

Para mejorar los índices de donación y trasplante en el país, se requiere capacitar más personal por medio de programas acreditados.

Se necesita incentivar a los jóvenes y futuros médicos a formar parte de programas de trasplante.

BIBLIOGRAFÍA

- Defelitto Jorge R., Cariello Alberto H. Y Colaboradores Cirugía Bases Clínicas Y Terapéuticas [Libro] = Trasplante De Órganos: Generalidades. - La Plata : [S.N.], 2011. - Vol. III : Págs. 411 - 419. - ISBN 978-987-33-0433-0.
- Chercasky Prof. Lic. Susana María CUCAICOR [En Línea] = Historia Del Trasplante De Órganos Y Tejidos // Centro Único Coordinador De Ablaciones E Implantes De La Provincia De Corrientes. - 05 de Mayo de 2013. - <http://www.terras.edu.ar/jornadas/41/recursos/41red-donar-2009-recurso-historia-del-trasplante-de-organos-y-tejidos.pdf>.
- Taberné Silvia R. elmundo.es [En Línea] = España Mantiene El Liderazgo En Trasplantes A Pesar De La Crisis. - 15 de Enero de 2013. - 06 de Mayo de 2013. - <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2013/01/15/noticias/1358254925.html>.
- EFE El Tiempo [En Línea] = Latinoamericanos Gozan De Nueva Vida Por Alza De Donación De Órganos. - 28 de Octubre de 2012. - 05 de Mayo de 2013. - http://www.eltiempo.com/vida-de-hoy/salud/articulo-web-new_notia_interior-12340087.html.
- Salud Ministerio De Salud Pública Del Ecuador [En Línea] = El Ecuador Dice Sí A La Donación De Órganos Y Tejidos. - 05 de Marzo de 2013. - 06 de Mayo de 2013. - <http://www.salud.gob.ec/tag/digercic/>.
- STALYC Sociedad De Trasplante De América Latina Y El Caribe [En Línea] = Latin America Beating Together / Ed. García Walter Duro. - 2011. - [En Línea] 2011. [Citado El: 06 De 05 De 2013.] - http://staly.net/images/stories/reporte_2011/lat_repor2011.html.
- INDOT Ministerio De Salud Pública Del Ecuador [En Línea] = Estadísticas De Donación Y Trasplante En Ecuador // INDOT. - 2012. - 08 de Mayo de 2013. - <http://www.INDOT.gob.ec/INDOTweb/index.php/estadisticas/trasplantes-2013>.
- Manyalich M Paredes D, Ballesté C, Menjívar A. The PIERDUB Project: International Project On Education And Research In Donation At University Of Barcelona: Training University Students About Donation And Transplantation. [Publicación Periódica] // Transplant Proc.. - Barcelona : [S.N.], Enero - Febrero de 2010. - Págs. 117 - 120.
- Zepeda-Romero Luz Consuelo Y Garcia-Garcia Guillermo Y Aguirre-Jauregui, Oscar. Resultados De Una Encuesta Sobre Donación Y Trasplante De Órganos En La Zona Metropolitana De Guadalajara, México. [Publicación Periódica] // Salud Pública Méx. - 2003. - I : Vol. 45. - Págs. 54 - 57. - ISSN 0036-3634.
- CUCAICOR Centro Único Coordinador De Ablaciones E Implantes De La Provincia De Corrientes [En Línea] = "Qué Sabemos Y No Sabemos Sobre Donación De Órganos Y Tejidos Para Trasplantes". - 09 de Mayo de 2013. - <http://www.cucaicor.com.ar/datos/cuestionario-de-diagnostico.pdf>.
- Ojeda Jorge A. - Almada, Carolina A. - Fernández Vallejos, Julieta A. - Viglione, Felix M. Universidad Nacional

Del Nordeste [En Línea] = Encuesta De Opinión Sobre Donación Y Trasplante De Órganos.. - 2006. - 08 De Mayo De 2013. - <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/web/cyt/cyt2006/03-medicinas/2006-m-078.pdf>.

- Leal-Mateos, Manrique Et Al. Conocimientos Y Actitudes Del Personal De Salud Hacia La Donación De Órganos Para Trasplante. Rev. Costarric. Cienc. Méd [Online]. 2005, Vol.26, N.1-2 [Citado 2013-09-01], Pp. 15-22. Disponible En: <http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0253-29482005000100002&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0253-2948.
- Lanchin Mike BBC News Magazine [En Línea] = Isabelle Dinoire: Life After The World's First Face Transplant. - 27 de Noviembre de 2012. - 10 de Mayo de 2013. - <http://www.bbc.co.uk/news/magazine-20493572>.
- Martínez Nuria El Cultural [En Línea] = Los Últimos Logros En Cirugía De Implantes. El Trasplante De Miembros Abre Un Esperanzador E Inquietante Mundo De Expectativas.. - 05 de Abril de 2000. - 09 de Mayo de 2013. - http://www.elcultural.es/version_papel/ciencia/15409/los_ultimos_logros_en__cirugia__de_implantes.
- Manyalich Martí Trasplant Coordination Manual [Libro] = The New Vital Cycle / Ed. Valero Ricard. - Barcelona : TPM - Fundació IL3 - Universitat De Barcelona - Limpergraf S.L., 2007. - 2da Edición. - ISBN 978-84-612-0565-3.
- WHO World Health Organization Global Glossary Of Terms And Definitions On Donation And Transplantation [Libro]. - Geneva : [S.N.], 2009.
- Centro De Cáncer Foscal Centro De Cáncer Y Enfermedades Hematológicas Virgilio Galvis Ramírez [En Línea] = Después De Una Donación Cómo Queda El Donante? // Trasplante De Órganos Y Tejidos. - 02 de 06 de 2013. - <http://centrodecancerfoscal.com/trasplantes>.
- Secretaría De Salud Gobernación Huila [En Línea] = Cómo Queda El Cuerpo Del Donante Después De La Donación De Órganos? // Preguntas Frecuentes- Donación De Órganos. - 25 de Septiembre de 2013. - 10 de Septiembre de 2013. - http://www.huila.gov.co/index.php?option=com_content&view=article&catid=2083%3aregional-no6-de-la-red-de-donacion-y-transplantes&id=68108%3apreguntas-frecuentes-donacion-de-organos&Itemid=4087.
- Staff Mayo Clinic Mayo Clinic [En Línea] = Organ Donation: Don't Let These Myths Confuse You. - 03 de Mayo de 2013. - 2013. - <http://www.mayoclinic.com/health/organ-donation/f100077>.
- Miguel Angel Frutos Sanz Assumpta Ricart Conesa Entrevista De Donación [Sección De Libro] // Medicina Crítica Práctica / Aut. Libro Cobo Nútia Masnou Burrallo - José Luis Escalante. - Buenos Aires : Journal, 2013. - 1ra Edición. - ISBN 978-978-1259-99-1.
- Ministerio De Salud Pública INDOT // Ley Orgánica De Donación Y Trasplante De Órganos, Tejidos Y Células. - 04 de Marzo de 2011. - Pág. 5. - Registro Oficial No. 398.

BIOENSAYO DE IVERMECTINA CONTRA LARVAS DE AEDES AEGYPTI, ALTERNATIVA PARA CONTROL DEL DENGUE EN ECUADOR

Ángel Ortiz Arauz ^{1,a,b}
Hugo Jurado ^{1,a}
Ricardo Silva Bustillos ^{1,2,c,d}

RESUMEN

El propósito de esta investigación es proponer el uso de ivermectina contra las larvas de *Aedes aegypti*, para el control del dengue, en agua de consumo humano y como mecanismo de control vectorial frente a la resistencia de larvicidas usados en la actualidad. En este estudio se realizaron varios bioensayos con ivermectina hasta obtener la dosis letal 50% (DL50%) y se demostró que con el uso del antiparasitario de uso veterinario y humano a concentraciones muy bajas, es capaz de impedir el desarrollo de las larvas de *Aedes aegypti*. Nuestros resultados determinan que a las 24 horas de exposición con ivermectina a una dosis de 300ug/L de agua causa el 97,3% de mortalidad de las larvas en todos los estadios.

PALABRAS CLAVE: larvas de *Aedes aegypti*, larvicidas, ivermectina

SUMMARY

The purpose of this research is to propose the use of ivermectin against the larvae of *Aedes aegypti* for dengue control in drinking water and as a vector control mechanism against the resistance of larvicides used today. In this study, various bioassays were conducted with ivermectin until 50% lethal dose (LD 50%) and it was demonstrated that with the use of antiparasitic human and veterinary use at very low concentrations, it is able to prevent the development of *Aedes aegypti* larvae. Results suggested that after 24 hours of exposure to an ivermectin dose of 300ug / L water produces 97.3% mortality of larvae in all stages.

KEYWORDS: larvae of *Aedes aegypti*, larvicide, ivermectin

- Universidad de Guayaquil, Instituto de Investigaciones Médicas de La Facultad de Ciencias Médicas
- Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (SENESCYT), Programa Prometeo
 - Médico
 - Master
 - PhD.
 - C.C.E

Correspondencia
Dr. Ángel Ortiz Arauz
Universidad de Guayaquil, Instituto de Investigaciones
Médicas de La Facultad de Ciencias Médicas
Email: angelortizmd@yahoo.com
Guayaquil - Ecuador

Recibido el 22 de Febrero del 2014
Aceptado el 26 de Agosto del 2014

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores del género *Aedes aegypti*, constituyen uno de los más grandes problemas de salud en la mayoría de los países tropicales y subtropicales del mundo¹. De 1995 a 2012, en las Américas se han notificado un total de 10.448.361 casos de dengue, de los cuales, 238.224 fueron casos graves y el total de fallecidos fue de 4.816². Ecuador se encontraba entre los países de la región con mayor letalidad por dengue².

El descubrimiento de larvicidas de acción residual como el temephos³ contribuyó en gran medida al control vectorial mediante programas eficaces y económicos. En años recientes se han reportado casos de resistencia a estos larvicidas, además son de potencial riesgo para la salud humana, contaminan el medio ambiente y modifican el ambiente biótico donde se desarrollan otras especies^{4,5,6}.

Como alternativas de solución a estos problemas se han venido aplicando métodos biológicos como son; el uso de peces larvicidas y bacterias como el bacilo *thuringiensis*^{8,9,10} las últimas han demostrado ser eficaces para la eliminación de larvas pero poseen casi nula residualidad por lo tanto no controlan la segunda eclosión de larvas.

Desde mediados del siglo XX y particularmente desde los años noventa se ha evaluado la posibilidad de erradicar el *Aedes aegypti*¹¹. En nuestro país a través del programa de control de vectores del SNEM y del MSP se han realizado considerables esfuerzos en la lucha contra este vector; incluyendo campañas de educación sanitarias encaminadas a disminuir los criaderos de larvas y la lucha química contra el desarrollo de larvas, sumado a esto la atención primaria en salud y sistemas de vigilancia entomológica han permitidos bajar exitosamente el número de casos. La lucha contra el dengue se mantiene, con brotes confirmados de dengue en zonas como provincia de Guayas con 103 casos Manabí 39 Los Ríos 41, Provincia del Ora 36. Según el informe de la semana epidemiológica N° 6. Ecuador 2013¹². Frente a las limitantes anteriores, se ha desarrollado el

presente estudio, con el objetivo de evaluar un potencial larvicida cuyo principio activo corresponde a un antiparasitario conocido, ivermectina, que se ha sido utilizado en animales y humanos desde los años 80s del siglo pasado^{13,14,15}. Se presupone la seguridad del antiparasitario y se evalúa como larvicida para el control de *Aedes aegypti*, intra - domiciliario en agua de consumo a baja concentración. Cabe destacar, que a pesar de la larga tradición de uso de la ivermectina, la misma no se reporta como larvicida reconocido para el control de mosquitos en Estados Unidos¹⁶.

METODOLOGÍA

Se desarrollaron dos bioensayos independientes y complementarios para evaluar la efectividad de la ivermectina como larvicida. La metodología para cada uno de los ensayos fue desarrollada de acuerdo a las Instrucciones para la Evaluación de la Resistencia a Insecticida mediante el Ensayo Biológico de la Botella de los CDC¹⁷.

Primer bioensayo: Determinación del tiempo de eficacia de Ivermectina en larvas de mosquitos *Aedes aegypti*

Se prepararon 8 acuarios con 450 ml de agua y uno de 500 para el control. Al primer acuario con 500 ml de agua se añadió Ivermectina a una concentración de 3.000 ug/l, luego se realizaron diluciones seriadas en 8 acuarios hasta obtener una concentración 0,0003 ug/l ver figura 1. Se colocaron 50 larvas en cada acuario clasificada por estadio larval para un total de 450 larvas, se contabilizaron las larvas muertas por estadio a las 4 y 24 horas.

Segundo Bioensayo: Análisis de efecto larvicida ivermectina a distintas concentraciones fijada en arena en todos los estadios.

Dado que el empleo potencial de la ivermectina sería para uso doméstico, se requería un vehículo eficiente y fácil de manipular para dosificar el larvicida. El propósito de este bioensayo fue comprobar la efectividad de la ivermectina fijada sobre arena (sílice). Se tomaron 5

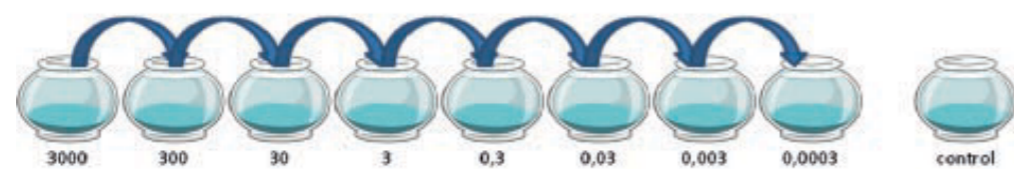


Figura 1. Montaje de dilución seriada para el análisis de mortalidad de larvas de *Aedes aegypti*

acuarios por cada dosis más 5 de control sin larvicida a cada acuario le fueron colocadas 30 larvas para un total de 450 larvas. Se contabilizó la mortalidad a las 4 y 24 horas.

El procedimiento específico para fijar la ivermectina en arena consistió en: moler la arena a un grosor aproximado de 1 mm de diámetro. Pesar 1g de arena, lavarla con soluciones ionotrópicas ajustando a un pH 7 y de acuerdo a la cantidad de larvicida añadir un volumen de solución madre preparada según lo descrito en la Tabla 1. Dejar secar a 37°C en estufa de aire comprimido listo para ser usado en el siguiente protocolo. (Ver Figura 2)

Peso de arena	volumen	Cantidad de larvicida	Volumen final	Concentración del larvicida
1g	S1(300mg/l)	30pg	100 ml	300 µg/l
1g	S2(30mg/l)	3pg	100 ml	30 µg/l
1g	S3(3mg/l)	0,3pg	100 ml	3µg/l
1g	S4(0,3mg/l)	0,03pg	100 ml	0,3 µg/l

Tabla 1: Preparación de soluciones



Figura 2: Ivermectina fijada en arena

RESULTADOS

Los resultados fueron tabulados previa aplicación de la fórmula corregida de Abbott en los casos donde la mortalidad en el acuario control luego de las 4 horas fuera de hasta un 10%, es posible usar la fórmula de Abbott para corregir el porcentaje de supervivencia de las larvas¹⁷. Estos resultados sirven para determinar la lectura corregida de la concentración Letal del Larvicida

Resultado primer bioensayo; determinación el tiempo de eficacia de ivermectina en larvas de mosquitos *Aedes spp*

Se colocaron 50 larvas en cada acuario clasificada por estadio larval para un total de 450 larvas, se contabilizó el porcentaje de mortalidad a las 4 y 24 horas, tal y como se muestra en la Tabla 2.

Concentración	% de mortalidad por estadio Tiempo	1er	2do	3er
3000 µg/L	4 H	80%	76%	70%
	24 H	100%	100%	90%
300 µg/L	4 H	73%	70%	63%
	24 H	100%	100%	76%
30 µg/L	4 H	3%	20%	6%
	24 H	93%	76%	83%
3 µg/L	4 H	0	3%	0
	24 H	93%	43%	26%
0,3 µg/L	4 H	3%	6%	23%
	24 H	100%	26%	26%
0,03µg/L	4 H	0	6%	6%
	24 H	0	16%	33%
0,003µg/L	4 H	0	0	2%
	24 H	0	0	0
0 µg/L	4 H	0	0	0
	24 H	6%	2%	4%

Tabla 2; efecto larvicida en larvas clasificadas por estadios Resultado segundo bioensayo: Análisis de efecto larvicida ivermectina a distintas concentraciones fijada en arena en todos los estadios

Para el efecto se analizaron 5 muestras independientes de 50 larvas cada una para un total de 1.500 larvas en cada uno de estadios larvarios (1er, 2do y 3er de *Aedes spp*). A los acuarios se agregaron las concentraciones del larvicida de (0,003, 0,03, 0,3, 3, 30, 300 ug/L) y se cuantificó la mortalidad a las 4 y 24 horas de exposición. En las figuras 3 y 4 se muestran los resultados para el presente ensayo.

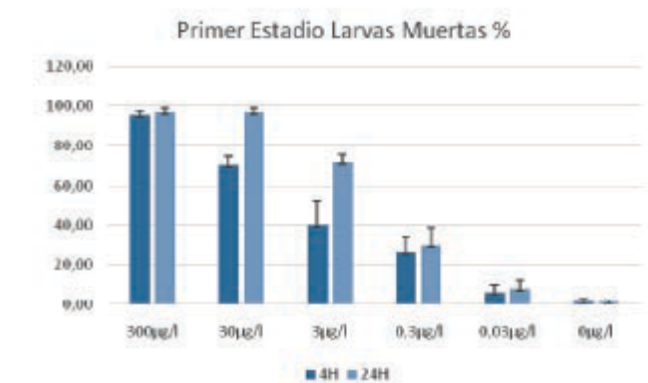


Figura 3. Efecto Larvicida, de Ivermectina fijada sobre arena para larvas del primer estadio

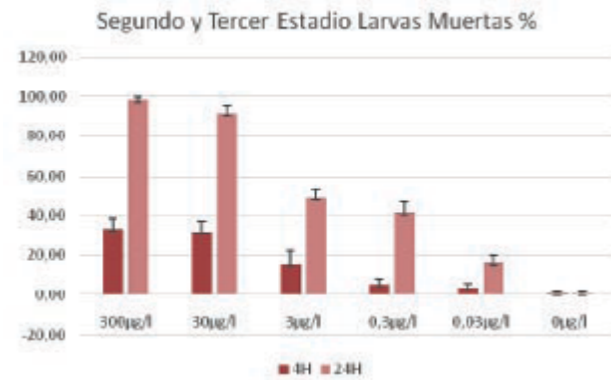


Figura 4. Efecto Larvicida, de Ivermectina fijada sobre arena para larvas del segundo y tercer estadio

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Partimos de los resultados del primer bioensayo donde se observa el efecto de la Ivermectina empleada como larvicida, sobre el objeto de estudio (larvas) en razón de Tiempo. A las 4 horas a dosis de 3000 ug/l de larvicida en el primer estadio hubo el 80% de mortalidad, segundo estadio 76% y tercer estadio 70%, notando claramente que los estadios más tempranos los efectos larvicidas es mayor para ir disminuyendo la eficacia en el segundo y tercer estadio. Mientras que a las 24 horas se observa el 100% de mortalidad para el primer y segundo estadio y 90% en tercer estadio. Así mismo a dosis de 300ug/l a las 4 horas la mortalidad resultó del 73% para el primer estadio; 70% para el segundo estadio y 63% para tercer estadio. Mientras que a las 24 horas en el estadio primero y segundo tuvieron una mortalidad de 100% y el tercer estadio 76%. Con esta observaciones se comprueba que la dosis toxica se encuentra entre los 300ug/l y 3000ug/l de ivermectina y la dosis letal entre 300ug/l a 30 ug/l, ya que la mortalidad es equivalente a las 4 y 24 horas (Ver tabla 2).

Segundo bioensayo: Análisis de efecto larvicida ivermectina a distintas concentraciones fijada en arena para todos los estadios

Se observó que a dosis de 300ug/l el 97,3% de larvas murieron, a 30 ug/l el 94%, mientras que 3 ug/L solo alcanzo el 60% de mortalidad, lo cual es consistente con el ensayo anterior. Ello confirma que la dosis letal se encuentra entre 300ug/l y 30 ug/l.

A los resultados anteriores se aplicó un análisis estadístico ANOVA estableciendo como meta un intervalo de Confianza del 95 % (IC 95%). De un total de 600 larvas. Los resultados nos indican que el valor de "p" es bioensayo con intervalo de confianza de 95% es de

2,2x10⁻¹⁵, representando una significancia experimental muy elevada.

Para establecer la DL50 (Dosis Letal, 50%), se analizaron los resultados en el programa estadístico Probit. Se determinó que la DL50 es menor a 1 ug de larvicida por larva a una concentración de 300 ug de ivermectina en un litro de agua.

CONCLUSIÓN

La Ivermectina, empleada como larvicida a dosis de 300ug/l tiene una acción biológica de mortalidad de 97,3% a las 24 horas de exposición en larvas de todos los estadios de mosquitos del género *Aedes aegypti*. En larvas del primer estadio a las 4 horas la mortalidad alcanza 95,3%. Lo anterior implicaría que la adición temprana de ivermectina en agua para consumo humano evitaría la evolución de larvas del primer estadio a los estadios avanzados. Dado que la ivermectina se ha empleado para el tratamiento de parasitosis animales y humanas, por más de treinta años sin reportar efectos adversos y se propone su empleo de manera rutinaria para el tratamiento de agua para consumo humano y animal, ya que evitaría el desarrollo de larvas de mosquitos y la consiguiente transmisión de enfermedades mediadas por dicho vector. El agua consumida directamente tendría efectos terapéuticos adicionales sobre personas y animales, con lo que lejos de representar un riesgo para la salud resultaría benéfico.

En caso de que exista algún temor derivado del consumo de ivermectina, observaciones empíricas realizadas durante el proceso de preparación de sílice como vehículo, demostraron que la ivermectina calentada a 50 grados de temperatura pierde su acción biológica. Esto indica que a pesar que no se han reportado efectos secundarios en humanos y animales el tratamiento térmico del agua (hervor) desnaturalizaría la molécula y en consecuencia cualquier efecto secundario.

RECOMENDACIONES

Este larvicida se puede usar como alternativa en casos de resistencia a los larvicidas convencionales o combinado con ellos para evitar el desarrollo de cepas resistente. Además hacen faltan estudios de agrocalidad, estudios de dosis toxica en animales y trabajo de campo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo científico ha sido cofinanciado por el Proyecto Prometeo de la Secretaría de Educación Superior de Ciencia, Tecnología e Innovación de la República del Ecuador.

BIBLIOGRAFÍA

- Llorca, Javier. Enfermedades transmitidas por vectores Fiebre amarilla, Paludismo, Dengue, Peste, Universidad de Cantabria, medicina Preventiva y salud pública 2010
- San Martín, José Luis. Situación del dengue en la región de las Américas. Programa Regional de Dengue de la OPS. 2013.
- WHO. Specifications and evaluations for public health pesticides temephos O , O , O ' O ' -tetramethyl O , O ' -thiodi- p -phenylene bis (phosphorothioate). 2010.
- Marcombe S, Mathieu RB, Pocquet N, Riaz MA, Poupardin R, Sélior S, Darriet F, Reynaud S, Yébakima A, Corbel V, David JP, Chandre F. PLO-SONE. Insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* from Martinique: distribution, mechanisms and relations with environmental factors. 2012;7(2):e30989. Epub 2012 Feb 21 PubMed
- Bisset JA, Rodríguez MM, Ricardo Y, Ranson H, Pérez O, Moya M, Vázquez A. MedVetEntomol. Temephos resistance and esterase activity in the mosquito *Aedes aegypti* in Havana, Cuba increased dramatically between 2006 and 2008. 2011 Sep;25(3):233-9. doi: 10.1111/j.1365-2915.2011.00959.x. Epub 2011 Apr 18. PMID:21501201 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Ocampo CB, Salazar-Terreros MJ, Mina NJ, McAllister J, Brogdon W. Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* in 10 localities in Colombia. Acta Trop. 2011 Apr;118(1):37-44. Epub 2011 Feb 12. PMID:21300017 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- L. Kamareddine, "The Biological Control of the Malaria Vector," Toxins, vol. 4, no. 9. pp. 748-767, 2012.
- A. M. Jayasekara, "Potential role of inland fisheries in biological control of malaria," J. Inl. Fish. Jnl. FISH, vol. 3, pp. 24-30, 1986.
- SR, Andy-Tan WA, Benjamin S, Lee HL, Sofian-Azirun. Susceptibility of field-collected *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to *Bacillus thuringiensis israelensis* and temephos. Loke M. Trop Biomed. 2010 Dec;27(3):493-503. PMID:21399591 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Lee JC, Yokota K, Arimitsu H, Hwang HJ, Sakaguchi Y, Cui J, Takeshi K, Watanabe T, Ohyama T, Oguma Production of anti-neurotoxin antibody is enhanced by two subcomponents, HA1 and HA3b, of *Clostridium botulinum* type B 16S toxin-haemagglutinin. K. Microbiology. 2005 Nov;151(Pt 11):3739-47. PMID: 1627239 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- H. Background, "The feasibility of eradicating *Aedes aegypti* in the Americas.," Rev. Panam. Salud Publica, vol. 1, no. 1, pp. 68-72, Jan. 1997.
- MSP Boletín Epidemiológico: total casos confirmados de dengue con signos de alarma, dengue sin signos de alarma, dengue grave y fallecidos por dengue en la semana epidemiológica N° 6. Ecuador 2013.
- A. H. Hall, D. G. Spoerke, A. C. Bronstein, K. W. Kulig, and B. H. Rumack, "Human ivermectin exposure.," The Journal of emergency medicine, vol. 3, no. 3, pp. 217-219, 1985.
- E. A. Ottesen and W. C. Campbell, "Ivermectin in human medicine.," J. Antimicrob. Chemother., vol. 34, no. 2, pp. 195-203, 1994.
- P. González, F. a González, and K. Ueno, "Ivermectin in human medicine, an overview of the current status of its clinical applications.," Curr. Pharm. Biotechnol., vol. 13, no. 6, pp. 1103-9, 2012.
- R. I. Rose, "Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management.," Emerg. Infect. Dis., vol. 7, no. 1, pp. 17-23, 2001.
- Brogdon, William G. and A. Chan, "Instrucciones para la Evaluación de la Resistencia a Insecticida en V mediante del Ensayo Biológico de la T," pp. 1-28, 2010.