

**"ENSAYO PARA EVALUAR LA UTILIDAD DEL  
GÉNERO *POECILIA SP.* COMO  
BIOCONTROLADOR DE LOS ESTADIOS  
ACUATICOS DEL *AEDES AEGYPTI*".**



**San Salvador, Enero de 2004**

## **Ensayo para evaluar la utilidad del género *poecilia sp.* como biocontrolador de los estadios acuáticos del *Aedes aegypti*.**

Equipos Técnicos de instituciones que participaron en la definición y desarrollo de la investigación:

### **Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador**

- Gerencia de Control y Vigilancia Epidemiológica

Unidad de Control de Vectores:

- Dr. Miguel Elas. Director
- Ing. Eduardo Romero. Colaborador Técnico
- Lic. Alfonso González. Educador

- Gerencia de Salud Ambiental

- Ingeniero Julio Alvarado. Coordinador de Vigilancia y Monitoreo

### **Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura Cendepesca - Ministerio de Agricultura y Ganadería**

Lic. Verónica Navascues. Técnico área de acuicultura

Lic. Arturo Núñez. Biólogo Investigador

### **Universidad de El Salvador – Escuela de Biología**

Licenciada Marta Zetino. Directora de Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

Dr. Rigoberto Ayala. Catedrático Escuela de Biología

Sr. Miguel Moreno. Estudiante.

### **Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional USAID**

Lcda. Margarita de Lobo. Oficina de Salud USAID El Salvador

Equipo Técnico que participó en la investigación y redacción de primer informe para ser entregado a las contrapartes que participaron en la investigación:

### **Equipo CHANGE- AED**

Dr. Carlos Alberto Marín Correa. Coordinador Nacional Proyecto Dengue

Lcda. Camila Oquelí. Técnico - Investigador

Lcda. Celia Trejo de Canjura. Técnico

Lcda. Flor de María Oliva. Técnico

Lic. Guillermo Antonio Villalta. Técnico

Lcda. Julia Rosenbaum. Sub Directora de Programas CHANGE- AED

Dra. Elli Leontsini. Johns Hopkins School of Public Health. Subcontrato Change

Este documento ha sido preparado por el Proyecto CHANGE y es un Acuerdo de Cooperación HRN-A-00-98-00044-00 entre la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (United States Agency for International Development/USAID) y la Academia para el Desarrollo Educativo con el Grupo Manoff.

Propiedad del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, CHANGE-AED-USAID

Se permite su reproducción parcial o total, siempre y cuando se cite la fuente

## Resumen

Durante el último trimestre del año 2003, el Proyecto CHANGE financiado por la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional USAID, junto con personal técnico del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), Cendepesca – Ministerio de Agricultura Y Ganadería, Universidad de El Salvador; realizaron una serie de investigaciones para comprobar la utilidad del pez del género *Poecilia sp.* (especie nativa del país). como alternativa biológica para el control de los estados acuáticos del *Aedes aegypti*, vector del virus del dengue en El Salvador.

Específicamente se buscaba evaluar si el *Poecilia sp.* se podía alimentar de estadios acuáticos del *Ae. aegypti* (larvas y pupas) y determinar la nocividad de distintas concentraciones de cloro presentes en el agua de tubería (especialmente a nivel urbano) sobre peces de este género en condiciones de laboratorio.

Los resultados concluyen que aunque esta especie de pez si consume estadios acuáticos de aedes (principalmente larvas por ser de menor tamaño que las pupas), niveles de cloro alrededor de 0.6 mgL. o mayores, ocasionan un 100% de mortalidad, y esta es la concentración promedio suministrada por la red en áreas urbanas. El desarrollo de estrategias y su incorporación en áreas urbanas no parece una opción demasiado factible (costo eficaz), ni muy prometedora, por las diversas dificultades observadas en relación a la fragilidad de la especie para este tipo de ambientes, en especial la dificultad para manejar los diferentes niveles de cloro dependientes no solo del nivel que se suministra a través de la red, sino del proceso metabólico propio que demanda por lo menos de 4 a 6 horas para alcanzar niveles óptimos de seguridad para el pez (decloración) e implica necesariamente sacar a los peces de este hábitat con todos las dificultades

adicionales para su adecuado manejo. En forma adicional, el pez demostró ser muy frágil para ciertos cambios de temperatura. No fueron evaluadas, pero de importancia según la literatura otras variables tales como condiciones previas de alimentación, adaptación al nuevo hábitat, pH, transporte y manipulación, etc. Adicionalmente, el proceso educativo requerido para facilitar la implementación de esta estrategia en áreas urbanas, sería bastante complejo y de difícil seguimiento, monitoreo y sostenibilidad.

### **Introducción y Justificación**

El dengue es un importante problema de salud pública. Es una enfermedad viral endémica y epidémica cuyo vector epidémico más común en el mundo es el mosquito *Aedes aegypti*, el cual se ha adaptado perfectamente al ambiente humano, encontrando multitud de criaderos y condiciones ideales dentro y alrededor de los domicilios. El hombre es el huésped más susceptible y al adquirir la enfermedad puede desarrollar desde cuadros clínicos asintomático hasta la muerte. A la fecha no hay una vacuna disponible ni existe tratamiento específico para la enfermedad.

En El Salvador, en los últimos años se han presentado varias epidemias, en el año de 2000 se reportaron 2,827 casos de dengue clásico, 411 de dengue hemorrágico y 5 fallecidos; en el año 2002 se reportaron 4,671 casos de dengue clásico, 405 de dengue hemorrágico y 11 fallecidos (ver anexos). Esta enfermedad viene azotando no solo a la población salvadoreña, sino a varias regiones de Centroamérica y el Mundo, en especial en los países en vía de desarrollo.

Las estrategias implementadas a la fecha, principalmente las acciones basadas en controles de tipo químico, además de representar un alto costo y una difícil aceptación por parte de la población, no han sido suficientes para controlar este mortal vector.

Es por eso que diferentes organismos están en la búsqueda de alternativas más costo efectivas fundamentadas en los procesos de organización y participación comunitaria que permitan el involucramiento y apropiación por parte de las mismas personas y garantice su sostenibilidad en el tiempo.

La Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional USAID a través del Proyecto Change de la Academia para el Desarrollo Educativo AED y en coordinación con el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador, vienen promoviendo la evaluación e implementación de este tipo de alternativas y/o estrategias que involucren y promuevan la participación individual, familiar y comunitaria a través de la Metodología de Negociación de Prácticas Mejoradas *Nepram*, las cuales buscan promover cambios de conducta sostenibles en la población salvadoreña. Dichas prácticas sujeto de negociación surgen de un proceso previo de investigación formativa que rescata los principios, valores, conocimientos y recursos propios de cada persona, familia y comunidad.

Lo ideal en los procesos de negociación es permitir que las personas tengan diferentes opciones y puedan, por lo menos, realizar una de ella y contribuir desde su propio ambiente en la tarea de prevenir el dengue.

Por todo lo anterior y en busca de nuevas opciones de negociación, se hizo necesario explorar la alternativa de los peces para el control biológico del Aedes. El trabajo se realizó específicamente con el género *Poecilia*, el cual ha sido identificado por investigadores de CENDEPESCA – Ministerio de Agricultura y Ganadería, junto con personal del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, como una especie nativa de fácil reproducción, que no presenta riesgo ecológico en caso de liberación accidental y cuyos hábitos depredadores parecen mostrar preferencia hacia las larvas de mosquito *Aedes aegypti*.

Para garantizar el éxito de la investigación y en la búsqueda del trabajo interinstitucional, se conformo un grupo de investigadores integrado por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social – Unidad de Control de Vectores, Centro de Desarrollo de la Pesca y la Acuicultura - CENDEPESCA del Ministerio de Agricultura y Ganadería, Escuela de Biología de la Universidad de El Salvador y Equipo Técnico del Proyecto Change AED/USAID.

## **Desarrollo de la Investigación**

### **Objetivo General:**

Comprobar que el género *Poecilia* es útil como alternativa biológica para el control de los estadios acuáticos del *Aedes aegypti*, vector del virus del dengue en El Salvador.

### **Objetivos específicos:**

1. Evaluar si el *Poecilia sp* puede alimentarse de estadios acuáticos del Ae. Aegypti (larvas y pupas)
2. Determinar la nocividad de distintas concentraciones de cloro presentes en el agua de tubería (urbana) sobre peces de este género en condiciones de laboratorio.

### **Lugar de estudio y Generalidades:**

Laboratorio Acuático, Escuela de Biología, Universidad de El Salvador.

Se recibieron 400 peces del género *Poecilia sp.*, recolectados en la Estación Acuícola de Santa Cruz Porrillo y procedentes de ríos que alimentan los estanques de reproducción de Tilapia. En dicha estación, los peces son recolectados y puestos en pilas de 20 metros cúbicos; para su transporte, se sacan con atarraya y se depositan en bolsas de plástico resistente, las cuales contienen un cuarto de agua y 3 cuartos de oxígeno.

Durante el traslado hasta su depósito en una pileta de la Piscigranja de la Escuela de Biología, ubicada junto al Laboratorio Acuático, se registró una sobrevivencia del 100%. Dicho depósito fue preparado 48 horas antes con lavado, aireado durante 24 horas, y llenado con 50% agua corriente y 50% agua de otro estanque que ya presentaba plancton, garantizando la aclimatación de los individuos al medio. Tampoco se observó mortalidad de peces en este ambiente a lo largo de los días de estudio.

### **Materiales y Recursos:**

- Laboratorio Acuático UES: 3 peceras de 50gl. c/u, 3 peceras de 15gl. c/u, aireadores y filtros –carbón activo, tela para mosquitero de fibra de vidrio 3'X1, Estanques, ictiómetro digital
- Material de laboratorio (pipetas, lumpes, agua destilada, probetas, etc.).
- Cloro
- Clorímetro
- 400 peces del género *Poecilia*
- Termómetro y Medidor de pH Hi 8424 HANNA Instruments. Microcomputer pHmeter
- Entrega de Kit de comparación cualitativa de cloro por parte de representantes del Ministerio de Salud:
  - Juego de Prueba de Cloro Libre y Total
  - 0 – 3.5 mg/l
  - Modelo CN-66/66F/66T.
  - No. de Cat. 2231. HACH.
- 5 barriles plásticos con tapa, de 80gl. c/u y 5 barriles de metal con distintos grados de oxidación, tres de ellos recubiertos con cemento y cada uno con capacidad de 75 gl.
- Medidor de pH
- Jaula entomológica (para reproducción de larvas)

- Lumpen para la manipulación de peces
- Materiales de laboratorio (pinzas, pipetas, bandejas esmaltada, probetas)
- Material para colecta de larvas en campo (frascos, pipetas gotero, lupa, etc.)

### **Metodología Objetivo 1:**

Se inició con dos peceras (de 8gl. c/u), con un pez cada una. Se trabajó con la concentración de Cloro (menor de 0.5 mg/L) establecida en la primera fase como la concentración más alta a la cual solo se produjo una mortalidad del 10% y reversión en los síntomas del resto de la población estudiada. Estos peces recibieron exclusivamente como alimento larvas en estadios 3 y 4 que por sus características morfológicas fueron identificadas como de *Ae. aegypti*. Se midió la temperatura y el pH en cada una. Se tomaron datos cada 24 horas de larvas existentes, pupas; la cantidad de larvas se reguló según consumo y disponibilidad de larvas. Se eliminaron los estadios de pupa para evitar eclosiones no controladas. Las peceras se limpiaron con lumpen (lija especial) diariamente para eliminar todo resto de desechos. Las peceras se mantuvieron con aireadores, siempre protegidas con mosquitero y se evaluaba si existían mosquitos adultos voladores.

Para efectos de comprobar los resultados, se replicó la experiencia en otras dos peceras con tres divisiones en cada una, aunque dicho mecanismo no previno los saltos y la mortalidad de algunos peces, lo anterior obligó a continuar el estudio por grupos de peces.

También se obtuvieron datos en un barril para comparar con los datos de las peceras.

### Resultados:

Descripción		Cantidad de peces	Cantidad de larvas consumidas por día																			
			Días Noviembre									Días Diciembre										
			22	23	24	25	26	27	28	29	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
Pecera 1	Pez 1	1	0	nd	100	200	300	400	450	450	450	450	100	100	310	380	400	n.d.	400	5		
Pecera 2	Pez 2	1	0	nd	100	100	150	200	Muere Pez													
	Peces	2								80	100	200	0	250	222	250	300	n.d.	250	50		
Pecera 3	División 1	2								96	100	200	0	Se saltaron divisiones								
	División 2	1							Pez muerto (al saltar)													
		1 reemplazo								95	100	Pez muerto (al saltar)										
	División 3	1							0	75	100	Se saltaron										
	Colectivo												244	Se saltaron								
	Colectivo	6												300	400	500	n.d.	400	500			
Pecera 4	División 1	1							0	71	71	se saltaron y se unieron en colectivo A										
	División 2	1							0	87	84											
	Colectivo A	2										190	25	375	Se saltaron al colectivo B							
	División 3	2							0	97	100	200	0	300	Forman el colectivo B							
	Colectivo B	4																600	400	500	n.d.	400
Pecera 5	División 1	2							0	60	100	200	0	132	200	190	200	n.d.	194	20		
	División 2	1							0	94	100	200	0	135	196	191	200	n.d.	197	25		
	División 3	1							0	94	100	200	0	140	176	194	200	n.d.	200	25		
Barril Plástico		3						100	100	200	300	400	27	342	300	400	72	Fin				

Las observaciones se hicieron en total durante 18 días (rango por pecera entre 1 a 18 días), en algunos casos no fue posible tomar datos ya que el Laboratorio donde se realizó la investigación tuvo limitaciones de horario y accesibilidad, en especial los fines de semana. La cantidad total de peces utilizada en esta fase fue de 36, con una mortalidad de 3 peces (2 al saltar de la pecera). El total de larvas de *Aedes* utilizadas fueron de 20.061.

A pesar de que solo se realizó conteo de larvas cada 24 horas, se pudo observar directamente la actividad larvívora del pez. También se observó que a los peces (especialmente los de talla menor) se les dificultaba la ingesta de larvas de estadio 4, pero en especial la ingesta de las pupas.

Solo en una pecera se logró mantener la observación por 18 días, ya que en la otra pecera se presentó mortalidad del pez. Las otras observaciones corresponden a peceras que facilitaron la comprobación de los primeros resultados obtenidos.

La tendencia del pez a mantenerse en grupos dificultó las divisiones y el control de los datos, por lo que se tomó la decisión de mantener los colectivos; lo cual dificultó evaluar el consumo individual por pez.

En el primer día de inicio de alimentación con larvas, ninguno de los peces realizó ingesta de larvas. Los consumos de larvas/día por pez presentaron variaciones, el pez con mayor capacidad predadora (con suministro ideal de larvas) alcanzó un máximo de 450 larvas al día por 4 días. Llama la atención que un Colectivo de 4 peces alcanzó solo un máximo de 600 larvas por día pero se debió a la poca disponibilidad de larvas, ya que siempre se comieron el 100% de lo suministrado. En algunos días, la limitación de larvas para alimentar los peces, no permitió evaluar su real capacidad.

Por falta de peceras de menor tamaño fue necesario dividir las peceras existentes; se presentó dificultad en mantener a los individuos separados. Se decidió continuar la investigación por grupos de peces (ya que saltan continuamente) y llevar un registro general de consumo y no individual por pez.

En forma adicional, hubo reproducción en las peceras y se rescataron 22 peces recién nacidos que fueron puestos en una pecera aparte, para evitar que los peces adultos se los comieran.

En el barril utilizado para comparar y crear condiciones de campo se obtuvieron resultados similares.

### **Metodología Objetivo 2:**

Se realizó el estudio en dos peceras de 50gl. c/u, las cuales se llenaron con agua del grifo hasta un volumen de 30 gl. cada una. La forma de llenado fue diferente, en el primero para efectos de medir exactamente la cantidad de líquido, se llenaba inicialmente en un cubo con capacidad de 1 galón y luego era vaciado en la pecera, así sucesivamente hasta completar los 30 galones. La otra pecera se llenó directamente del grifo utilizando una manguera y teniendo como referencia para su llenado el nivel de agua de la primera pecera. El primer proceso tomó más tiempo, cada pecera mostró diferentes concentraciones de cloro inicial.

Posteriormente se expusieron poblaciones de 20 peces en cada pecera y se evaluaron los efectos y el grado posible de nocividad en diferentes momentos, partiendo de la concentración inicial y evaluando, por efecto metabólico propio del Cloro, concentraciones menores subsecuentes en el tiempo. La respuesta biológica a observar en este estudio incluía desde problemas de respiración y movimiento (letargia) hasta la muerte. Antes del estudio los peces solo recibieron alimentación con concentrado. Posterior a los primeros resultados se decidió repetir el procedimiento en una de las peceras, iniciando con la concentración de Cloro de 0.6 mg/L.

Como parte complementaria a los hallazgos iniciales del estudio se decidió determinar el tiempo posible de decoloración del agua, para lo cual se utilizaron tres barriles plásticos de 55 galones cada uno. Dos de los barriles fueron llenados directamente con agua de la tubería y se les midió la concentración inicial de Cloro; uno de estos barriles se tapó herméticamente. Al tercer barril con la misma cantidad de agua, buscando alcanzar una concentración mayor, se le adicionaron 4 gr. de cloro granulado al 65% y se tomo su concentración inicial, para permitir evaluar el tiempo de decoloración con diferentes concentraciones de cloro. Se tomaron medidas de concentración de cloro durante las primeras 24 horas (Ver anexo Procediendo Utilizado para Lectura de Cloro)

### Resultados:

#### - Pecera No. 1

20 peces con talla máxima de 52.6 mm. y mínima 41.08 mm.

Tiempo	[Cl] mg/L	pH	Mortalidad %	Observaciones
0	0.5	6.80	0	
15 m	0.4	n.d.	0	
30 m	0.2	n.d.	0	Letargia en tallas menores
1h 30 m	0.1	n.d.	5	Murió 1 pez de 41.08 mm
2h 35 m	0.1	n.d.	5	Tallas mas grandes salen de letargia
4h 35 m	0.0	7.56	10	Murió otro pez de 42.01 mm.
7h 30 m	0.0	n.d.	10	La mayoría de peces salen del estado letárgico, salvo algunas de tallas menores. Recibieron alimentación.
18h 30 m	0.0	8.16		Peces recuperan su actividad normal (presentan movilidad y salen de la letargia)
28h 30m	0.0	8.24	10	Se terminan las mediciones.

### - Pecera No. 2

20 peces con talla máxima de 74.8 mm. y mínima 36.6 mm.

Tiempo	[Cl] mg/L	pH	Mortalidad %	Observaciones
0	0.6	6.80	0	
15 m	0.6	n.d.	5	Murió 1 pez de 40.05 mm
30 m	0.4	n.d.	25	Tallas menores o iguales a 40 mm.
1h 20 m	0.2	n.d.	85	Peces menores de 65 mm.
2h 30 m	0.2	n.d.	100	Fin de bioensayo

### - Pecera No. 3 (verificación)

20 peces con talla máxima de 62.3 mm. y mínima 32.4 mm.

Tiempo	[Cl] mg/L	pH	Mortalidad %	Observaciones
0	0.6	6.90	0	
15 m	0.6	n.d.	10	Murieron peces tallas menores de 40 mm
50 m	0.4	n.d.	30	Murieron peces tallas menores de 40 mm
1h 35 m	0.3	n.d.	80	Letargia general
3h 20 m	0.0	7.07	100	Mortalidad total y fin de bioensayo

Se utilizaron un total de 60 peces con tallas entre 74.8 y 32.4 mm., observándose más efectos nocivos con la concentración inicial de 0.6 mg/L, tales como la letargia y la muerte. El cloro fue disminuyendo con el paso del tiempo en todas las peceras (más o menos a las 4 horas ya se tenía 0 de concentración de cloro en todas las peceras). En las peceras con concentración inicial de 0.6 mg/L se presentó una mortalidad del 100% antes de las 4 horas.

Al contrario los efectos observados en la mayoría de los peces de la pecera con concentración inicial de 0.5 mg/L fueron reversibles y solo se presentó una mortalidad del 10%. Dicha reversión empezó a ser evidente a partir de la hora 7 de exposición en las peces de tallas grandes y el resto de los que sobrevivieron estaban recuperados a las 18 horas.

La mortalidad fue más rápida en peces con tallas menores a los 40 mm., observándose los primeros resultados a los 15 minutos de exposición. Los adultos (tallas mayores de 65 mm) a esta concentración logran sobrevivir aproximadamente hasta dos horas después de haber sido sometidos a la primera exposición.

El pH presentó cambios que oscilaron entre 6.8 al comienzo y 8.24 a las 28 horas

#### **Tiempo de decloración:**

<b>Descripción/</b>	<b>0 minutos</b> [Cl]	<b>4 horas</b> [Cl]	<b>6 horas</b> [Cl]	<b>22 horas</b> [Cl]
Barril 1 destapado	0.6 mg/l	0.4 mg/l	0.2 mg/l	0.0 mg/l
Barril 2 Tapado	0.6 mg/l	0.4 mg/l	0.4 mg/l	0.4 mg/l
Barril 3 (se adicionó cloro) destapado	1.0 mg/l	0.7 mg/l	0.6 mg/l	0.0 mg/l

La concentración de cloro disminuye en forma más acelerada en los barriles destapados. Al contrario en el barril tapado presenta niveles de cloro aún después de las 22 horas de observación (solo había sido destapado por corto tiempo en 3 ocasiones para realizar las mediciones). Por problemas de horario del Centro de Investigación no se pudo determinar la hora exacta en que se llegó a concentración de Cloro de 0 mg/L.

## **Conclusiones:**

### **- En referencia a la capacidad del pez como biocontrolador:**

Se ha comprobado la capacidad larvívora de la especie, no solo por el conteo diario de larvas, sino también por la observación directa del pez comiendo. Los consumos de larvas/día por pez y pecera describen comportamientos diferentes; como en toda población hay individuos de la misma especie que consumen más alimento que otros y pueden ser afectados por diferentes variables (disposición de larvas, grupos de peces, hábito alimenticio previo, entre otros) y por eso no fue posible en este estudio evidenciar un patrón común. Así tenemos extremos de consumo de 450 larvas por día, como individuos que no llegan a las 100 larvas por día

Se realizó la experiencia en un barril plástico y el comportamiento larvívoro del pez fue similar al presentado en las peceras.

Es evidente la dificultad del pez, en especial por su tamaño, para consumir larvas grandes (4 estadio) y pupas. En general las pupas no son consumidas más que por individuos de mayor talla.

Es obvio que se sobredimensionaron la cantidad de peceras usadas como réplicas y esto originó problemas no solo con el abastecimiento diario de las larvas, sino también para evaluar el consumo individual de los peces y el seguimiento de los datos.

Las condiciones diferentes de hábitat previo en cuanto a alimentación (concentrado), stress, tipo de agua y temperatura entre otros, originó en su nuevo hábitat un periodo de adaptación en el cual la característica observable más relevante fue el no consumo de larvas por lo menos durante el primer día.

**- En referencia a la toxicidad del cloro:**

La concentración inicial de cloro ( $[\text{Cl}_2] = 0.6 \text{ mg/L}$ ), demostró ser altamente nociva, causando un 100% de mortalidad en el género *Poecilia sp.* Aunque la concentración de cloro vaya disminuyendo paulatinamente (se metaboliza de forma espontánea, principalmente evaporación a la atmósfera) el daño por la primera exposición a esta concentración mostró ser irreversible en la primera prueba y en la pecera de verificación.

Aún cuando hubo una mayor supervivencia de peces (90%) en la Pecera 1, con Cloro inicial de 0.5 mg/L, en estos también se observó un estado de letargo; saliendo del mismo primero las tallas mayores y posteriormente el resto. Es evidente que el grado de reversibilidad de los efectos de cloro a dosis no letales, depende también de la talla pez, a mayor talla mayor resistencia a estas dosis no letales. No se identificó la relación directa con el pH, aunque la pecera con cloro 0.5 mg/L presentó el nivel más alto de pH y solo un 10% de mortalidad.

Por el método de evaluación colorimétrica utilizado no es posible definir puntos más exactos (valores intermedios por unidad de medida, cada 0.1 mg/L). En forma adicional pueden existir otros factores que contribuyeron a la mortalidad. Recordar que el método de determinación de cloro utilizado en el estudio, es un método cualitativo que no detalla con exactitud las concentraciones medidas.

El metabolismo del cloro se ve afectado por la forma y el tiempo de llenado de los recipientes, a mayor tiempo de llenado y reposo va disminuyendo la concentración de cloro. También se observó una relación con el tapado, si el recipiente permanece herméticamente tapado, la concentración se mantiene o disminuye con mayor lentitud.

Si se deja reposar el agua (con las concentraciones de cloro esperadas en el agua de tubería que están entre 0.5 a 1.5 mg/L), en un recipiente abierto, se espera que esté libre de cloro entre 6 y 24 horas.

En forma paralela, se observó que el género *Poecilia sp* presentó una alta sobrevivencia en el ambiente acuático de la piscigranja (similar al ambiente natural), el cual estaba libre de cloro, con gran contenido de materia orgánica – plancton-.

En síntesis el estudio evidencia que el género *Poescilia* (nativo en la Región) es útil como controlador biológico de *Aedes*, pero en el ambiente artificial en el cual fue evaluado mostró susceptibilidad a la presencia de cloro en el agua, aun en concentraciones más bajas de lo esperado en el suministro normal por tubería.

### **Recomendaciones<sup>1</sup>:**

Si se desea implementar la estrategia de peces (poescilia) para el control del *Aedes* en áreas urbanas o rurales donde la fuente de agua sea clorada, será necesario desarrollar un proceso educativo bastante complejo, así como una inversión técnica y financiera, para garantizar el manejo adecuado y simultaneo de las siguientes variables:

- **Pez:** manipulación de la especie (recolección, almacenamiento, reproducción, transporte, acondicionamiento y distribución local), tipo de alimentación y requerimientos, talla, stress, temperatura, procesos de decloración del agua previos.
- **Medio Ambiente:**
  - **Recipientes:** tamaño y tipo, capacidad de almacenamiento, ubicación, prácticas de limpieza

---

<sup>1</sup> Estas recomendaciones corresponden solamente a las opiniones técnicas del personal del Proyecto CHANGE/AED

- Agua:
  - Tipo de abastecimiento (fuente y regularidad),
  - Uso (para que la ocupa y cada cuanto tiempo) recambio,
  - Composición: orgánico e inorgánico
  - Presencia de cloro
  - Temperatura y pH entre otros.
- Efecto de la combinación de prácticas en forma paralela al uso del pez (abate, fumigación, untaditas, etc.)
- Actores sociales y comunidades: participación y compromiso en la estrategia (concientización), capacitación para manejo adecuado.
- Institucional: evaluar costo beneficio y sostenibilidad (área urbana vs. rural) de la intervención con peces, comparado con otras estrategias para el control del Aedes (por ejemplo las prácticas Neptram).

Aunque esta fase de investigación exploro la eficacia más no la factibilidad del uso; y considerando todas las dificultades presentadas a nivel de laboratorio, no parece recomendable, ni una opción muy factible de implementar especialmente a nivel comunitario en áreas urbanas.

La teoría del cambio de conducta destaca la importancia sobre el concepto de consecuencias positivas como resultado de acciones nuevas; si el uso de peces larvívoros resulta en mucho trabajo extra - adicional para mantener los peces vivos y evitar su mortalidad, podemos anticipar presencia de resistencia para la implementación de esta práctica a nivel comunitario.

Aun sin completar una investigación más profunda a nivel comunitario, es muy razonable concluir que a la gente no le gustaría tener peces muertos en su agua potable y/o de limpieza.

Si se considera necesario profundizar más en la investigación, esta podría orientarse hacia los siguientes aspectos:

- Posibilidad de otras especies nativas (mayor resistencia a cloro y ambientes urbanos)
- Valorar la cantidad ideal de peces por volumen de agua para garantizar sobrevivencia (con suministro adecuado de larvas y/o alimento complementario).
- Evaluar la importancia de otras variables tales como pH, temperatura, calidad del agua (materia orgánica e inorgánica, composición química, etc.), disposición de oxígeno en aguas de reposo (reserva), tipo material del recipiente.
- Evaluar la posibilidad de uso combinado de las diferentes prácticas, por ejemplo el uso de la Untadita y peces para el control del vector.

## **Anexos**

### **Anexo No. 1**

#### **Generalidades del “Aedes aegypti”**

El mosquito del Ae. aegypti es pequeño en comparación con otros, usualmente entre 3 ó 4 milímetros de longitud, descontando la longitud de las patas. Es totalmente negro distinguiéndose pequeños puntos blancos en las regiones del cuerpo y la cabeza, presenta anillos blancos alrededor de las patas. Las alas son translúcidas y bordeadas con escamas.

*Ciclo de vida:* El macho de todas las especies de mosquitos no pica al ser humano o animales de ninguna especie, alimentándose de frutas. La hembra pica por sangre la cual requiere para madurar los huevos en su interior. En la mayoría de especies los huevos son depositados en forma de racimo y sobre la superficie del agua, sin embargo, la hembra de Ae. aegypti ovoposita en las paredes húmedas de los recipientes y en forma separada, teniendo así mayor capacidad de sobrevivencia. Una vez depositados los huevos son de color blanco tronándose rápidamente a un color negro. Las larvas jóvenes se alimentan de bacterias en el agua, mudando de piel mientras crecen velozmente. A los pocos días, la larva alcanza el estado de pupa, este estadio es sumamente corto. La pupa emerge a la superficie donde el extremo superior de la misma se abre de manera perpendicular, surgiendo el adulto. Este mosquito tiene la característica de ovopositar en agua preferencialmente limpia, no contaminada, lo cual no ocurre en otras especies quienes depositan sus huevos en cualquier tipo de agua, sin importar el grado de suciedad o contaminación.

*Relación Vector-Hombre:* Ae. aegypti es una especie totalmente adaptada a la forma de vida humana dependiendo en muchos casos de la misma.

Por ejemplo ha logrado reducir el volumen del “zumbido” que provocan sus alas de tal manera que el hombre no pueda detectarlo. Nunca habita a más de 19 metros de una comunidad humana, garantizando así el alimento.

Es un insecto de rápido vuelo a menos que esté cargado de sangre. Los huevos pueden sobrevivir largos períodos en estado seco, en algunos casos por más de un año. El virus permanece en las glándulas salivales del mosquito y cuando pica inyecta saliva a través de la herida -donde los anticoagulantes contenidos en su saliva facilitan la alimentación-, inyectado junto con la saliva viaja el virus. No existe otro vector intermediario para el virus; el ciclo del contagio es exclusivamente hombre/mosquito/hombre.

El *Ae. albopictus* está identificado como trasmisor de la fiebre amarilla, siendo capaz de transmitir el dengue también. Actualmente la vacuna para la fiebre amarilla es de fácil acceso; para el caso del dengue no existe vacuna, ni tratamiento conocido contra el virus. Se presentan cuatro serotipos del virus. La primera infección es leve –comparada a una segunda o subsecuentes infecciones-, la cual es referida como “dengue clásico” con fiebres de 40°C y síntomas de dolor extremo en las articulaciones y orbitas oculares.

Para desarrollar la variedad hemorrágica –donde se presenta sangramiento ocular, nasal y de otras partes del organismo-, es preciso que la persona que es picada por un mosquito transmisor haya sido infectada previamente por un virus de serotipo diferente. De este modo los anticuerpos desarrollados en la primera infección reaccionan con el nuevo virus y exacerban el poder patógeno de éstos. El riesgo es mayor en pacientes que contraen dengue ligado al serotipo 2 después de una primera infección debida al serotipo 1.

## **Epidemiología del dengue**

*Antecedentes Históricos:* A pesar de varios intentos a nivel mundial, no se ha podido erradicar al mosquito. Se han realizado intensas campañas de fumigación y eliminación de criaderos en las naciones afectadas, pero en estas zonas muy rápidamente se observó una reinfestación por los insectos. En varias regiones de América Latina se observaron datos aun más preocupantes, por el uso excesivo de insecticidas, el *Ae. aegypti* ha desarrollado resistencia contra la mayoría de los químicos empleados. Debido a que el mosquito tiene un ciclo de vida corto y al mismo tiempo un enorme potencial reproductivo, el insecto se puede adaptar rápidamente a los insecticidas. Cabe mencionar que estos compuestos químicos tienen un efecto muy corto. Después de aproximadamente un mes hay que reaplicarlos para obtener un efecto permanente, pero esta aplicación continua fortalece la formación de resistencia a los pocos años.

Para la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el incremento de los viajes aéreos, comercio internacional, las condiciones climáticas, la urbanización no planificada, las dificultades en el abastecimiento de agua; sumados al deterioro de los programas de control del vector, la carencia de insecticidas con buena relación de costo/efectividad y la falta de educación sanitaria; son algunos de los factores relacionados a la diseminación del *Ae. aegypti* y al incremento en la circulación de los cuatro serotipos del virus.

### **El Salvador:**

En El Salvador no se habían registrado casos de dengue antes de 1980, cuando la primera epidemia reportó 2,060 casos. Durante los siguientes 10 años han ocurrido diferentes ciclos de infección reportando casos en mayor o menor número.

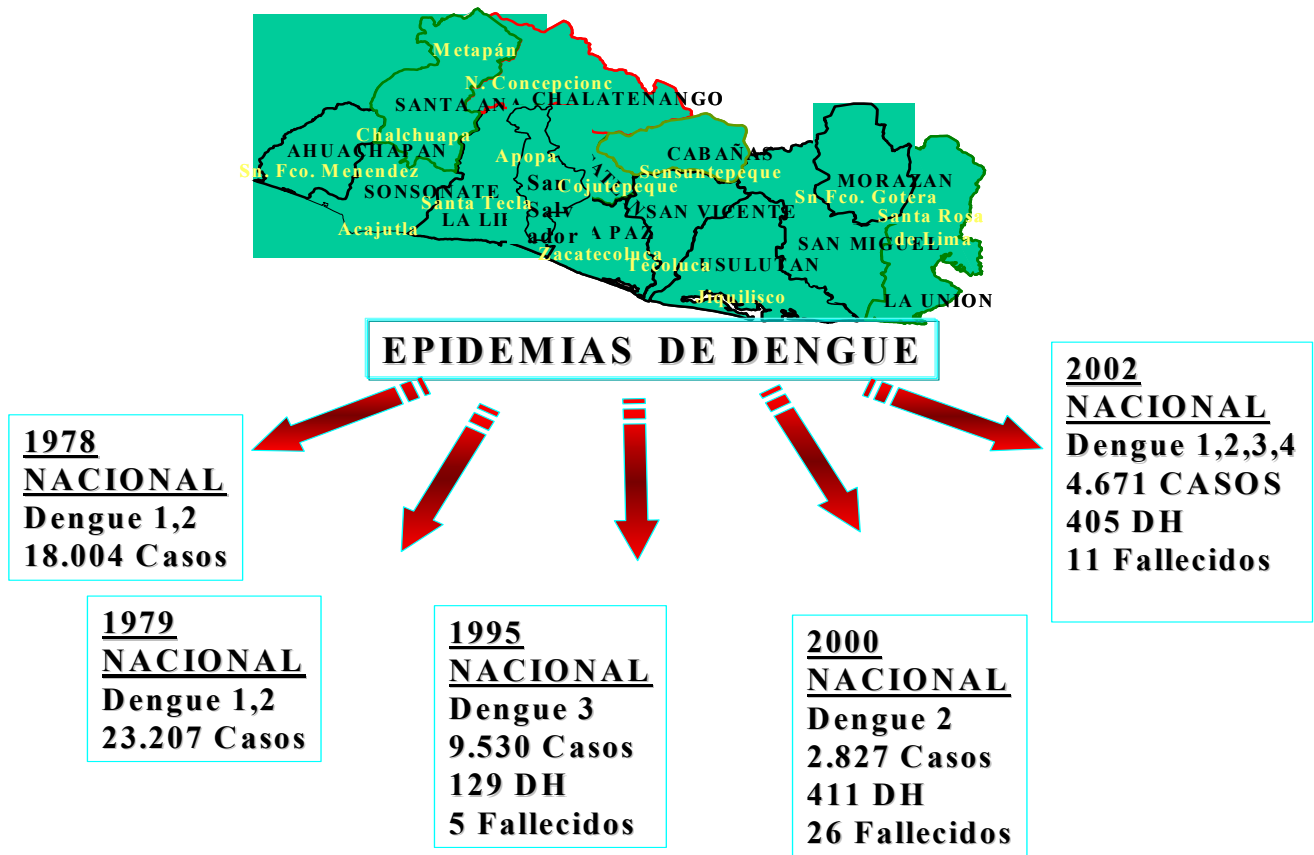
En 1993 y 1995 hubo 9,015 y 9,658 casos reportados respectivamente, el mayor número de casos reportados en el país en ese tiempo.

Estudios de aislamiento del virus demostraron que 1980 co-circulaban los serotipos DEN-1, 2 y 4. Los datos presentados en la tabla 1 nos muestran la circulación de los serotipos por año desde 1990 – 2000. Observamos que a lo largo de estos años dos o más serotipos han circulado simultáneamente. El serotipo DEN-3 fue aislado por primera vez en 1991 y fue detectado posteriormente en 1995 y 1998. El único serotipo aislado durante la epidemia del año 2000 fue DEN-2.

**Tabla 1. Serotipos de Dengue circulantes en  
El Salvador, 1990-2000**

Año	DEN-1	DEN-2	DEN-3	DEN-4
1990	X	-	-	-
1991	x	-	X	-
1992	x	-	-	X
1993	x	-	-	X
1994	x	x	-	-
1995	x	x	X	X
1996	-	-	-	-
1997	-	-	-	-
1998	-	-	-	-
1999	-	x	-	-
2000	-	x	-	-

*Fuente: Organización Panamericana de la Salud OPS/OMS, Diciembre 2000.*



*Fuente: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Dirección de Control y Vigilancia Epidemiológica. Unidad de Epidemiología. 2003*

Para el año 2003 se reportaron 3707 casos de dengue de los cuales 3,575 fueron clásicos y 132 hemorrágicos. Fallecieron en total 6 personas.

**Dengue Clásico y Hemorrágico confirmado en los años  
2000 al 2003 en El Salvador**

Tipo de Dengue	2000		2001		2002		2003	
	Casos	Tasa	Casos	Tasa	Casos	Tasa	Casos	Tasa
D.C.	2828	45.1	1120	17.5	4671	71.5	3575	53.9
D.H	410	6.5	56	0.9	405	6.2	132	2
Total	3238	52	1176	18	5076	78	3707	55.8
Fallecidos*	26	6	3	5	11	3	6	5

*D.C. Dengue Clásico / D.H. Dengue Hemorrágico*

*Tasa por 100,000 habitantes / \*Tasa de Letalidad*

*Fuente: Laboratorio Central/ Unidad de epidemiología. MSPAS*

Anexo No. 3

### Estrategias para el Control del Dengue

Dado que no existe una vacuna, el único medio que actualmente está siendo utilizado para controlar y prevenir el dengue clásico y el hemorrágico consiste en combatir al mosquito que actúa como transmisor. Las formas de control son de tipo físico, químico y biológico

- a) **Control Físico:** Busca fundamentalmente controlar la cantidad de criaderos disponibles y evitar la oviposición de la hembra. También son útiles para evitar el contacto entre el mosquito y el humano. Ejemplo de este tipo de control lo constituyen la identificación y eliminación adecuada de recipientes no útiles que puedan ser potenciales criaderos, mantenimiento adecuado de recipientes útiles, así como implementar la práctica del tapado hermético (uso de tapadera).

b) Control Químico: Desde hace aproximadamente 50 años los programas de lucha contra los vectores de enfermedades humanas y animales han estado principalmente apoyados en la utilización de compuestos orgánicos de síntesis (DDT, HCH, ésteres fosfóricos, etc.). En el caso de nuestro país la lucha contra el dengue se ha apoyado principalmente en el uso de:

- Abate granulado: Larvicida organofosforado Temephos 1.0% que se coloca en bolsas perforadas en el interior de los depósitos de agua y actúa durante un periodo de 60 a 90 días, matando larvas que intentan desarrollarse.
- Nebulizaciones: para el control de los mosquitos adultos se realizan nebulizaciones con insecticida denominado Aqua Reslin Super. Este producto está recomendado por la Organización Panamericana de la Salud y su eficacia ha sido comprobada por el Ministerio de Salud. Con las máquinas nebulizadoras se alcanza una distancia de 100 metros y dado que la fumigación se realiza alrededor de toda una cuadra de viviendas garantiza que penetre bien en los patios. Este producto no tiene olor, lo que evita molestias a la población y es inofensivo para las personas y animales de sangre caliente, ya que se trata de una sustancia que se metaboliza sin causar daños si se ingiere en las cantidades a las que se aplica.
- Untadita: Es una práctica de fácil aplicación en el nivel familiar y comunitario, desarrollada y mejorada a partir de las prácticas rutinarias de las personas y que no origina mayor costo, ni complejidad. Utiliza Cloro al 5% (lejía comercial), para la eliminación de los huevecillos del *Aedes aegypti*, el cual se aplica en las paredes de los depósitos donde se almacena agua para el uso frecuente y de reserva a nivel domiciliario.

- c) Control Biológico: Estas acciones forman parte del control vectorial teniendo presente que la aplicación de un solo mecanismo no garantiza la eliminación del problema y que requiere entonces de la combinación adecuada de diferentes mecanismos. Lo anterior implica necesariamente la vinculación de la comunidad en la práctica de medidas de control en el ámbito domiciliario y el reordenamiento del ambiente al identificarse por parte de la comunidad los factores de riesgo.

Por principio el control vectorial exige el uso racional de químicos, de tal forma que se limite su uso a la disminución rápida de la infestación de adultos en condiciones de alto riesgo y se complemente con medidas permanentes de control biológico y físico. Recordando que el uso intensivo de insecticidas han provocado daños en la salud y la extinción progresiva de insectos útiles, lo que provoca desequilibrios ecológicos importantes. También la aparición de resistencia de los vectores redujo la eficacia de los programas de lucha.

Debido a estos factores las investigaciones se han orientado hacia otros métodos de lucha para el control de las poblaciones de insectos de importancia médica y veterinaria. Entre estos métodos se encuentra la lucha biológica, que consiste en introducir en el seno de las poblaciones de insectos, factores naturales de regulación como los predadores, parásitos o microorganismos patógenos. Estas investigaciones no son nuevas, pero exigen un buen conocimiento de la ecología de los insectos a controlar y del ecosistema circundante. Se mencionan:

- Nemátodos parásitos<sup>2</sup>: (gusanos cilíndricos) principalmente Mermitidos que atacan ciertas especies de mosquitos en el estado larvario, una especie de Nematodos muy importantes *Reesimermis nielsen*

---

<sup>2</sup> Ensayo “Estudio sobre la susceptibilidad de *Poecilia sphenops* (Chimbolo Común) a diferentes concentraciones de cloro y, evaluación del método en el área urbana y rural del Municipio de San Juan Opico, Departamento de El Salvador”. Ing. Eduardo Romero Chevez, Lic. Roberto de Jesús Cardoza. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador. Febrero de 2002.

- Nematodos portadores de bacterias, los cuales constituyen un método de singular importancia e interés en el campo de entomología, especialmente aquellos de la familia *Steinernematidae*.
- Depredadores invertebrados, entre ellos se destaca una especie de mosquito *Aedes toxorhynchites* cuyas larvas son depredadoras de larvas de otras especies de mosquitos vectores de enfermedades, también existe otros insectos acuáticos como los *Dytiscidos*, *Odonata* y *Notodectidae* han demostrado ser útiles como depredadores de larvas de mosquito.
- Hongos Parásitos: En especial los del género *Coelomomyces*, las cuales destruyen una gran cantidad de larvas de una gran variedad de mosquitos, igualmente el género *Legenidium*, el cual actúa sobre larvas de *Aedes* y *Culex*.
- Protozoos Parásitos tales como *Nosema algerae* que parasita larvas y adultos de Anofelinos, también tiene gran importancia los géneros *Blastocrithidia*, *Vorticella* y *Gregarinas*.
- Bacterias Patógenas, como el *Bacillus turingiensis* para controlar en zancudo en estado larval.
- **Peces Larvivoros:** Entre los métodos de lucha biológica, los peces larvivoros han sido utilizados como excelentes biorreguladores por su actividad depredadora sobre las larvas de mosquito *Ae. aegypti*, y por la efectividad en diferentes países de Latinoamérica. El control de los mosquitos es exitoso si el pez depredador tiene una fuerte preferencia por las larvas sumado a una fuerte eficiencia de localización y captura. Las especies de peces con potencial como controladores biológicos deben ser de pequeño tamaño, ágiles, nadadores rápidos, difíciles de capturar, que puedan escapar fácilmente de sus enemigos naturales, de fácil reproducción en aguas confinadas, resistentes al manejo y transporte, tolerantes a una amplia gama de temperaturas, niveles de pH, y de preferencia nativos de la localidad. Se hace mención en la literatura de unas 300 especies de peces que podrían ser utilizadas como biocontroladores de unas 35 especies de

mosquito. Entre las familias más prometedoras como biorreguladoras están: *Poeciliidae*, *Cyprinidae*, *Cyprionodontidae*, *Cichlidae*. PAOH (1994), Weiser (1991), Wickrameshinge & Costa (1986). WHO (1981). Fonseca y Lizcano en 1998 realizaron en condiciones de laboratorio, en Costa Rica, pruebas sobre la acción depredadora de *Poecilia sp* (Poeciliidae) sobre larvas de mosquito *Ae. aegypti*. Las características biológicas y ecológicas del animal le hacen un excelente candidato para ser utilizado a nivel comunitario como biocontrolador de larvas de mosquito. Garcés *et al.* (1988), Koldenkova *et al.* (1988-1989). Los autores concluyen que en una muestra de alevines, los pececillos consumen un promedio de 10 larvas de *Ae. aegypti* en un periodo de 10 y 67 segundos; con adultos de *Poecilia sp.* estos consumen 75 larvas de mosquito en menos de 15 minutos. También se determinó además que el tiempo máximo de expulsión de las larvas ingeridas fue menor a las 24 horas. El saciar de un alevín en la ingesta de larvas de mosquito fue de 40 en un periodo de tres horas.

#### Anexo No. 4

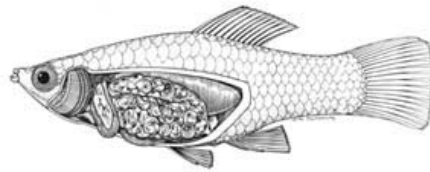
### **Ecología del Pez en Estudio: los Poecílidos**

Son peces pertenecientes al orden Ciprinodontiformes, que se encuentran difundidos por las aguas dulces y salobres de las regiones de clima templado o tropical en el sur de los Estados Unidos, América Central, el Caribe y norte de Argentina. No suelen alcanzar grandes dimensiones. Poseen grandes ojos, con la boca orientada hacia arriba y justo en el extremo del morro. Tienen una única aleta dorsal con los radios generalmente blandos. Salvo excepciones la aleta caudal es redondeada en las formas salvajes.

Actualmente los poecílidos se encuentran distribuidos prácticamente por todas las aguas templadas y tropicales del mundo. Además de su uso como peces ornamentales, algunos miembros de esta familia colaboran activamente en la lucha contra las epidemias.

Los gupys y las gambusias entre otros se han usado en la lucha biológica contra los mosquitos puesto que estos animales son voraces depredadores de sus larvas. Se los liberó en muchas zonas pantanosas y charcas de todo el mundo para acabar con estos insectos. Son peces con un ciclo reproductivo constante una vez se ha alcanzado el grado de madurez.

Desde el momento del cortejo hasta el nacimiento de alevines pasan alrededor de 6 a 8 semanas. Algunas especies de poecílicos son ovovivíparos refiriéndonos a peces en los cuales no existe nexo de unión entre la madre y el embrión, pero por el contrario los alevines nacen perfectamente formados tras producirse la eclosión de los huevos al interior de la madre.



La única manera de saber cuando una hembra está gestante es por el aumento de su volumen abdominal. En algunas especies en las que las hembras no están excesivamente coloreadas se puede observar una mancha oscura en el abdomen de las hembras preñadas que se denomina mancha de la gestación.

Cuando nacen los alevines se encuentran rodeados por la envoltura del huevo de la que se liberan rápidamente.

Las crías son perfectamente capaces de valerse por si mismas a los pocos momentos de haber nacido, lo que les es muy útil puesto que en esta familia el peor depredador de las crías son los adultos de la misma especie, en especial su propia madre. Se ha comprobado que estas tendencias caníbales son tanto más intensas cuanto mayor es el estrés al que se ve sometida la madre.

**Procedimiento utilizado para la lectura de cloro**

- 1° Se lavó y enjuagó el equipo con agua destilada eliminando todo posible residuo (tubos comparadores, probetas para toma de muestras).
- 2° Se llena el tubo de comparación hasta la marca de 5ml con la muestra blanco.
- 3° Se inserta el tubo en la abertura izquierda del comparador de colores.
- 4° Se llena el siguiente tubo comparador hasta la marca de 5ml con la muestra.
- 5° Se adiciona a este tubo, el contenido de un paquete de Reactivo en Polvo (DPD) para cloro libre. Se agita el frasco para mezclar.
- 6° El tubo es colocado en la abertura derecha del comparador de colores.
- 7° Se levanta el comparador de colores a contra luz. Se gira el disco de colores hasta que coincida en ambos frascos.
- 8° Antes de que pase un minuto, se leen los mg/l de cloro libre en la ventanilla medidora.

## Bibliografía

### Trabajos consultados:

- Romero Chevez Eduardo, De Jesús Cardoza Roberto. Propuesta metodológica para el *“Estudio sobre la susceptibilidad de poecillia sphenops (chimbolo común) a diferentes concentraciones de cloro y, evaluación del método en el área urbana y rural del Municipio de San Juan Opico, Departamento de El Salvador.”* Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador. Febrero de 2002
- Valladares Félix Edmundo. Resumen ejecutivo de *“Proyecto de control biológico de larvas de zancudo transmisor del dengue a través de peces y barriles en Cantón Malacoff, Caserío Los Anzora, Municipio de Tonacatepeque”*. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de El Salvador. Agosto de 2003

### Revistas:

- Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica. 2003 Vol.9, Número 3.
- Revista Latinoamericana de Microbiología 2000, 42 (2): 53-56.
- Revista Biocontrol 2002, 47:481-486.

### Sitios Web consultados:

- [www.medigraph.com/espanol/e-htms](http://www.medigraph.com/espanol/e-htms)
- [www.who.int](http://www.who.int)
- [www.paho.org](http://www.paho.org)
- [www.dengue-gsnich.org](http://www.dengue-gsnich.org)
- [www.animalls.net](http://www.animalls.net)
- <http://medent.usyd.edu.au>
- <http://212.187.155.84/wnv>
- <http://acuaworld-es.iespana.es>