. Correlación de temperatura y sobrevivencia durante la época seca

Se encontró una correlación negativa altamente significativa entre la sobrevivencia diaria y la temperatura promedio diaria correspondiente al tratamiento de vidrio (correlación de Spearman, $r_s = -0.49$, $S = 53785.96$, $P > 0.001$, $N = 61$), lo que indica que mientras mayor fue la temperatura promedio la sobrevivencia era menor.

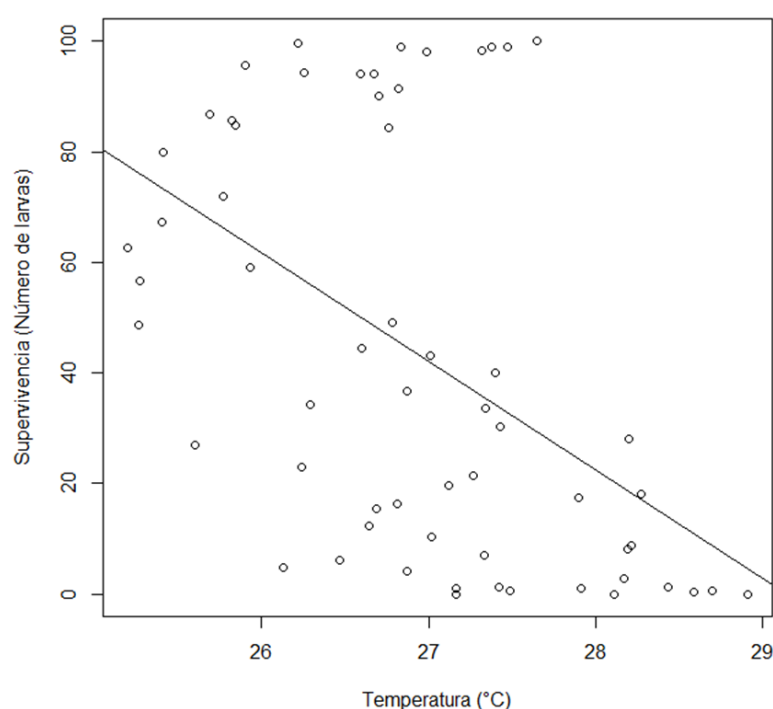


Gráfico 4. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de vidrio y la sobrevivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material durante la época seca.

Gráfico que muestra la correlación de Spearman negativa entre la temperatura media por día y la sobrevivencia de las larvas en el tratamiento de vidrio durante la época seca. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

Así mismo, se encontró una correlación negativa altamente significativa entre la supervivencia diaria y la temperatura promedio diaria correspondiente al tratamiento de plástico (correlación de Spearman, $r_s = -0,45$, $S = 52290,94$, $P > 0,001$, $N = 61$).

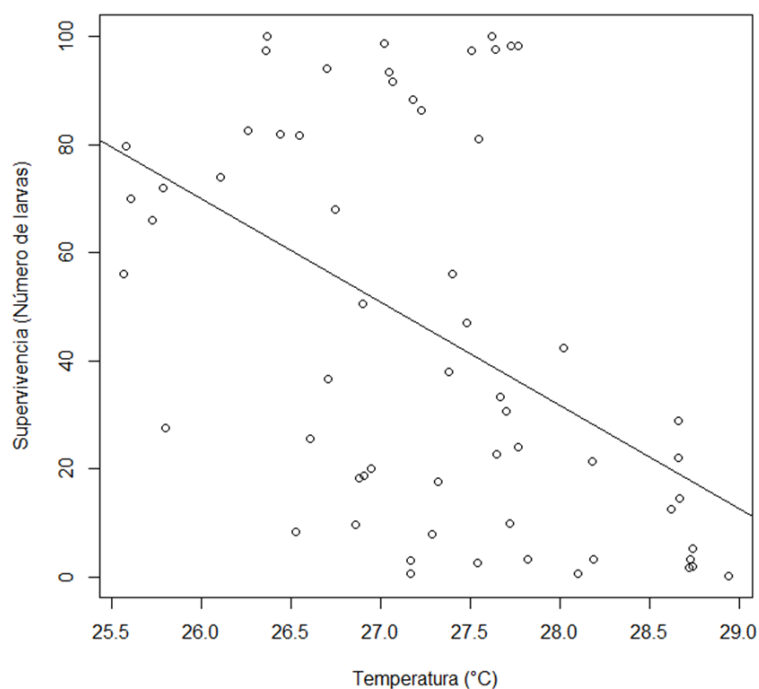


Gráfico 5. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de plástico y la supervivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material durante la época seca.

Gráfico que muestra la correlación de Spearman negativa entre la temperatura media por día y la supervivencia de las larvas en el tratamiento de plástico durante la época seca. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

3.2 Época lluviosa

El estudio de ciclo de vida durante la época lluviosa se realizó desde el 28/02/2015 hasta el 06/04/2015 teniendo una duración total de 38 días hasta que el último individuo alcanzó su fase adulta o falleció.

Las tres zonas completaron su ciclo de desarrollo en 38 días. Se registraron los siguientes porcentajes de sobrevivencias: para la zona norte de 34%, la zona centro con un 31% y la zona sur con un 32%.

La tasa de sobrevivencia de los individuos en el tratamiento de vidrio fue de 34% en la zona norte, 33% en la zona centro y de 30% en la zona sur; obteniendo una sobrevivencia global de 32,33%. Por otro, lado la tasa de sobrevivencia en el tratamiento de plástico fue de 34% en la zona norte, 29% en la zona centro y de 34% en la zona sur; obteniendo una sobrevivencia global de 32,33%.

La observación de la primera larva en estadio L4 se evidenció en el día 8 en un contenedor de vidrio de la zona norte. La primera pupa fue observada en ese mismo contenedor en el día 10, pero esta murió tratando de emerger. Y el primer adulto en emerger se observó en dos contenedores

en el día 25 pertenecientes a contenedores de vidrio de las zonas norte y centro.

El tiempo de desarrollo (número de días) y sobrevivencia (%) de cada estadio fue el siguiente:

Tabla II. Registro de rango de duración de los estadios de *Ae. aegypti* con su porcentaje de sobrevivencia durante la época lluviosa.

En esta tabla se encuentran los registros de sobrevivencia, rango de duración del desarrollo de los estadios inmaduros, rango de emergencia de los adultos de las tres zonas para los dos tipos de contenedores durante la época lluviosa. También se incluye la moda del tiempo de duración de desarrollo de los estadios inmaduros. (Fuente: Elaborado por el Autor)

Zona	Contenedor		Estadio				
			L1L2	L3	L4	P	A
Norte	Vidrio	Rango	3-24	1-28	1-15	1-3	25-38
		Moda	21	1	4	2	29
		Sobrev.	55	38	34	34	34
	Plástico	Rango	3-27	1-14	4-24	1-7	22-38
		Moda	17	5	6	1	38
		Sobrev.	50	39	34	34	34
Centro	Vidrio	Rango	7-24	2-17	1-12	1-5	25-38
		Moda	14	6	9	1	36
		Sobrev.	43	37	33	33	33
	Plástico	Rango	3-21	1-14	3-16	1-3	21-38
		Moda	12	7	5	2	31
		Sobrev.	48	32	29	29	29
Sur	Vidrio	Rango	9-23	1-12	1-14	1-3	26-38
		Moda	22	4	5	2	36
		Sobrev.	41	33	30	30	30
	Plástico	Rango	3-25	1-17	1-14	1-3	26-38
		Moda	17	3	8	2	36
		Sobrev.	49	41	34	34	34

La temperatura promedio registrada en todos los contenedores fue de 27,50 °C. La temperatura promedio registrada en el tratamiento vidrio fue de 27,23 °C $\pm$ 2,57 °C. Y la temperatura promedio registrada en el tratamiento plástico fue de 27,77 °C $\pm$ 2,89 °C. La máxima temperatura registrada en todos los contenedores fue de 35,99 °C que se registró en el tratamiento de plástico. La mínima temperatura registrada en todos los contenedores fue de 22,68 °C que se registró en el tratamiento de plástico.

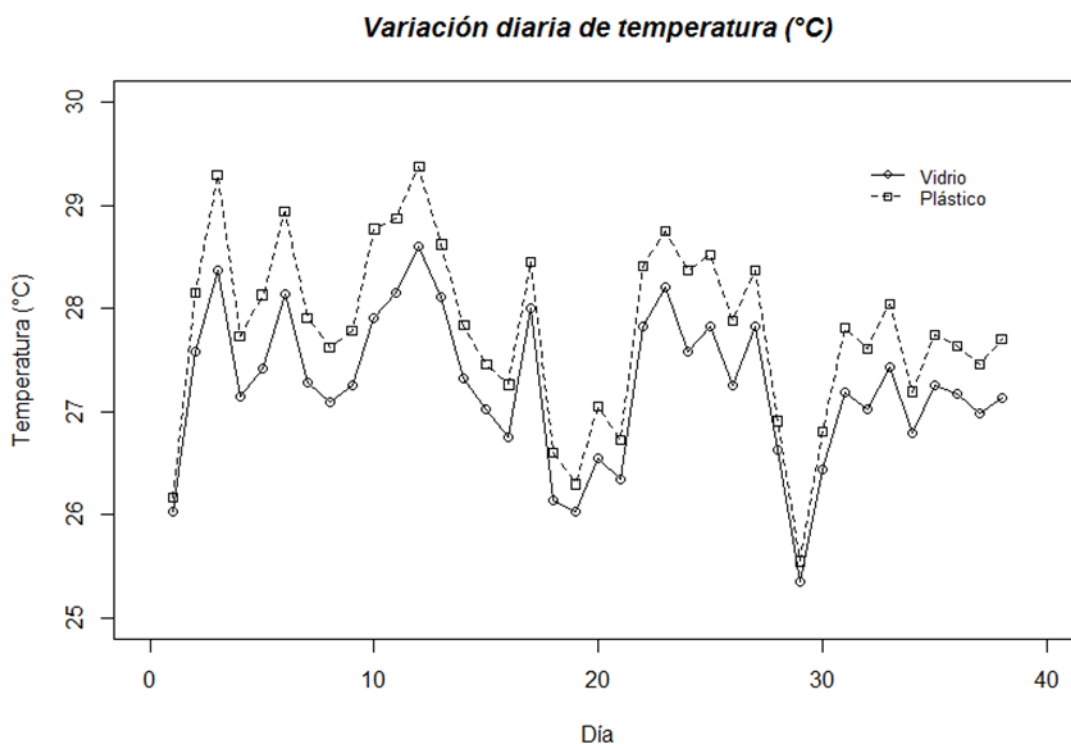


Gráfico 6. Variación promedio de la temperatura en los contenedores de plástico y vidrio durante la época lluviosa.

Gráfico que muestra la variación promedio de la temperatura en los contenedores de vidrio y de plástico durante el estudio de ciclo de vida en la

época lluviosa comprendida entre los meses de febrero y abril, con una duración de 38 días. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

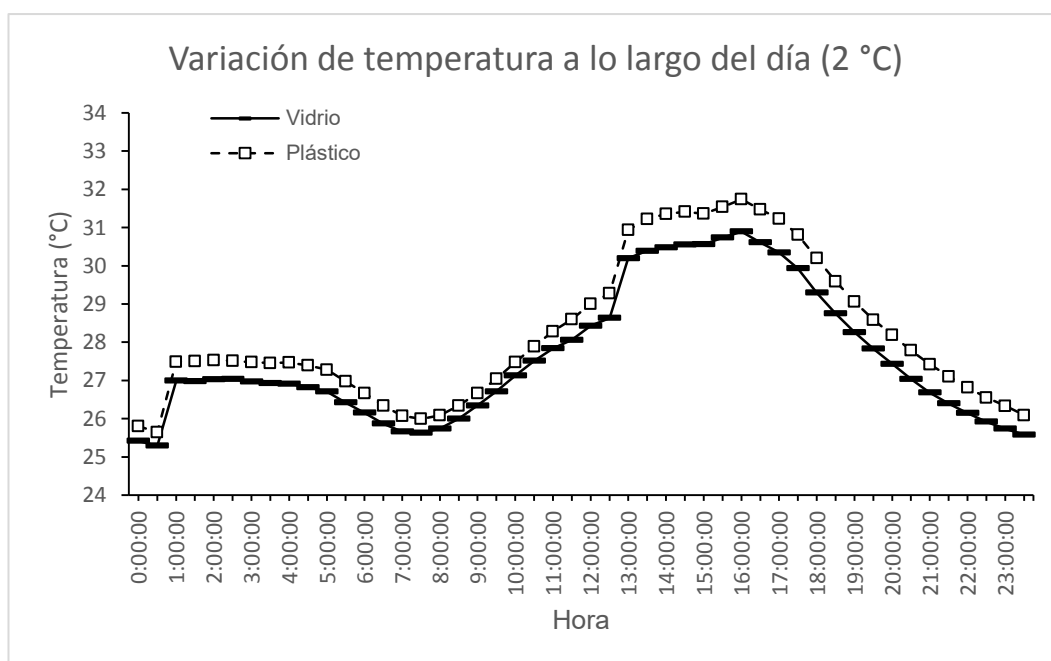


Gráfico 7. Variación promedio de la temperatura a lo largo del día durante el desarrollo del estudio (época lluviosa).

Gráfico que demuestra la variación promedio de la temperatura a lo largo del día en los contenedores de vidrio y de plástico durante el estudio de ciclo de vida en la época lluviosa comprendida entre los meses de febrero y abril. Para elaborar este gráfico se tomó el promedio de temperatura cada media hora durante 38 días. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

Usando un Test de Shapiro se demostró que tanto los datos de temperatura de los contenedores de vidrio ($W = 0,97$, $P = 0,68$) como de los de plástico ($W = 0,97$, $P = 0,76$) estaban normalmente distribuidos.

Usando una prueba de T sobre las medias diarias de temperatura se encontró diferencias significativas entre los dos tratamientos ($t_{(2)74} = -2,95$, $P = 0,00419$, media vidrio= 27,24, media plástico= 27,78). Al igual que en la época seca, la temperatura promedio fue significativamente mayor en los contenedores de plástico.

Variación promedio de la temperatura en cada tipo de contened

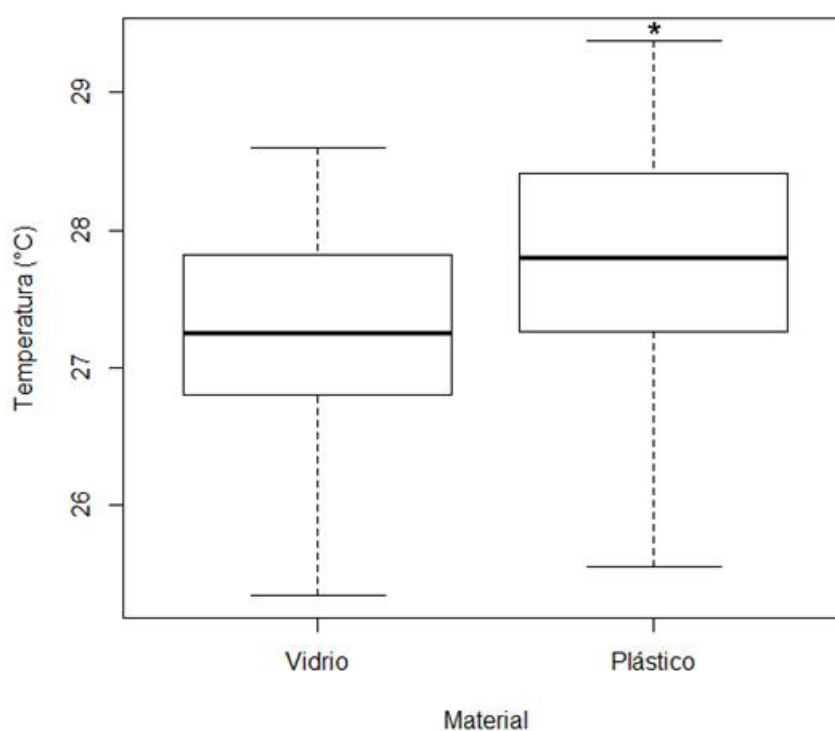


Gráfico 8. Temperatura promedio en cada uno de los tipos de contenedor (vidrio vs. Plástico).

Gráfico que muestra la variación promedio de la temperatura registrada en la época seca entre los contenedores de vidrio y de plástico. *La prueba de T encontró diferencias significativas entre los dos tratamientos ($t_{(2)120} = -2,09$, $P = 0,038$). (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

3.2.1 Correlación entre temperatura y sobrevivencia

Se encontró una correlación positiva no significativa entre la sobrevivencia diaria y la temperatura promedio diaria correspondiente al tratamiento de vidrio (correlación de Spearman, $r_s = 0,31$, $S = 5836,72$, $P = 0,06$, $N = 38$), lo que indica que mientras mayor fue la temperatura promedio la sobrevivencia era mayor.

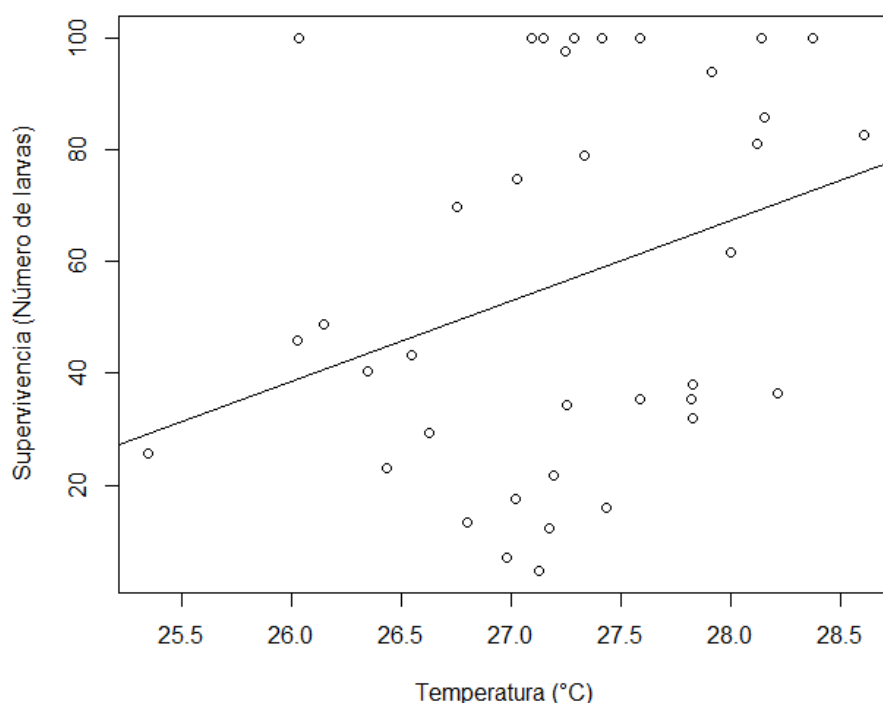


Gráfico 9. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de vidrio y la sobrevivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material.

Gráfico que muestra la correlación de Spearman positiva entre la temperatura media por día y la sobrevivencia de las larvas en el tratamiento de vidrio durante la época lluviosa. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

Así también se encontró una correlación positiva significativa entre la supervivencia diaria y la temperatura promedio diaria correspondiente al tratamiento de plástico (correlación de Spearman, $r_s = -0,32$, $S = 5743,56$, $P = 0,05$, $N = 38$).

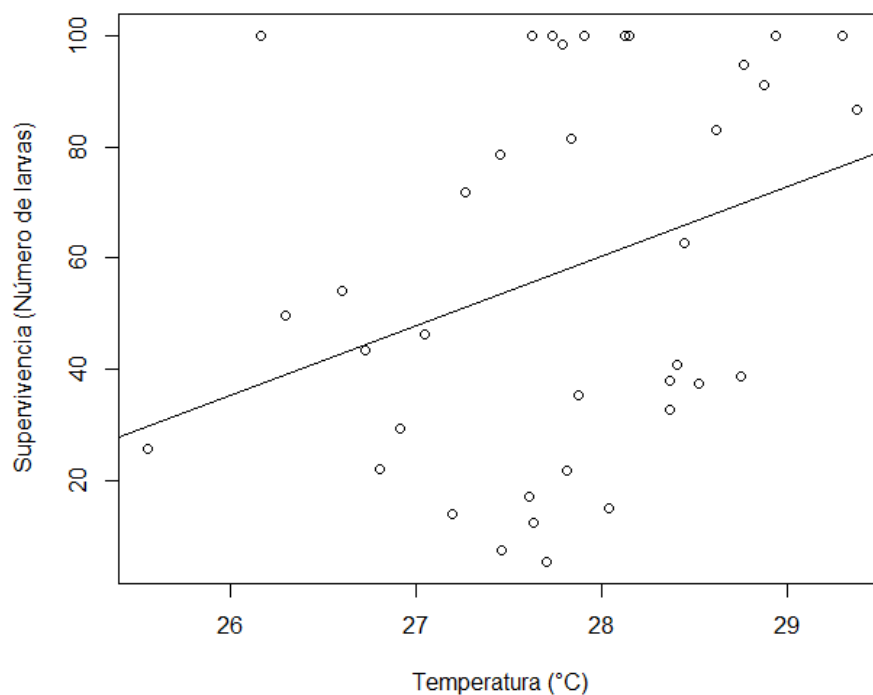


Gráfico 10. Gráfico de dispersión entre la temperatura de los contenedores de plástico y la supervivencia de las larvas que estuvieron en los contenedores del mismo material durante la época lluviosa.

Gráfico que muestra la correlación de Spearman positiva entre la temperatura media por día y la supervivencia de las larvas en el tratamiento de plástico durante la época seca. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

3.3 Comparación entre época seca y lluviosa

3.3.1 Variaciones en la temperatura del agua

Las dos épocas están marcadas por diferencias de temperaturas de los contenedores. Una prueba de “t” no pareada (con igualdad de variancias) encontró que en promedio las temperaturas fueron más altas a lo largo de la época lluviosa ($t_{(2)96} = 2,23$, $P = 0,028$, media vidrio= 27,51, media plástico= 27,11).

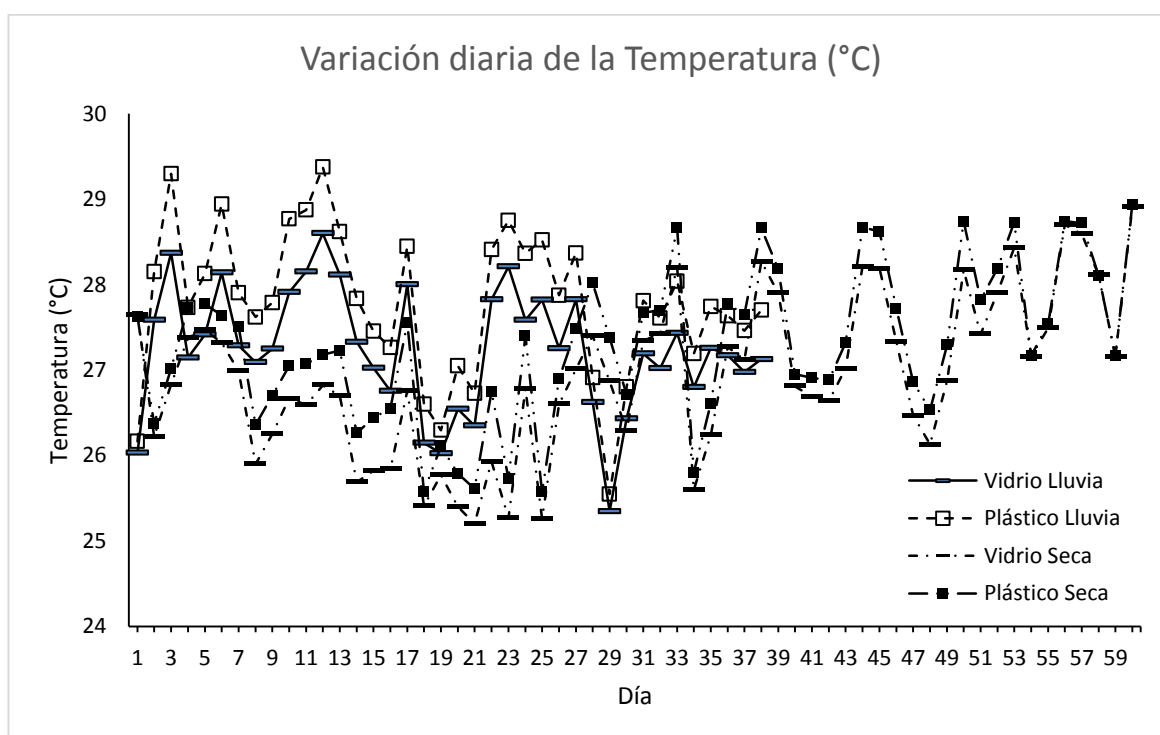


Gráfico 11. Variación diaria promedio de la temperatura del agua en los contenedores de plástico y vidrio a lo largo del estudio de desarrollo de *Ae. aegypti*.

Gráfico que muestra la variación promedio de la temperatura en los contenedores de vidrio y de plástico durante el estudio de ciclo de vida durante las épocas seca y lluviosa (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

Así también se analizó la variación de la temperatura a lo largo del día para las dos épocas. No se detectaron diferencias significativas en las temperaturas a lo largo del día entre la época seca y la época lluviosa (test de Wilcoxon, $W(2)48= 1330$, $P= 0,19$)

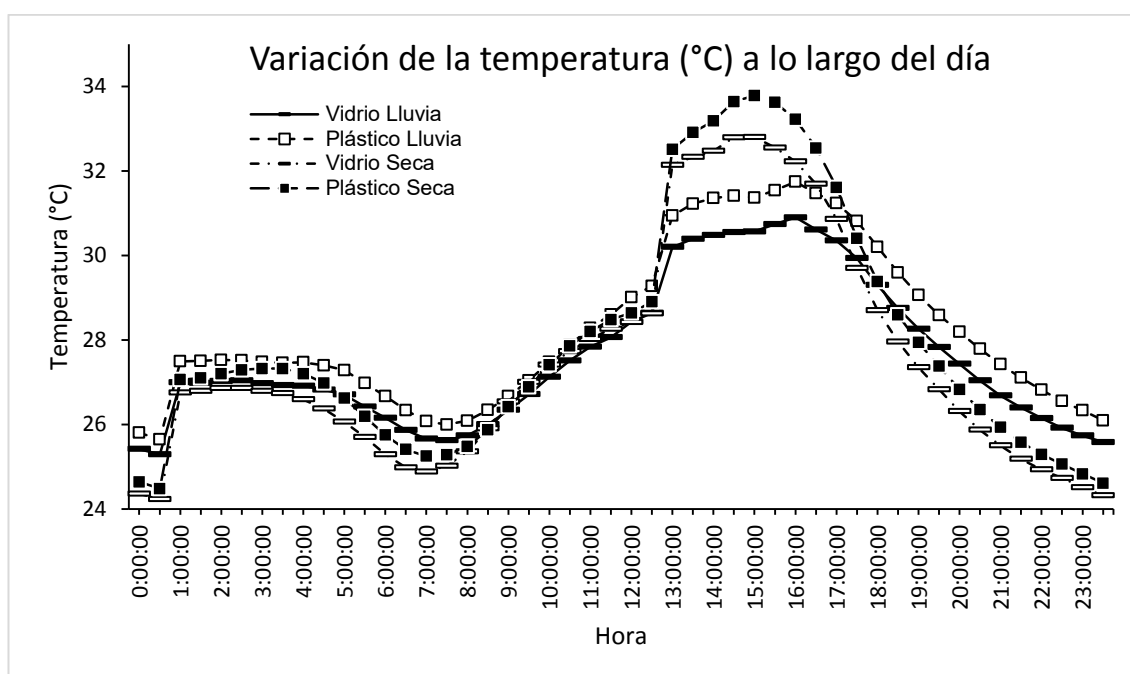


Gráfico 12. Variación promedio de la temperatura del agua a lo largo del día durante el desarrollo del estudio de desarrollo de *Ae. aegypti*.

Gráfico que demuestra la variación promedio de la temperatura a lo largo del día en los contenedores de vidrio y de plástico durante el estudio de ciclo de vida durante las épocas seca y lluviosa. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

3.3.2 Análisis de tiempo de emergencia de los adultos

Se compararon el tiempo de desarrollo de los individuos entre las dos épocas (seca y lluviosa), las tres zonas (norte, centro y sur) y los dos tipos de contenedores (vidrio y plástico.

Con el fin de asegurar que los datos pudieran ser analizados con un test paramétrico como el ANOVA se realizó un test de Shapiro para saber si los datos estaban normalmente distribuidos y un test de Levene para ver si existía homogeneidad de varianzas. Esto se hizo para cada variable (época, zona, material). Estos demostraron que no existía normalidad para la variable época y localidad, ni homogeneidad para la variable época. Motivo por el cual se procedió a transformar la variable tiempo con función logarítmica obteniendo la homogeneidad de varianzas, pero no la normalidad para época.

Comparando el tiempo de duración del ciclo de vida se encontró que la duración del desarrollo del *Ae. aegypti* es menor en la época lluviosa en comparación con la época seca.

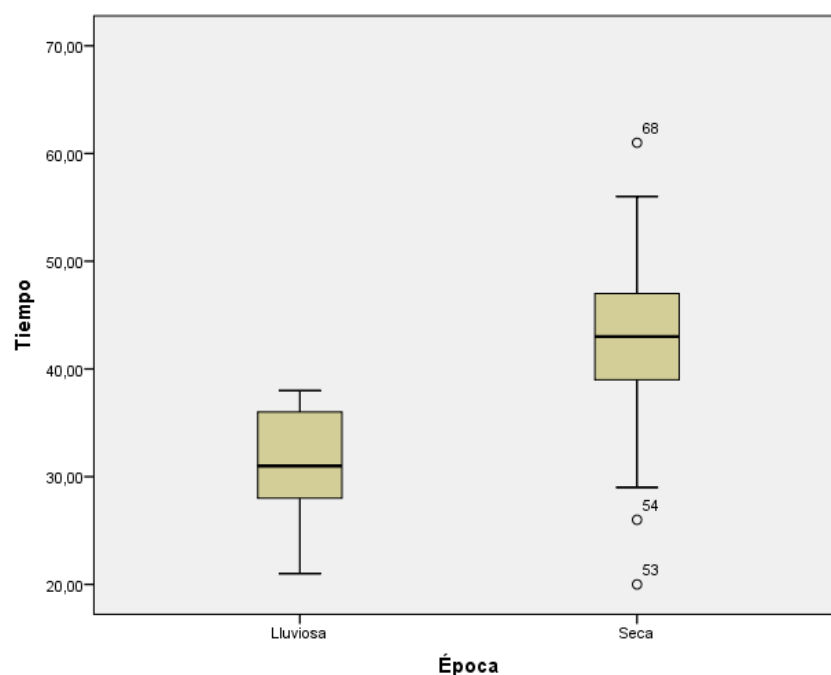


Gráfico 13. Diagrama de cajas sobre la duración del ciclo de vida de *Ae. aegypti* entre la época seca y lluviosa.

Gráfico que compara la duración del ciclo de vida del *Ae. aegypti* durante las dos épocas. Se tomaron 102 individuos para la época seca y 192 individuos para la época lluviosa los cuales completaron su desarrollo durante los estudios respectivos. (Fuente: Elaborado por el Autor)

Comparando el tiempo de duración del ciclo de vida del *Ae. aegypti* entre las tres zonas en las dos épocas encontramos que no hay mayor diferencia entre las mismas, pero la zona del norte fue la que completó su desarrollo en el menor tiempo.

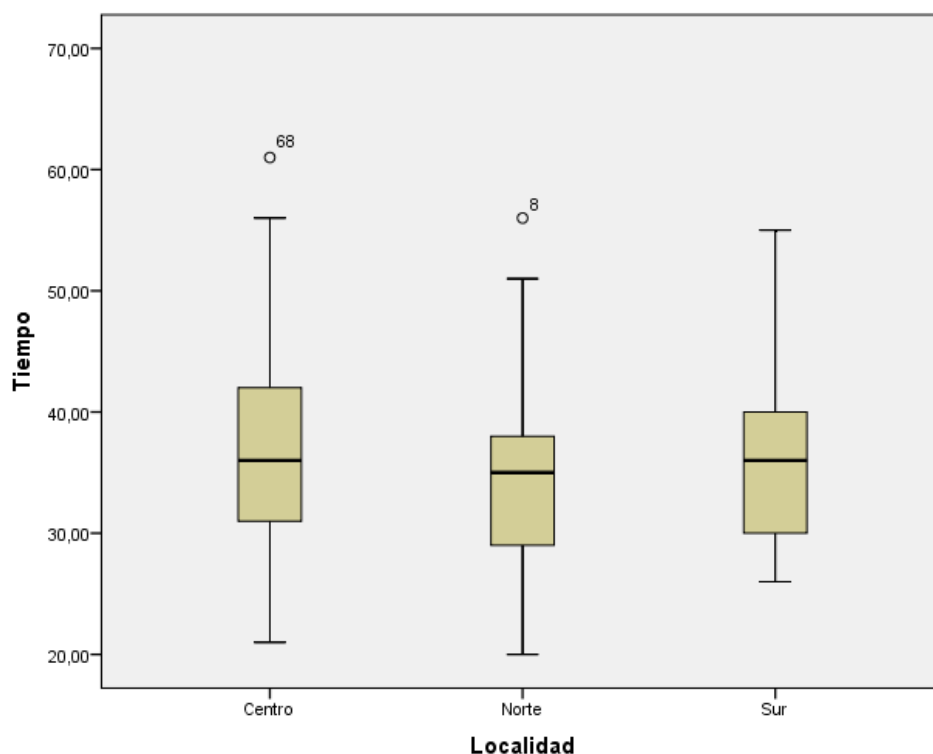


Gráfico 14. Diagrama de cajas sobre la duración del ciclo de vida de *Ae. aegypti* entre las zonas de la ciudad de Guayaquil.

Gráfico que compara la duración del ciclo de vida del *Ae. aegypti* entre las tres zonas (norte, centro y sur) de Guayaquil. Se tomaron 97 individuos de la zona centro, 105 individuos de la zona norte y 92 individuos de la zona sur. (Fuente: Elaborado por el Autor)

Comparando el tiempo de duración del ciclo de vida del *Ae. aegypti* entre los dos tipos de contenedores en las dos épocas encontramos que no hay diferencia entre los mismos.

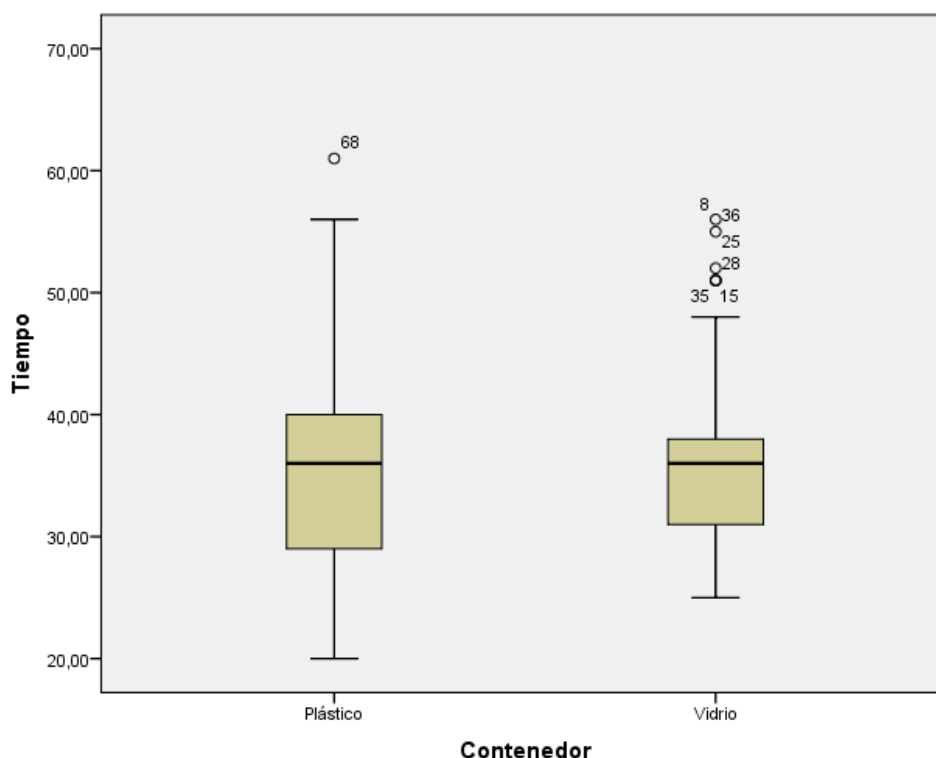


Gráfico 15. Diagrama de cajas sobre la duración del ciclo de vida de *Ae. aegypti* entre los dos tipos de contenedores.

Gráfico que compara la duración del ciclo de vida del *Ae. aegypti* entre los dos tipos de contenedores (vidrio y plástico). Se tomaron 153 individuos del contenedor de plástico y 141 individuos del contenedor de vidrio. (Fuente: Elaborado por el Autor)

Se realizó una prueba no paramétrica U de Mann-Whitney-Wilcoxon de muestras independientes para época con la variable transformada para corroborar lo manifestado en el Test de Shapiro. La misma que corroboró los resultados obtenidos previamente ($p > 0,05$).

Se procedió a realizar un ANOVA de una vía con la variable transformada (log) de tiempo sin importar el no ajuste de algunos datos para el efecto época, debido a que estas pequeñas desviaciones no afectarán a los resultados dado que el tamaño de muestra es bastante grande (85).

El ANOVA con la variable transformada (log) encontró diferencias significativas entre época ($F_{(2)1} = 239,4$, $P > 0,0001$) y zonas ($F_{(2)2} = 5.2$, $P > 0,01$), mientras que no se detectaron diferencias para el material del contenedor (plástico o vidrio) ($F_{(2)1} = 0,26$, $P = 0,60$).

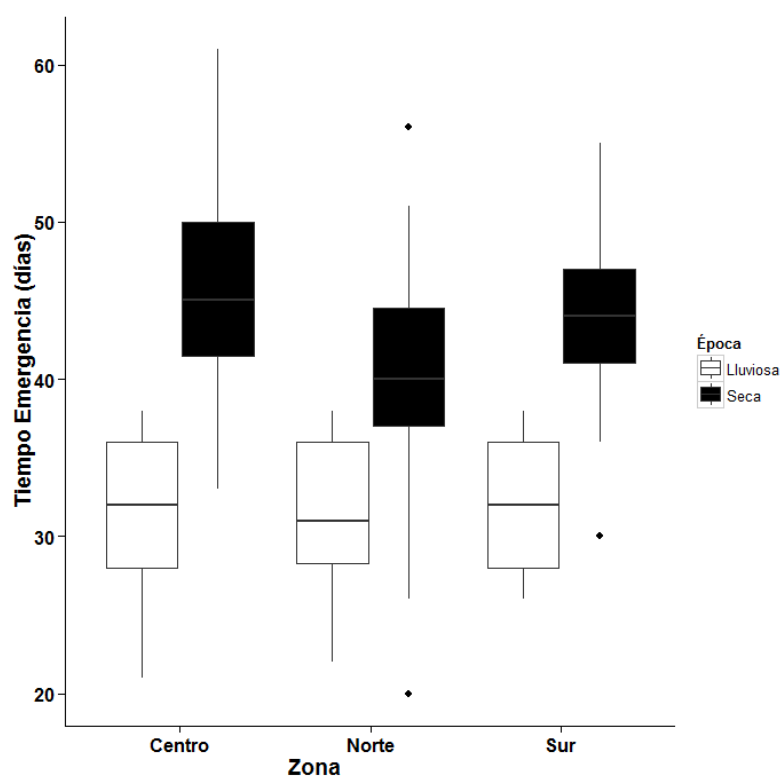


Gráfico 16. Diferencias en los tiempos de emergencia (días) de los adultos entre las zonas de la ciudad de Guayaquil (Centro, Norte y Sur) tanto en época lluviosa como seca.

Se observa las comparaciones del tiempo de emergencia de los adultos entre las épocas seca y lluviosa por medio de ANOVA, se encontraron diferencias significativas entre época y zona. (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

Se volvió a correr el ANOVA sin incluir los términos de interacción para optimizar el modelo y asegurar la validez de los resultados. Esto ya que en un primer análisis se encontró que dichas interacciones no fueron significativas. Al igual que en la primera ocasión se usó datos transformados logarítmicamente usando una suma de cuadrados tipo III. Los resultados no variaron en comparación al anterior modelo que incluía las interacciones, en términos de significancia. Se incluyó un test post-hoc de Tukey para la variable zona.

El test de Tukey manifestó la presencia de dos subconjuntos entre las zonas: En el primer subconjunto se encuentran las zonas norte y sur. Y el segundo subconjunto se encuentra las zonas sur y centro. Esto indica que entre las zonas norte y sur no existen diferencias, entre las zonas sur y centro tampoco existen diferencias; mientras que entre las zonas norte y centro sí existen diferencias con respecto al tiempo de desarrollo de los estadios inmaduros.

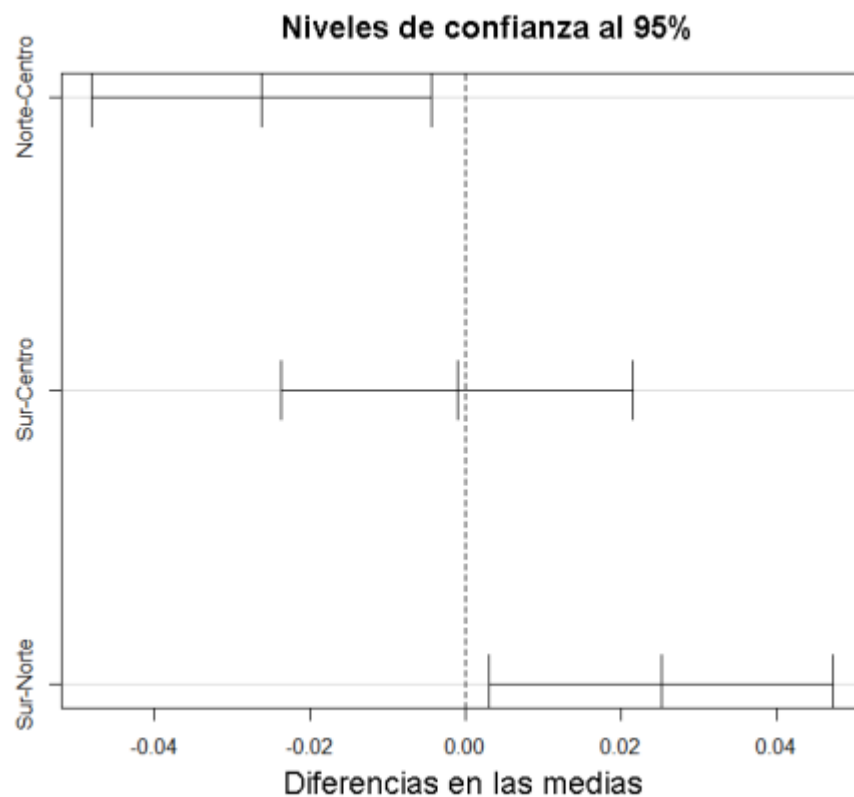


Gráfico 17. Gráfico de las diferencias significativas entre las medias de los niveles de la variable zona en base a un test post-hoc de Tukey.

Se pueden observar diferencias entre el norte y el centro y entre el sur y el norte; mientras que no existen diferencias entre las zonas sur y centro. Se incluyen los intervalos de confianza (95%). (Fuente: Elaborado por Giovanni Ramón)

CAPÍTULO IV

4.1. DISCUSIÓN

La duración del ciclo de desarrollo de *Ae. aegypti* está influenciada por una serie de factores internos y externos. Como poiquiloterms, la temperatura es el principal factor determinante tanto en la duración del ciclo de desarrollo y de la sobrevivencia de los estadios inmaduros. Tanto la época seca como la lluviosa en el Ecuador se diferencian por la fluctuación diaria de temperatura, humedad relativa y el nivel de precipitaciones. La presente tesis buscó comparar el tiempo de desarrollo y sobrevivencia de los

estadios inmaduros de *Ae. aegypti* bajo condiciones climáticas naturales, durante las dos épocas tomando en consideración el tipo de material del contenedor de cría.

Los resultados obtenidos en la duración del tiempo de desarrollo de los estadios larvarios entre las dos épocas fueron similares a estudios llevados a cabo a temperaturas superiores a 20 °C (30, 86, 87, 88), donde la temperatura tiene un comportamiento inversamente proporcional al periodo de desarrollo (86, 87, 88, 89, 90) favoreciendo a un desarrollo más rápido durante la época lluviosa de los estadios inmaduros de *Ae. aegypti*, un impacto sobre la sobrevivencia de los mismos (91, 92, 93) y un decrecimiento en el tamaño de los adultos resultantes (94). La temperatura también afecta a la descomposición de la materia orgánica y la actividad microbiana en los hábitats acuáticos y tiene efecto sobre la disponibilidad de los recursos para las larvas (95) pudiendo así también influir en el tiempo de desarrollo y la sobrevivencia de las mismas.

Estudios demuestran que el tiempo hasta la pupación y el tamaño del adulto de varias especies de mosquitos pueden reflejar las condiciones ambientales experimentadas durante el desarrollo de los estadios larvales (96, 97). No se pudieron establecer diferencias significativas en el tiempo de

desarrollo de los estadios inmaduros con respecto al tipo de contenedor, pero los individuos encontrados en los contenedores de plástico fueron los primeros en empezar a emerger al cabo de 20 días en comparación a los 25 días que tardó en emerger el primer individuo localizado en el contenedor de vidrio, esto se puede deber a que se registraron temperaturas más altas en los contenedores de plástico favoreciendo a un crecimiento más rápido.

Durante el presente estudio se pudo distinguir claras diferencias con respecto a la sobrevivencia registrada en las dos épocas, denotando que la sobrevivencia durante la época seca fue de 17%, mientras que en la época lluviosa fue de 32.33% concordando con las variaciones de temperatura registradas durante las dos épocas en correlación la sobrevivencia de las mismas obteniendo resultados similares a los obtenidos por (Delatte *et al.*, 2009), (Mohammed & Chadee, 2011) y (Couret, Doston & Benedict, 2014), donde las temperaturas superiores a 20 °C favorecen a la sobrevivencia hasta un tope aproximado de 37 °C en el cual la sobrevivencia decae (49).

Las diferencias observadas en los tiempos de desarrollo de los estadios inmaduros provenientes de las diversas zonas escogidas podrían estar atribuidas a variaciones microclimáticas presentes de las zonas escogidas (99). Otro aspecto importante a considerar dentro de las

diferencias encontradas en el tiempo de desarrollo de esta especie es la variabilidad genética a la sensibilidad térmica que pudiese presentar *Ae. aegypti* en las zonas escogidas (100, 101), las cuales pueden acelerar o retardar el desarrollo de los estadios inmaduros de una zona en comparación con otros de zonas geográficas, motivo por el cual se puede justificar los resultados encontrados para el tiempo de desarrollo de *Ae. aegypti* en el presente estudio durante las dos épocas.

CAPÍTULO V

5.1. CONCLUSIONES

1. El presente trabajo reporta por primera vez en el país el tiempo de desarrollo de los estadios inmaduros del *Ae. aegypti*, principal vector de los arbovirus causantes del dengue, la fiebre amarilla y el chikungunya. Así también, la tasa de sobrevivencia de los mismos durante la época seca y lluviosa bajo condiciones ambientales naturales en la ciudad de Guayaquil.

2. Se determinó el tiempo de desarrollo y sobrevivencia de las fases inmaduras del *Ae. aegypti* en dos tipos de contenedores (vidrio y plástico), manifestando que no existen diferencias significativas, sin embargo los individuos dispuestos en los contenedores de plástico fueron los primeros en empezar a emerger. En cuanto a la sobrevivencia global el contenedor de plástico obtuvo un mayor porcentaje en comparación con el de vidrio.

3. Se registró una menor tasa de sobrevivencia de los estadios inmaduros de *Ae. aegypti* durante la época seca en comparación con la época lluviosa. Esto se debe a que la variación de la temperatura a lo largo del día alcanzó temperaturas mucho más altas que la época lluviosa en comparación con la época seca reduciendo el tiempo de desarrollo de los inmaduros y reduciendo las posibilidades de que estos mueran.

4. Se evidenciaron diferencias en el tiempo de duración del desarrollo del *Ae. aegypti* entre las tres zonas escogidas siendo los individuos de la zona norte los primeros en culminar su desarrollo. Esto puede deberse a que puedan estar influenciadas por características intrínsecas de los organismos de las zonas escogidas como el haplotipo que poseen.
5. Así también se evidenciaron diferencias entre las dos diferentes épocas, donde *Ae. aegypti* completó su desarrollo con mayor velocidad durante la época lluviosa comparado con la época seca. Esto gracias a que las condiciones climáticas propias de la época lluviosa favorecen la rápida proliferación de esta especie.

5.2. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda continuar la investigación sobre tiempo de desarrollo y sobrevivencia de *Ae. aegypti* bajo condiciones naturales con individuos provenientes de diferentes zonas del país para obtener registros del comportamiento de esta especie en los lugares donde representa una seria amenaza.

2. Se recomienda seguir con este tipo de estudios en diversas zonas altitudinales del país para obtener registros para facilitar los programas de control y vigilancia.
3. Se recomienda realizar estudios a nivel genético de las subpoblaciones usadas en el presente estudio para verificar si las diferencias encontradas en el desarrollo se deben a que son de diferentes haplotipos, además de registrar la variabilidad genética de esta especie en el país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weaver S. C. y Reisen W. K. (2010). Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.*, 85, 328 - 345.
2. Cavrini F., Gaiban P., Pierro A. M., Rossini G., Landini M. P. y Sambri V. (2009). Chikungunya: an emerging and spreading arthropodborne viral disease. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 3, 744 - 752
3. Seixas G., Salgueiro P., Silva A. C., Campos M., Spenassatto C., Reyes-Lugo M., Novo MT., Martins-Ribolla P. E., Soares da Silva Pinto J. P. y Souza C. A. (2013). *Aedes aegypti* on Madeira Island (Portugal): Genetic Variation of a Recently Introduced Dengue Vector. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 108, 3 - 10

4. Ramasamy M. S., Sands M., Kay B. H., Fanning I. D., Lawrence G. W. y Ramasamy R. (1990). Antimosquito antibodies reduce the susceptibility of *Aedes aegypti* to arbovirus infection. *Med. Vet. Entomol.*, 4, 49 – 55.
5. Eiman M., Intoini M. y Ripoll C. (2010). Directrices para la prevención y control de *Aedes aegypti*. Buenos Aires, Argentina. Ministerio de Salud
6. Christophers R. (1960). *Aedes aegypti* (L.) The Yellow Fever Mosquito: Its Life History, Bionomics and Structure. Cambridge University Press
7. Verhagen L. M. y de Groot R. (2014). Dengue in children. *J. of Infection*, 69, S77 - S86.
8. Brathwaite O., San Marín J. L. Montoya R., del Diego J., Zambrano B. y Dayan G. (2012). Review: The History of Dengue Outbreaks in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 87(4), 584 - 593
9. Oficina Regional para las Américas. (2014). Dengue. Recuperado de <http://www.paho.org/world-health-day-2014/wp-content/uploads/2014/04/Dengue-esp.pdf>. Consultado 09/12/2014
10. Organización Mundial de la Salud. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/>. Consultado el 29/04/15
11. Alpuche C. M. y Lopez-Gatell H. (2015). Chikungunya, the 2014, emerging infectious diseases in the Americas. *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.*

12. Stewart-Ibarra A. M. y Lowe R. (2013). Climate and non-climate drivers of dengue epidemics in southern coastal Ecuador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 88(5), 971 - 981
13. Organización Mundial de la Salud (OMS) y Programa Especial para la Investigación y Capacitación de Enfermedades Tropicales (TDR). (2009). Dengue Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control - Nueva edición. Bolivia
14. Gutiérrez E., Real J., Álava A. y Mosquera C. (2005). Epidemia de Dengue Hemorrágico en el Ecuador, 2003. *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.*, 42(1), 11 - 34
15. Pan American Health Organization (PAHO). Number of reported cases of dengue and dengue hemorrhagic fever (DHF), Region of the Americas (by country and subregion) from 1995 through 2010. Recuperado de:
http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&task
 Consultado el 13/04/2015
16. Álava A., Mosquera Martínez C., Mosquera Herrera C., Vargas W. y Real J. (2005). Dengue en el Ecuador 1989 -2002. *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.*, 42(1), 11 – 34
17. Ministerio de Salud Pública. Recuperado de:
<http://www.salud.gob.ec/ecuador-en-alerta-para-prevenir-el-contagio-de-la-fiebre-del-virus-chikungunya-3/>. Consultado el 29/04/15

18. Kay B. (1999). Dengue vector surveillance and control. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 12(5), 425 - 432.
19. Wan S. W., Lin C. F., Wang S., Chen Y. H., Yeh T. M., Liu H. S., Anderson R. y Lin Y. S. (2013). Current progress in dengue vaccines. *J. of Biomed. Sc.*, 20:37
20. Ramasamy R., Noble S. (2012). Global climate change and its potential impact on disease transmission by salinity-tolerant mosquito vectors in coastal zones. *Front. in Physiol. Syst. Biol.*, 3, 1 - 14
21. Rossi G. y Almirón W. (2004). Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina. Fundación Mundo Sano. Buenos Aires, Argentina
22. Suárez M. F. y Nelson M. J. (1981). Registro de Altitud del *Aedes aegypti* en Colombia. *Biomed.*, 1, 225
23. Morrison A. C., Zielinski-Gutierrez E., Scott T. W. y Rosenberg R. (2008). Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med* 5(3): e68.
24. Llop A., Valdés-Dapena M., y Zuazo J. 2001. Microbiología y Parasitología Médica, Alina Llop (TOMO III). La Habana, Cuba. Editorial Ciencias Médicas

25. Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia. (2010). Participación social en la prevención del dengue: Guía para el promotor. 2da edición. Buenos Aires. Argentina.
26. Dimond J. B., Lea A. O. y DeLong D. M. 1956. The amino acids required for egg production in *Aedes aegypti*. *Can. Entomol.*, 88, 57 - 62
27. Scott T.W., Nakasathit A., Day J.F., Kittayapong P. y Edman J.D. (1997). A Fitness Advantage for *Aedes aegypti* and the Viruses it Transmits when Females Feed only on Human Blood. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 57, 235 – 239
28. Conde A. (2003). Estudio de la longevidad y el ciclo gonotrófico del *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1752), Cepa Girardot (Cundinamarca) en condiciones de laboratorio. Pontificia Universidad Javeriana. Santafé de Bogotá, Colombia.
29. Thirión J. 2003. El Mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México; Bayern Environmental Service. Bayern de México, S.A. de C.V.
30. Delatte H., Gimonneau G., Triboire A. y Fontenille D. (2009). Influence of Temperature Development, Survival, Longevity, Fecundity, and Gonotrophic Cycles of *Aedes albopictus*, Vector of Chikungunya and Dengue in the Indian Ocean, *J. Med. Entomol.*, 46(1), 33 – 41
31. Morales R.E., Ya-umphan P., Phumala-Morales N., Komalamisra N. y Dujardin J. (2010). Climate associated size and shape changes in

- Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand. *Infection, Genet. and Evol.*, 10, 580 - 585
32. Sumanochitrapon W., Strickman D., Sithiprasasna R., Kittayapong P. y Innis B. (1998). Effect of size and geographic origin of *Aedes aegypti* on oral infection with dengue-2 virus. *Am. J. of Trop. Med. Hyg.*, 58, 283 - 286
33. Blackmore M.S., y Lord C.C. (2000). The relationship between size and fecundity in *Aedes albopictus*. *J. of Vector Ecol.*, 35, 212 - 217
34. Nasci R. (1986). The size of emerging and host seeking *Aedes aegypti* and relationship of size to blood feeding success in the field. *J. of the Ame. Mosquito Control Assoc.*, 2, 284-282
35. Maciel de Freitas R., Codeço C.T. y Lourenço de Oliveira R. (2007). Body size-associated survival and dispersal rates of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro. *Med. and Vet. Entomol.*, 21, 284 - 292
36. Nasci R.S. y Mitchell C.J. (1994). Larval diet, adult size, and susceptibility of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to infection with Ross River virus. *J. of Med. Entomol.*, 31, 123 - 126
37. Scott T.W., Amerasinghe P.H., Morrison A.C., Lorenz L.H., Clark G.G., Strickman D., Kittayapong P. y Edman J.D. (2000). Longitudinal studies of *Aedes aegypti* in Thailand and Puerto Rico: blood-feeding frequency. *J. of Med. Entomol.*, 37, 89 - 101

38. Xue Rd., Edman J. y Scott T. (1995). Age and body size effects on blood meal size and multiple blood feeding by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. of Med. Entomol.*, 31 (4), 471 - 474
39. Horsfall W.R. (1972). Mosquitoes. Their bionomics and relation to disease. New York. Hafner Publishing Company, Inc.
40. Gast-Galvis A. (1982). Historia de la Fiebre amarilla en Colombia. Historia de los Vectores. Instituto Nacional de Salud. Santafé de Bogotá, Colombia.
41. Reiter P. (1996). Oviposition and dispersion of *Aedes aegypti* in an urban environment. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 89(2), 120 - 122
42. Juliano S. A., O'Meara G. F., Morrill J. R. y Cutwa M. M. (2001). Desiccation and thermal tolerance of eggs and the coexistence of competing mosquitoes. *Oecologia*, 130, 458 – 469.
43. Mirsa A. (1956). Datos experimentales sobre aspectos bioecológicos del *Aedes aegypti* (Linn), desarrollados en el laboratorio. Revista de Sanidad y Asistencia Social. Instituto Nacional de Higiene. Caracas, Venezuela.
44. Mohammed A. y Chadee D. D. (2011). Effects of different temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Acta Tropica*, 119, 38 – 43

45. Mulla M. S. y Chaudhury M. F. B. (1968). Influence of some environmental factors on the viability and hatching of *Aedes aegypti* (L.) eggs. *Mosq. News*, 28, 217 - 221
46. Marquetti M. (2008). Aspectos bioecológicos de importancia para el control de *Aedes aegypti* y otros culicidos en el ecosistema urbano. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. La Habana, Cuba.
47. Nelson M. (1992). Guidelines for the prevention and control of dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas. Report of the Dengue Guidelines Meeting Washington
48. Alto B. W. y Bettinardi D. (2013). Temperature and dengue virus infection in mosquitoes: independent effects on the immature and adult stages. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 88(3), 497 – 505
49. Yang H., Macoris M., Galvani K., Andrighetti M. y Wanderley D. (2009). Assessing the effects of temperature on the population of *Aedes aegypti*, the vector of dengue. *Epidemiol. Infect.*, 137(8), 1188
50. Padmanabha H., Lord C. C., y Lounibos L. P. (2011). Temperature induces trade-offs between development and starvation resistance in *Aedes aegypti* (L.) larvae. *J. Med. Vet. Entomol.*, 25(4), 445 – 53
51. Carrington L. B., Seifert S. N., Willits N. H., Lambrechts L. y Scott T. W. (2013). Large diurnal temperature fluctuations negatively influence *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) life-history traits. *J. Med. Entomol.*, 50(1), 43 - 51

52. Washburn J. O. (1995). Regulatory factors affecting larval mosquito populations in containers and pool habitats: implications for biological control. *J. Am. Mosq. Cont.*, 11, 279 – 283
53. Walsh R. K., Facchinelli L. Ramsey J. M., Bond J. G. y Gould F. (2011). Assessing the impact of density dependence in field populations of *Aedes aegypti*. *J. of Vector Ecol.*, 36(2), 300 - 307
54. Legros M., Lloyd A. L., Huang Y. y Gould F. (2009). Density-Dependent Intraespecific Competition in the Larval Stage of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): Revisiting the Current Paradigm. *J. Med. Entomol.*, 46(3), 409 – 419
55. Torres-Estrada J. L., Rodríguez M. H., Cruz-López L. y Arredondo-Jiménez J. I. (2001). *J. Med. Entomol.*, 38(2), 188 – 192
56. Albeny D. S., Martins G. F., Andrade M. R., Krüger R. F. y Vilela E. F. (2011). *Aedes aegypti* survival in the presence of *Tororhynchites violaceus* (Diptera: Culicidae) fourth instar larvae. *Zoología*, 28(4), 538 – 540
57. Albeny-Simões D., Murrel E. G., Elliot S. L., Andrade M. R., Lima E., Juliano S. A. y Vilela E. F. (2014). Attracted to the enemy: *Aedes aegypti* prefers oviposition sites with predator-killed conspecifics. *Oecologia*, 175(2), 481 – 492

58. Trpis M. (1973). Interaction between the predator *Toxorhynchites brevipalpis* and its prey *Aedes aegypti*. *Bull. Wild Hlthg. Org.*, 49, 359 – 365
59. Yang H. M., Macoris M. L. G., Galvani K. C., Andrighetti M. T. M. y Wanderley D. M. V. (2009). Assessing the effects of temperature on the population of *Ae. Aegypti*, the vector of dengue. *Epidemiol. Infect.*, 137, 1188 – 1202
60. Hoyos A. y Pérez A. (2010). Actualización en aspectos epidemiológicos y clínicos del dengue. *Rev. Cubana Salud Pública*, 36(1) 149 – 64
61. Asociación de Médicos de Sanidad Exterior. (2013). Dengue. Epidemiología y situación mundial
62. Alpuche C. M. y Lopez-Gatell H. (2015). Chikungunya, the 2014, emerging infectious diseases in the Americas. *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.*
63. Paupy C., Chantha N., Vazeille M., Reynes J. M., Rodhain F. y Failoux A. B. (2003). Variation over space and time of *Aedes aegypti* in Phnom penh (Cambodia) genetic structure and oral susceptibility to a dengue virus. *Inf. Genet. Res. Camb.*, 82, 171 - 182
64. (A2) Chadee D. D., Williams F. L. R. y Kitron U. (2004). Epidemiology of dengue fever in Trinidad West Indies: the outbreak of 1998. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 98, 305 – 312

- 65.(A3) Chadee D. D., Shivanauth B., Rawlins S. C. y Chen A. A. (2007). Climate variability, mosquito density and epidemiology of Dengue fever in Trinidad (2002-2004): a prospective study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 101, 68 - 77
- 66.Harrington L., Scott W., Lerdthunsnee K., Coleman R. C., Costero A., Clark G. G., Jones J. J., Kitthawee S., Kittayapong P., Sithiprasasna R. y Edman J. D. (2005). Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. *Am. J. Med. Hyg.*, 72(2), 209 – 220
- 67.Liu-Helmersson J., Stenlund H., Wilder-Smith A. y Rocklöv J. (2014). Vectorial Capacity of *Aedes aegypti*: Effects of Temperature and Implications for Global Dengue Epidemic Potential. *PLoS ONE*, 9(3), e89783.
- 68.World Health Organization (WHO). (2013). Malaria entomology and vector control. Guide for participants. Malta
- 69.Bar Zeev M. (1958). The effect of temperature on the growth rate and survival of the immature stages of *Aedes aegypti* (L.). *Bull. Entomol. Res.*, 49, 157 – 163
- 70.Carrington L. B., Armijos M. V., Lambrechts L., Barker C. M. y Scott T. W. (2013). Effects of Fluctuating Daily Temperatures at Critical Thermal Extremes on *Aedes aegypti* Life-History Traits. *PLoS ONE* 8(3), e58824

71. Macdonald G. (1956). Epidemiological basis of malaria control. *Bull. World Health Organ.*, 15(3–5), 613
72. Lunde T. M., Bayoh M.N. y Lindtjørn B. (2013). How malaria models relate temperature to malaria transmission. *Parasite Vector*, 6, 20
73. Lindsay, S. W. y Birley, M. H. (1996). Climate change and malaria transmission. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 90, 573 - 88
74. Ocampo C. B. y Wesson D. M. (2004). Population dynamics of *Aedes aegypti* from a dengue hyperendemic urban setting in Colombia. *Am. J. Med. Hyg.*, 71(4), 506 – 513
75. Wang C. H., Hwang J. S. y Lay J. R. (1990). Preliminary study on the biological control of dengue vectors by fish in Liuchuan Prefecture, Pingtung, Taiwan. Kao Hsinng I; *Hsueh. Tsa. Chih.*, 6(7), 382 - 388.
76. Rodríguez J., García I., Menéndez Z., García I. G., Sánchez E. y Pérez R. (2005). Efecto patológico de 3 nemátodos parásitos en larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio en Cuba. *Rev. Cub. Med. Trop.*, 57(3)
77. Lacey L. A. (2009). *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 23, 133 – 163
78. Hernández J. M. (2010). Desarrollo de nuevas opciones en el control biológico del dengue. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 68(595), 509 – 513

79. Dhang C. C., Lim L. H., Ahmad N. W., Benjamin S., Weng L. K., Rahim D. A., Syafinaz E. y Sofian-Azirum M. (2009). Field effectiveness of *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) against *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) in ornamental ceramic containers with common aquatic plants. *Trop. Biomed.*, 26(1), 100 – 105
80. Araújo A. P., Araujo D. F., Helvecio E., Arruda de Barros R., Fontes C. M., Junqueira C. F., Varjal de Melo-Santos M. A., Regis L. N. y Neves Lobo M. H. (2013). The susceptibility of *Aedes aegypti* populations displaying temephos resistance to *Bacillus thuringiensis israelensis*: a basis for management. *Parasites & Vectors*, 6, 297 - 306
81. Setha T., Chantha N., y Socheat D. (2007). Efficacy of *Bacillus thuringiensis israelensis*, VectoBac® WC and DT, formulations against dengue mosquito vectors in cement potable water jars in Cambodia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health*, 38, 261 – 268
82. Menéndez Z., Rodríguez J., Gato R., Companioni A., Díaz M. y Bruzón R. Y. (2012). Susceptibilidad de cepas de *Aedes aegypti* (L.) a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en La Habana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 64(3), 324 – 329
83. Ferreira L. M., Silva-Filha M. H. N. L. (2013). Bacterial larvicides for vector control: mode of action of toxins and implications for resistance. *Biocontrol Sci. Technol.*, 23, 1137 – 1168

84. Wirth M. C. (2010). Mosquito resistance to bacterial larvicidal proteins. *The Open Toxicol. J.*, 3, 101 – 115
85. Schluter, D. y Whitlock, M. C. (2009). The Analysis of Biological Data. Roberts and Company Publishers. Greenwood Village, Colorado.
86. Duque J. E. y Navarro-Silva M. A. (2006). Dynamics of the control of *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) by *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, related with temperature, density and concentration of insecticide. *Revista Brasileira de Entomologia*, 50(4), 528 – 533
87. Beserra E. B., Castro F. P. Jr., Santos J.W., Santos T. S. y Fernandes C. R. (2006). Biology and thermal exigency of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) from four bioclimatic localities of Paraíba. *Neotrop. Entomol.*, 35, 853 - 360.
88. Calado D. C. y Silva M. A. (2002). Evaluation of the temperature influence on the development of *Aedes albopictus*. *Rev. Saúde Pública.*, 36, 173 - 179.
89. Costa F. S., Silva J. J., Souza C. M. y Mendes J. (2008). Population dynamics of *Aedes aegypti* (L) in an urban area with high incidence of dengue. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 41, 309 - 312
90. Beserra E. B., Castro F. P. Jr. (2008). Compared biology of populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) of Paraíba state, Brazil. *Neotrop. Entomol.*, 37, 81 - 85.

91. Tun-Lin W., Burkot T. R. y Kay B. H. (2000). Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland, Australia. *Med. Vet. Entomol.*, 14, 31 - 37
92. Arrese E. L. y Soulages J. L. (2010). Insect Fat Body: Energy, Metabolism, and Regulation. *Annu. Rev. Entomol.*, 55, 207 – 225
93. Teng H. J. y Apperson C. S. (2000). Development and survival of immature *Aedes albopictus* and *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in the laboratory: Effects of density, food, and competition in response to temperature. *J. Med. Entomol.*, 37, 40 - 52
94. Couret J., Doston E. y Benedict M. Q. (2014). Temperature, Larval Diet, and density Effects on Development Rate and Survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *PLoS ONE*, 9(2), e87468
95. Rueda L. M., Patel K. J. Axtell R. C. y Stinner R. E. (1990). Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 27, 892 – 898
96. Webster J. R. y Benfield E. F. (1986). Vascular plant breakdown in freshwater ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 17, 567 – 594
97. Lyimo E. O., Takken W. y Koella J. C. (1992). Effects of rearing temperature and larval density on larval survival, age at pupation and adult size of *Anopheles gambiae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 63, 265 – 271

98. Reisen W. K., Milby M. M. y Bock M. E. (1984). The effects of immature stress on selected events in the life history of *Culex tarsalis*. *Mosq. News*, 44, 385 – 395
99. Hopp M. J. y Foley J. A. (2001). Global-scale relationships between climate and the dengue fever vector, *Aedes aegypti*. *Clim. Chang.*, 48, 441 – 463
100. Richardson K., Hoffmann A. A., Johnson P., Ritchie S. y Kearny M. R. (2011). Thermal sensitivity of *Aedes aegypti* from Australia: empirical data and prediction of effects on distribution. *J. Med. Entomol.*, 48(4), 914 – 923
101. Endersby N. M., Hoffmann A. A., White V. L., Lowenstein S., Ritchie S., Johnson P. H., Rapley L. P., Ryan V. S., Nam N. T., Yen P., Kittiyapong P. y Weeks A. R. (2010). Genetic structure of *Aedes aegypti* in Australia and Vietnam revealed by microsatellite 2 and EPIC markers suggests feasibility of local control options. *J. Med. Entomol.*, 46, 1018 – 1028