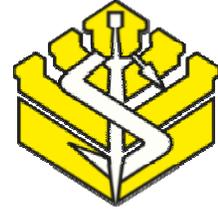




**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
"PROF. OMAIRA FIGUEROA  
SEDE ARAGUA**



**SUSCEPTIBILIDAD A INSECTICIDAS ORGANOSINTÉTICOS EN  
*Aedesaegypti*(Linneaus, 1762)EN LOS MUNICIPIOS DIEGO IBARRA Y  
GUACARA, ESTADO CARABOBO, VENEZUELA**

**Trabajo de Investigación presentado  
como requisito para aprobar la  
Asignatura por:**

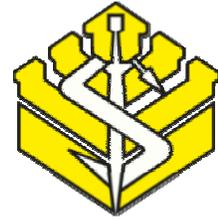
Br. Amanda Torrealba

Br. Ana Tovar

**Maracay, Noviembre de 2023**



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
"PROF. OMAIRA FIGUEROA  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



**SUSCEPTIBILIDAD A INSECTICIDAS ORGANOSINTÉTICOS EN  
*Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) EN LOS MUNICIPIOS DIEGO IBARRA Y  
GUACARA, ESTADO CARABOBO, VENEZUELA**

**Trabajo de Investigación  
presentado como requisito para  
aprobar la Asignatura por:**

Br. Amanda Torrealba

Br. Ana Tovar

**Tutora Científica:**

Lcda. Nieves Molina

**Tutora Metodológica:**

Prof. Luisa Figueroa

**Maracay, Noviembre de 2023**



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANALISIS SEDE ARAGUA  
PROFESORA "OMAIRA FIGUEROA"  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



## VEREDICTO

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado: "**Susceptibilidad a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) en los municipios Diego Ibarra y Guacara, estado Carabobo, Venezuela.**" presentado por las bachilleres Amanda Torrealba y Ana Tovar con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que el mismo reúne los requisitos para **APROBARLO** como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día martes catorce del mes de noviembre del año dos mil veintitrés, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como Coordinadora del jurado, la Tutora Metodológica Profesora Luisa Figueroa

Por otra parte se hace constar, para efectos académicos de convalidación, que el presente trabajo representa el equivalente al Trabajo de Grado reconocido en otras instituciones y el contenido del veredicto es auténtico.

Lcda. Nieves Molina  
C.I.: 18265606  
Tutora Científica

Prof. Karem Flores  
C.I.: 5001709  
Jurado Evaluador

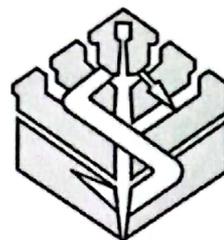
Prof. Luisa Figueroa  
C.I.: 13492802  
Coordinadora del Jurado



T1024-LF-2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
"PROF. OMAIRA FIGUEROA"  
SEDE ARAGUA  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



La Morita, Noviembre de 2023

### CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL TUTOR CIENTÍFICO

En mi carácter de Tutor Científico del Trabajo titulado: SUSCEPTIBILIDAD A INSECTICIDAS ORGANOSINTÉTICOS EN *Aedes aegypti* (Linneaus, 1762) EN LOS MUNICIPIOS DIEGO IBARRA Y GUACARA, ESTADO CARABOBO, VENEZUELA, el cual es presentado por las bachilleres: Ana Tovar, C.I.: 25.046.313 y Amanda Torrealba, C.I.: 26.192.307, para aprobar la asignatura Trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado.

*Nieves Melina Rojas*  
Nombre y Apellido

C.I. 18.265.606

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, queremos agradecerle a Dios por su amor y su bondad, por permitirnos alcanzar este logro que es el resultado de tanto esfuerzo y sacrificio realizado durante estos largos años en la carrera.

Asimismo, le agradecemos a la Universidad de Carabobo por habernos aceptado y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar la carrera que siempre soñamos.

No obstante, debemos agradecer de manera especial y sincera a la Licenciada Nieves Molina por aceptarnos para realizar este trabajo de pregrado bajo su dirección. Su apoyo en nuestro trabajo y su capacidad para guiar y mejorar nuestras ideas ha sido un aporte invaluable en el desarrollo del trabajo.

Además, también queremos darle las gracias al Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA) IAE “Dr. Arnoldo Gabaldón” y al personal técnico del laboratorio de entomología por facilitarnos los recursos y materiales necesarios para llevar a cabo nuestro trabajo.

Por otro lado, podemos decir que la familia es el pilar de mayor importancia que podemos tener en nuestras vidas. Por eso hoy queremos agradecerles a nuestros padres y hermanos, por estar presente en todo momento, por habernos acompañado durante este largo camino y por instarnos a no desistir de nuestros sueños y a luchar siempre por ellos.

Finalmente, queremos agradecerles a nuestros amigos ya que, gracias a su compañerismo, amistad y apoyo moral, aumentaron constantemente nuestras ganas de seguir adelante en nuestra carrera profesional.

## INDICE GENERAL

	<b>PP</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	viii
<b>LISTA DE TABLAS.....</b>	ix
<b>RESUMEN.....</b>	x
<b>SUMMARY.....</b>	xi
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	01
Objetivo General.....	06
Objetivos Específicos.....	06
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	07
Tipo de Investigación.....	07
Población y Muestra.....	07
Tipo de Muestreo.....	09
Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	09
Procedimiento experimental.....	09
Análisis de Datos.....	13
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	14
Resultados.....	14
Discusión.....	19
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	22
<b>CONCLUSIONES.....</b>	22
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	23
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	24

<b>ANEXOS.....</b>	<b>28</b>
A.Hoja de registro para la recolección de los datos de los bioensayos.	28

## LISTA DE FIGURAS

<b>N°</b>		<b>PP</b>
1.	Imagen satelital de la comunidad Lago Jardín, municipio Guacara, Estado Carabobo.....	08
2.	Imagen satelital de la comunidad 1 de diciembre, municipio Diego Ibarra, Estado Carabobo.....	08
3.	Datos tiempo-mortalidad en adultos de Ae. aegypti cepa susceptible (Rockefeller) y cepas de campo Lago Jardín y 1 de Diciembre, estado Carabobo expuestos al insecticida deltametrina a una concentración de 12,5µg/mL por botella.....	14
4.	Datos tiempo-mortalidad en adultos de Ae. aegypti cepa susceptible (Rockefeller) y cepas de campo Lago Jardín y 1 de Diciembre, estado Carabobo expuestos al insecticida malatión a una concentración de 100µg/mL por botella.....	15
5.	Patrones electroforéticos en Ae. aegypti (hembras y machos) de la cepa susceptible (Rockefeller).....	17
6.	Patrones electroforéticos en Ae. aegypti (hembras y machos) de la cepa 1 de Diciembre, estado Carabobo.....	17

7.	Patrones electroforéticos en <i>Ae. aegypti</i> (hembras y machos) de la cepa Lago Jardín, estado Carabobo.....	18
----	---	----

### LISTA DE TABLAS

N°		PP
1.	Dosis y tiempos diagnósticos de los insecticidas, establecidos en el manual del CDC.....	11
2.	Categorías de resistencia propuestas por el CDC.....	11
3.	Mecanismos de resistencia “in vitro” (P, media y desviación estándar) de <i>Ae. aegypti</i> cepa susceptible (Rockefeller) y cepas de campo de Guacara y Mariara, estado Carabobo.....	16

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
“PROF. OMAIRA FIGUEROA  
SEDE ARAGUA**

**SUSCEPTIBILIDAD A INSECTICIDAS ORGANOSINTETICOS EN *Aedes aegypti*(Linneaus, 1762)EN LOS MUNICIPIOS DIEGO IBARRA Y GUACARA, ESTADO CARABOBO, VENEZUELA**

**Bachilleres:  
Br. Amanda Torrealba  
Br. Ana Tovar  
Tutora Científica:  
Lcda. Nieves Molina  
Tutora Metodológica:  
Prof. Luisa Figueroa  
Maracay, 14/11/2023**

**RESUMEN**

Los arbovirus transmitidos por el mosquito *Aedes aegypti* causan enfermedades como dengue, chikungunya y zika las cuales constituyen serios problemas de salud pública. Los casos de dengue representan la principal problemática en Venezuela, puesto que se ha hecho más difícil el control del vector, debido al desarrollo de diferentes tipos de resistencias de las poblaciones del mismo. Por esta razón se evaluó la susceptibilidad de *Ae. aegypti* frente a insecticidas organosintéticos (malatión y deltametrina) en los municipios Diego Ibarra y Guacara, en el estado Carabobo, así como también se identificaron los posibles mecanismos enzimáticos asociados a la resistencia:  $\alpha$  y  $\beta$  esterasas, acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible. Para ello, se aplicó el método de botellas de botellas revestidas con insecticidas. Se aplicaron métodos bioquímicos (detección de enzimas) y electroforéticos para detectar la presencia de mecanismos de resistencia. Todas las cepas presentaron resistencia al malatión y a la deltametrina. En cuanto a las pruebas bioquímicas se encontraron valores elevados para esterasas alfa ( $\alpha$ ), y acetilcolinesterasa normal (Ache) e inhibida (Achei), con diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,005$ ) al comparar con la cepa susceptible. Estos mecanismos parecen estar asociados con la resistencia detectada en las cepas evaluadas. Por otro lado, las pruebas de electroforesis mostraron tres patrones de bandas distintas, con variable intensidad de color. Los resultados obtenidos representan un aporte valioso para la vigilancia de la resistencia del vector a nivel local.

**Palabras clave:** *Aedes aegypti*, resistencia, deltametrina, malatión, esterasas.

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
“PROF. OMAIRA FIGUEROA  
SEDE ARAGUA**

**SUSCEPTIBILITY TO ORGANOSYNTHETIC INSECTICIDES IN *Aedes aegypti* (Linneaus, 1762) IN THE MUNICIPALITIES DIEGO IBARRA AND GUACARA, CARABOBO STATE, VENEZUELA**

**Bachilleres:  
Br. Amanda Torrealba  
Br. Ana Tovar  
Tutora Científica:  
Lcda. Nieves Molina  
Tutora Metodológica:  
Prof. Luisa Figueroa  
Maracay, 14/11/2023**

**SUMMARY**

Arboviruses transmitted by the *Aedes aegypti* mosquito cause diseases such as dengue, chikungunya and Zika, which constitute serious public health problems. Dengue cases represent the main problem in Venezuela, since vector control has become more difficult, due to the development of different types of resistance in its populations. For this reason, the susceptibility of *Ae. aegypti* against organosynthetic insecticides (malathion and deltamethrin) in the municipalities of Diego Ibarra and Guacara, in the state of Carabobo, and the possible enzymatic mechanisms associated with resistance were also identified:  $\alpha$  and  $\beta$  esterases, acetylcholinesterase and insensitive acetylcholinesterase. For this, the bottle method of bottles coated with insecticides was applied. Biochemical (enzyme detection) and electrophoretic methods were applied to detect the presence of resistance mechanisms. All strains showed resistance to malathion and deltamethrin. Regarding the biochemical tests, high values were found for alpha esterases ( $\alpha$ ), and normal acetylcholinesterase (Ache) and inhibited (Achei), with statistically significant differences ( $P < 0.005$ ) when compared with the susceptible strain. These mechanisms seem to be associated with the resistance detected in the strains evaluated. On the other hand, electrophoresis tests showed three different band patterns, with varying color intensity. The results obtained represent a valuable contribution to the surveillance of vector resistance at the local level.

**Keywords:** *Aedes aegypti*, resistance, deltamethrin, malathion, esterases.

## INTRODUCCIÓN

El mosquito *Aedes aegypti* es una de las principales especies transmisoras de arbovirosis. Esta especie es originaria de África, de allí se ha extendido al mundo entero, siendo el responsable de la expansión de diversos virus, por esta razón es ampliamente estudiado en el sector de salud. Su esparcimiento es gracias al transporte de las personas y carga a lo largo del mundo (Pérez y Molina de Fernández, 2009).

Con respecto a su reproducción, se puede decir que esta ocurre en recipientes naturales como agujeros de árboles y bromelias, pero hoy en día se ha adaptado bien a los hábitats urbanos y se reproduce principalmente en recipientes artificiales, como macetas de barro, recipientes desechados y neumáticos usados, desagües de aguas pluviales, entre otros. Los adultos son de hábitos hematofágicos diurnos, los periodos en que se intensifican sus picaduras son el principio de la mañana y el atardecer, antes de que oscurezca. La hembra de *Ae. aegypti* se alimenta con frecuencia en múltiples ocasiones entre los distintos periodos de ovipostura, lo que genera conglomerados de individuos infectados. Una vez ha puesto sus huevos, estos pueden seguir siendo viables durante varios meses en condiciones de sequedad y eclosionarán al entrar en contacto con agua. [Organización Mundial de la Salud (OMS), 2022].

En relación a lo anterior, el ciclo de vida de *Ae. aegypti* comprende el huevo, cuatro estadios larvales, un estadio de pupa y el adulto. Los huevos son depositados por encima del nivel del agua de las paredes del recipiente. Al momento de la postura son blancos, pero rápidamente cambian a negro brillante. Por otro lado, las larvas son exclusivamente acuáticas. En la fase larval es el período de alimentación y crecimiento, en condiciones óptimas, el período larval desde la eclosión hasta la fase de pupa, comúnmente dura de

a 14 días. Las pupas también son acuáticas, no se alimentan; su función es la metamorfosis del estadio larval al adulto. El estadio de pupa dura dos a tres días, si antes no intervienen los factores ambientales. Finalmente, el adulto es la fase reproductora de *Ae. aegypti*; este es un mosquito oscuro con bandas blancas en las bases de los segmentos dorsales. (Chico y cols., 2001)

Dentro del grupo de las arbovirosis se encuentran enfermedades como; dengue, chikungunya y Zika, las cuales son transmitidas por *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*; éstas causan síntomas similares y en ocasiones pueden provocar epidemias (Torres y cols., 2020). El entendimiento del papel vectorial de *Ae. aegypti* es complejo teniendo en cuenta que se han reconocido diferencias en su eficiencia como vector; característica que se ha explicado por diferencias genéticas y ambientales entre el vector y el patógeno y su interacción, lo que representa un reto para su control (García, 2018)

En la Región de las Américas, el número de casos de dengue ha aumentado sostenidamente durante los últimos 25 años y este aumento se interpreta como una falla de las políticas de salud pública (Clark, 2008; Gubler, 2005). En Venezuela, la primera mención de dengue se remonta al año de 1828, cuando una epidemia azotó a Caracas. Luego aparecen reportes muy esporádicos de la casuística de dengue en el país. A partir de la década de los años 50, la morbilidad reportada muestra grandes oscilaciones hasta llegar a finales de 1989, cuando ocurre una gran epidemia (Pérez, 2006). Desde esta época se han reportado cientos de miles de casos hasta la fecha. De hecho, en el quinquenio 2004-2008 se reportaron más de 235 mil casos [Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) 2005, 2007, 2008].

Por otra parte, se tienen registros de esta enfermedad del año 2016 en donde destacan que en el estado Carabobo para ese año se notificaron 410 casos de dengue con síntomas leves, 225 casos con síntomas severos y 5 casos de dengue grave (MPPS, 2016).

No obstante, el primer caso de chikungunya en Venezuela se documentó el 30 de junio de 2014 en el Instituto de Medicina Tropical y correspondió a un caso importado de un paciente proveniente de República Dominicana. Hasta diciembre de 2016, Venezuela reportó oficialmente 53.605 casos sospechosos de chikungunya, con 3.005 casos confirmados autóctonos y 70 importados de fiebre chikungunya (Sojo y cols.,2017).

Por otro lado, el MPPS en Venezuela informó en diciembre de 2015, sobre cuatro casos de Zika confirmados y del aumento de casos de Guillain-Barré a lo largo del territorio nacional. Sin embargo, al no publicarse el boletín epidemiológico desde el año 2014, desconocemos oficialmente cuántos casos de morbilidad existen hasta la fecha de esta edición. No obstante, la Sociedad Venezolana de Salud Pública y la Red Defendamos la Epidemiología Nacional, en su boletín del 24 de enero de 2016, advierte que los casos de Zika al igual que los de dengue y chikungunya van en aumento en el país y estiman que la introducción del Zika en Venezuela se produjo, muy probablemente en julio de 2015 desde Brasil, dado el flujo importante de personas que llegan de ese país por el estado Bolívar (Zoghbi y López, 2016).

Debido al carácter endémico del dengue en Venezuela, las estrategias de control vectorial de *Ae. aegypti* se efectúan combinando medidas de saneamiento ambiental, educación sanitaria y la participación social como estrategias fundamentales. Todo esto con la intención de eliminar los

criaderos y garantizar la viabilidad de las medidas de control (Rodríguez, 2002).

Por consiguiente, el control de *Ae. aegypti* sigue siendo la opción principal para prevenir y controlar los brotes de las enfermedades causadas por este arbovirus. Aunque algunos Programas de control están haciendo énfasis en las distintas formas de transferir a la comunidad la responsabilidad, capacidad y motivación que requieren el control y la prevención del dengue, estas acciones de promoción y la participación comunitaria aún tienen escaso impacto en las epidemias debido a las dificultades para su sostenibilidad en ambientes con problemas socioeconómicos. Por ahora el tratamiento focal y perifocal con larvicidas químicos sigue siendo la principal herramienta de prevención, en tanto que la aplicación de insecticidas en volumen ultra bajo (ULV) o nebulizaciones con organofosforados, se mantienen como las medidas de control durante brotes o epidemias en Venezuela. Sin embargo, se ha demostrado que el uso prolongado de estos insecticidas crea un tipo de resistencia en este vector (Pacheco y cols., 2013).

Asimismo, la resistencia se desarrolla al nivel de población y puede ser heredada. La evolución de la resistencia en una población depende de la variabilidad genética existente que permite que algunos individuos sobrevivan al ser expuestos a un insecticida. Estos individuos sobrevivientes transfieren rasgos (genéticamente) a la siguiente generación, así enriqueciendo el acervo genético (gene pool) con genes resistentes (Cloyd y Cowles, 2010).

En relación a lo anterior, destaca la investigación realizada en Venezuela por Bastidas y cols. (2018), donde se resalta que el uso de productos químicos para el control de *Ae. aegypti* ha traído como

consecuencia que algunas poblaciones del vector adquieran resistencia a diversos insecticidas, debido a mecanismos metabólicos asociados a la sobreexpresión de enzimas detoxificantes como las esterasas. Así como, también el estudio realizado en México por López y cols., (2020), quienes encontraron resistencia a los organofosforados por parte de *Ae. aegypti*.

De hecho, las enzimas carboxilesterasas, acetilcolinesterasa y glutatión-S-transferasas están envueltas en la resistencia a organofosforados. Mientras que las esterasas confieren resistencia tanto a organofosforados como a piretroides. (Figueroa y cols., 2006). El estudio realizado por Molina de Fernández y cols. (2013), confirma lo anteriormente expuesto. No obstante, los mecanismos de resistencia pueden ser; metabólicos, físicos, fisiológicos, de comportamiento y natural (Cloyd y Cowles, 2010).

No obstante, la resistencia a insecticidas desarrollada por este vector no solo se debe al uso indiscriminado del producto químico sino también al mal manejo y aplicación de este (Calderón y cols., 2018).

Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, la problemática actual sobre el ascenso de casos de dengue en el país, los mecanismos de resistencia que ha ido adquiriendo el vector, los pocos estudios realizados sobre el tema y la falta de registro de casos en la actualidad, es necesario y vital identificar las poblaciones resistentes y los diferentes mecanismos que se podrían utilizar. Por estos motivos el presente estudio tiene como finalidad evaluar la susceptibilidad a insecticidas organosintéticos de *Ae. aegypti* en el estado Carabobo, específicamente en los municipios Diego Ibarra y Guacara.

Los resultados obtenidos serán sumamente valiosos y de gran utilidad, ya que no solo permitirán conocer que poblaciones o sectores del estado

presentan mosquitos resistentes a insecticidas, sino que además ayudara a fortalecer y mejorar la aplicación del control químico, para así de esta manera disminuir el desarrollo de los mecanismos de resistencia, lo cual a su vez permite seleccionar adecuadamente los insecticidas a utilizar.

### **Objetivo General**

Evaluar la susceptibilidad a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linneaus, 1762) en los municipios Diego Ibarra y Guacara, estado Carabobo, Venezuela.

### **Objetivos Específicos**

- Determinar la respuesta de *Ae. aegypti* a insecticidas organosintéticos en cada cepa de campo en comparación con la cepa susceptible Rockefeller.
- Identificar los posibles mecanismos enzimáticos asociados a la resistencia a insecticidas organosintéticos.
- Determinar los patrones de esterasas involucrados en la resistencia a través de estudio de electroforesis.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo descriptivo, transversal y experimental; en razón que se evaluó la respuesta de *Ae. aegypti* de los municipios Diego Ibarra y Guacara frente a los insecticidas organosintéticos, tales como malatión y deltametrina.

### Población y muestra

El presente estudio comprende dos poblaciones de campo de *Ae. aegypti* procedentes de las comunidades Lago Jardín en el municipio Guacara 10°2'29.11"N, 67°8'46.60"O (figura 1) y 1 de diciembre en el municipio Diego Ibarra 10°2'85.70"N, 67°7.26.12"O (figura 2), ambos municipios ubicados en el estado Carabobo. La muestra inicial estuvo constituida por estadios inmaduros, obtenidos de aproximadamente 10 casas seleccionadas al azar en cada comunidad. Se eligieron estas comunidades porque son relativamente pequeñas, además la primera de ellas se encuentra cerca del Lago los Tacarigua, lo cual quiere decir que tiene mayor acceso a mosquitos.



**Figura 1. Imagen satelital de la comunidad Lago Jardín, municipio Guacara, Estado Carabobo.**



**Figura 2. Imagen satelital de la comunidad 1 de diciembre, municipio Diego Ibarra, Estado Carabobo.**

## **Tipo de muestreo**

Se realizó un muestreo no probabilístico de tipo intencional, debido a que se usaron criterios de inclusión y exclusión, puesto que las muestras contenían varios tipos de pupas y larvas.

Con este muestreo se recolectaron larvas y pupas, las necesarias con las cuales se comenzó con el proceso de formación de colonias.

## **Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Se empleó un formato del laboratorio de entomología del Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA), para evaluar los diferentes insecticidas en donde se colocó la concentración y la mortalidad en relación al tiempo de exposición de los mosquitos (anexo A).

## **Procedimiento experimental**

### **Recolección de material biológico y cría en laboratorio**

Durante el cuarto trimestre de 2022 y el primer trimestre de 2023, se recolectaron las formas inmaduras de *Ae. aegypti* de las dos localidades evaluada, mediante búsqueda activa en floreros, contenedores de agua y todo aquello que fue considerado un criadero de este vector en ambas localidades.

El material de campo que se recolectó (diferentes estadios larvarios del vector) fue trasladado al Laboratorio de entomología del Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA), para el establecimiento de las colonias, hasta obtener los adultos. Siguiendo la metodología personal del señor Julio González.

El vector en estadio larvario se alimentó con una dieta alta en contenido de proteínas y carbohidratos (perrarina, gatarina y levadura) y baja en grasas, los diferentes alimentos se trituraron hasta obtener una mezcla homogénea. La cantidad de alimento usado fue proporcional tanto al número de larvas, como al estadio en el cual se encontraban.

A medida que emergieron las pupas estas se transfirieron a un recipiente dentro de una jaula (completamente hermética) para esperar la emergencia de los adultos.

Para la cría de los mosquitos en fase adulta se utilizaron jaulas cuyo tamaño fue proporcional a la cantidad de mosquitos que albergaba (30x30x30 cm). Antes de alimentar a la hembra con sangre de ave (*Columba livia*, comúnmente llamada paloma) se esperó de 2 a 3 días para que se diera la copulación entre las hembras y los machos, para estos se colocó papel absorbente alrededor del envase donde se encontraban las pupas, con el fin de facilitar la recolección de las posturas.

Una vez obtenidas las oviposturas, estas se fueron almacenando hasta formar las colonias de *Ae. aegypti* de primer, segundo y tercer estadio. Siendo las de primer estadio las usadas posteriormente para la realización de los bioensayos y las pruebas bioquímicas.

### **Determinación de resistencia a insecticida y mecanismos de resistencia “in vitro”**

Se realizaron siguiendo el método de las botellas tratadas con insecticidas, del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, 2010) (Brogdon&McAllister, 1998). Los mosquitos adultos hembras y machos recolectados fueron expuestos a botellas de vidrio de tipo wheaton de

250mL, tratadas previamente con soluciones cetónicas de insecticidas. Se expusieron aproximadamente de ocho a 10 mosquitos adultos entre hembras y machos por botella de tres días de edad F1, alimentados exclusivamente con solución azucarada al 10%. Se evaluaron cuatro replicas por cada concentración de insecticida y dos replicas como grupo control en el cual solo se trató la botella con acetona. Cada bioensayo se efectuó por triplicado el mismo día, para asegurar que todos se realizaran bajo las mismas condiciones ambientales. Se registró la mortalidad cada cinco y 10 minutos hasta el tiempo en el que se logró el 100% de mortalidad, de esta manera se determinó el efecto del insecticida en función del tiempo de exposición. Para la ejecución de estos bioensayos se emplearon las dosis y los tiempos diagnósticos establecidas por CDC para *Ae. aegypti* (tabla I). Para la determinación del nivel de resistencia a insecticidas se tomó como referencia las categorías de resistencia propuestas por el CDC para *Ae. aegypti* (tabla II).

<b>Insecticida</b>	<b>Dosis diagnóstica (µg/ml)</b>	<b>Tiempo (min)</b>
<b>Malatión</b>	<b>100</b>	<b>30</b>
<b>Deltametrina</b>	<b>12,5</b>	<b>15</b>

**Tabla I. Dosis y tiempos diagnósticos de los insecticidas, establecidos en el manual del CDC.**

<b>% MORTALIDAD</b>	<b>CATEGORÍA</b>
>90	Susceptible
90-96	Resistencia en desarrollo (vigilancia)
<90	Resistente

**Tabla II. Categorías de resistencia propuestas por el CDC.**

## **Pruebas bioquímicas**

Se realizaron pruebas bioquímicas siguiendo la metodología de Brogdon y cols., (1989) y Figueroa y cols., (2006) modificada, para las cuales cada mosquito fue homogeneizado en 50 $\mu$ L de amortiguador buffer fosfato (pH 7 y 0,05M) y diluido posteriormente hasta 500  $\mu$ L del mismo amortiguador. Después cada muestra fue centrifugada. Luego se tomaron alícuotas de 50 $\mu$ L de cada muestra y se colocaron en placas para microtitulación de 96 pocillos. Se evaluaron cuatro enzimas diferentes que confieren resistencia a los insecticidas; esterasas  $\alpha$ ,  $\beta$ , acetilcolinesterasa (AChe) y acetilcolinesterasa insensible (AChei). Los sustratos utilizados en cada ensayo incluyeron  $\alpha$  y  $\beta$ -naftil acetato para las esterasas no específicas, el yoduro de acetilcolina para medir la actividad de acetilcolinesterasa normal, para la acetilcolinesterasa insensible se añadió al insecticida carbamatopropoxur a la muestra. La absorbancia fue medida con el lector de ELISA, Multiskan Plus de Fisher Scientific, usando filtros de 405nm para AChe y AChei, mientras que para las esterasas se utilizó filtro de 620nm.

## **Identificación de las esterasas por electroforesis**

Para el presente trabajo se efectuaron procesos de electroforesis siguiendo la metodología de García-Segua y cols., (2002), la cual consistió en preparar los mosquitos en una proporción de 1:1; 10 $\mu$ L de homogenato con 10 $\mu$ L de amortiguador de carga para un total de 20 $\mu$ L. Luego se preparó un gel tampón colocándolo en la placa y se esperó la polimerización del mismo. Para preparar el gel de corrida, se añadió a la placa nuevamente y se colocó un peine separador. Una vez ocurrida la polimerización se retiró el peine junto con el gel del soporte. Después se llenó la cámara con amortiguador de corrida, se colocó el gel dentro y las muestras en cada pocillo correspondiente. La corrida se efectuó aproximadamente a 150 voltios

por 1 hora y 20 minutos. Pasado el tiempo se retiró el gel y se colocó en un recipiente contentivo con 50mL de sustrato y se incubo por 20 minutos, después se añadió el colorante Fast Blue por 5 minutos, se enjuago y se sumergió en 50mL de solución fijadora (10% metanol y 7% ácido acético) por 20 minutos, posteriormente se procedió a secar a 80°C por 1 hora 45 minutos y por último se retiró el gel.

### **Análisis de datos**

Para la ejecución de las pruebas biológicas se utilizaron las dosis diagnosticas para cada insecticida establecidas en el manual CDC y se usó un formato (anexo A) para vaciar los datos obtenidos. Los cuales luego se graficaron en el programa Excel, empleando una curva sigmoidea de porcentaje de mortalidad versus tiempo en minutos.

Por otra parte, los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas de la acetilcolinesterasa, acetilcolinesterasa insensible y esterases, se analizaron en función de los valores de absorbancias, mediante una prueba de correlación.

Por último, para la identificación de esterases por electroforesis, se determinó la razón de movilidad ( $R_f = \text{distancia de migración de la banda} / \text{distancia de migración del indicado xileno cianol}$ ) y se identificaron las esterases  $A_4$  ( $R_f = 0,7$ ) y  $B_2$  ( $R_f = 0,2$ ), que han sido reportadas como mecanismo de resistencia en otras especies de importancia médica (Georghiou y Pasteur, 1978).

## RESULTADOS

### Pruebas biológicas

En la figura 3 se presentan los resultados al evaluar el insecticida deltametrina a una concentración de 12,5µg/mL. La cepa Lago Jardín presento el 100% de mortalidad a los 30 minutos y la cepa 1 de Diciembre a los 25 minutos. Con respecto a la cepa susceptible, esta logro el 100% de mortalidad a los 15 minutos. Con respecto al tratamiento control, no se detectó mortalidad mayor a 5%. Al comparar las categorías de resistencia propuestas por el CDC, se pudo observar que a los 15 minutos la cepa Lago jardín alcanzo una mortalidad de 86.8% mientras que la cepa 1 de Diciembre consiguio una de 77.5%, indicando así que ambas cepas son resistentes a la deltametrina.

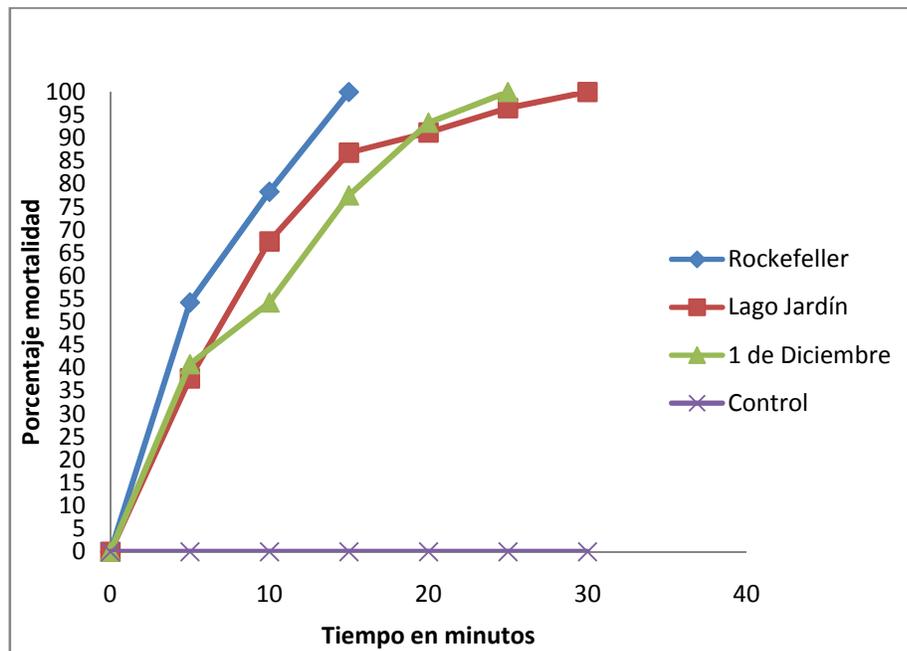
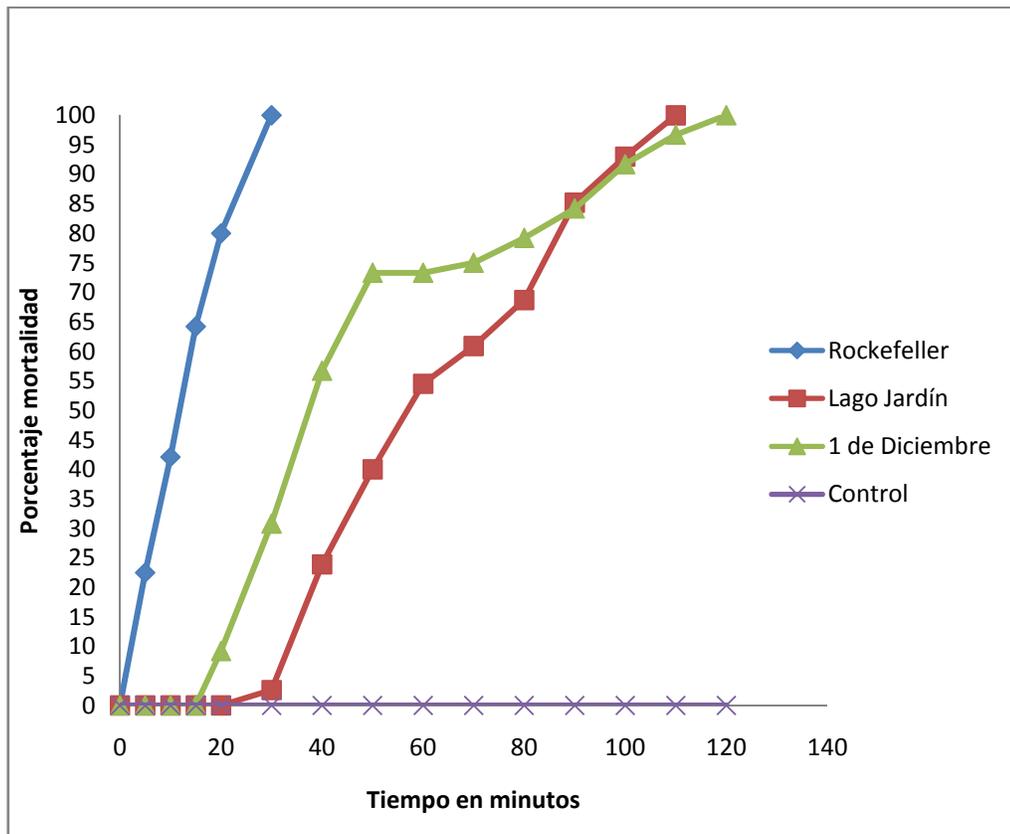


Figura 3. Datos tiempo-mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y cepas de campo Lago Jardín y 1 de

**Diciembre, estado Carabobo expuestos al insecticida deltametrina a una concentración de 12,5µg/mL por botella.**

En la figura 4 se presentan los resultados obtenidos al evaluar el insecticida malatión a una concentración de 100µg/mL. La cepa Lago Jardín alcanzo el 100% de mortalidad a los 110 minutos y la cepa 1 de Diciembre a los 120 minutos. Mientras que la cepa susceptible logro el 100% de mortalidad a los 30 minutos. Con respecto al tratamiento control, no se detectó mortalidad mayor a 5%. Al comparar las categorías de resistencia propuestas por el CDC, se pudo observar que a los 30 minutos la cepa Lago Jardín alcanzo una mortalidad de 2.6% mientras que la cepa 1 de Diciembre consiguió una de 30.8%, indicando así que ambas cepas son resistentes al malatión.



**Figura 4. Datos tiempo-mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y cepas de campo Lago Jardín y 1 de Diciembre, estado Carabobo expuestos al insecticida malatión a una concentración de 100µg/mL por botella.**

### **Pruebas bioquímicas**

En la tabla III se observa, un resumen de los resultados de los mecanismos de resistencia a insecticidas “in vitro”, representados por la media de las densidades ópticas (DO) y sus valores de desviación estándar para cada una de las determinaciones realizadas. En la cepa Lago Jardín se observó actividad esterasas alfa significativamente mayor que la cepa susceptible Rockefeller, la prueba Kruskal Wallis demostró que existe diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ). Con relación a las enzimas Ache y Achei, los valores de estas también resultaron ser elevados en las dos cepas evaluadas, el Kruskal Wallis también demostró que existen diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

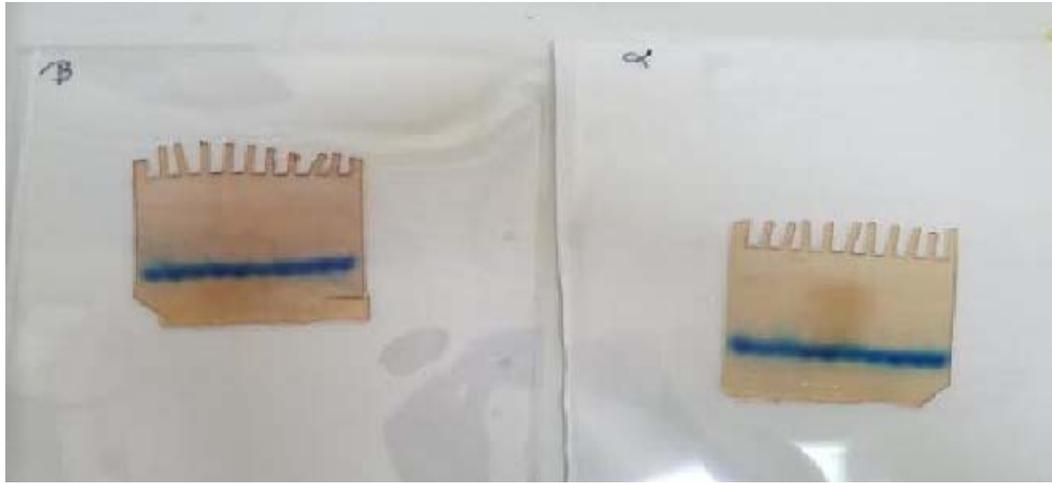
<b>Mecanismos</b>	<b>Cepas</b>	<b>P</b>	<b><math>\bar{X}</math></b>	<b>DS</b>
<b>Esterasas Alfa</b>	Rockefeller	0,0002	0,4655 *A	0,2315
	Lago Jardín		0,5512 *B	0,1614
	1 de Diciembre		0,4146 *A	0,1653
<b>Esterasas Beta</b>	Rockefeller	0,9434	0,4850	0,2084
	Lago Jardín		0,4935	0,1622
	1 de Diciembre		0,4968	0,1587
<b>AChei</b>	Rockefeller	0,0048	0,0867 *A	0,0185
	Lago Jardín		0,0860 *AB	0,0161
	1 de Diciembre		0,0875 *B	0,0185
<b>ACHE</b>	Rockefeller	0,0001	0,1513 *A	0,0644
	Lago Jardín		0,3412 *C	0,0937
	1 de Diciembre		0,2503 *B	0,1433
<b>Proteína</b>	Rockefeller	0,0001	0,0899 *A	0,0108
	Lago Jardín		0,0945 *B	8,400E-03
	1 de Diciembre		0,0953 *B	9,495E-03

**P: valor de P mayor o igual 0.05.  $\bar{X}$ : media. DS: Desviación estándar.**

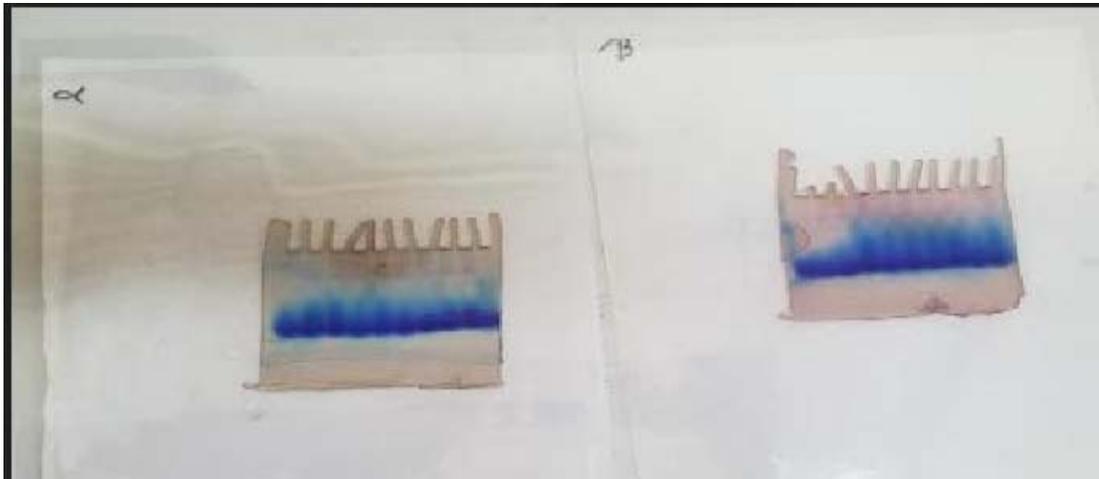
**Tabla III. Mecanismos de resistencia “in vitro” (P, media y desviación estándar) de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y cepas de campo Lago Jardín y 1 de Diciembre, estado Carabobo.**

**Electroforesis**

En las figuras 5, 6 y 7 se presentan los patrones electroforéticos para las esterasas ( $\alpha$ ) y ( $\beta$ ), donde se pueden observar tres patrones esterasas, con una, dos y tres bandas, en total son tres patrones de bandas distintas, con valores de Rf entre 0,3 a 0,4; con variable intensidad del color en las bandas.



**Figura 5. Patrones electroforéticos en *Ae. aegypti* (hembras y machos) de la cepa susceptible (Rockefeller).**



**Figura 6. Patrones electroforéticos en *Ae. aegypti* (hembras y machos) de la cepa 1 de Diciembre, estado Carabobo.**



**Figura 7. Patrones electroforéticos en *Ae. aegypti* (hembras y machos) de la cepa Lago Jardín, estado Carabobo.**

## DISCUSIÓN

Todos los insecticidas químicos ejercen en mayor o menor extensión, presión selectiva sobre las poblaciones de insectos que intentan controlar. El tiempo necesario para el desarrollo de resistencia depende de numerosos factores incluyendo la frecuencia y naturaleza de los genes de resistencia, las estrategias para su manejo, las dosis y frecuencias de aplicación de los insecticidas y la eficacia biológica de las poblaciones resistentes en relación con las susceptibles (Molina y cols., 2016).

Se halló resistencia al malatión en las dos cepas evaluadas, similar a los hallazgos reportados por López y cols., (2020) en cepa de *Ae. aegyptide* Tapachula, Chiapas, México; Molina y cols., (2016) en cepas de *Aedes albopictus* de la región central de Venezuela y Bastidas y cols., (2015), quienes reportaron resistencia al malatión en mosquitos del estado Falcón. El malatión es uno de los principales insecticidas que se ha empleado en América desde los años 80. En Venezuela es el insecticida usado en aplicación espacial en el control vectorial del dengue, lo que pudo generar presión de selección sobre cepas de *Ae. aegypti*.

Por otra parte, se evidenció resistencia a la deltametrina en las dos cepas evaluadas, difieren de los reportados por Santacoloma y cols., (2010) los cuales encontraron susceptibilidad a la deltametrina en 13 cepas colombianas; Bisset y cols., (2014) reportaron susceptibilidad en una cepa de *Ae. aegypti* de Argentina. Estos hallazgos coinciden con los estudios de López y cols., (2020) en cepa de Tapachula, Chiapas, México; Álvarez y cols., (2014) quienes registraron resistencia a la deltametrina en cepas de *Ae. aegypti* del occidente de Venezuela. Diversas investigaciones han demostrado que *Ae. aegypti* de Venezuela ha desarrollado resistencia a diferentes insecticidas, entre ellos piretroides (Mazarri y Georghiou, 1995;

Bisett y cols., 2001; Álvarez y cols., 2008, 2013). Particularmente, en Venezuela, durante los últimos 15 años se han incorporado los piretroides para el control de adultos mediante aplicación espacial de gotas de ULV, lo que pudo haber generado una presión de selección sobre las poblaciones de *Ae. aegypti* y trajo como consecuencia el fenómeno de la resistencia.

Entendiéndose como resistencia “el desarrollo de una habilidad en una cepa de algún organismo para tolerar dosis de un tóxico que se comprueba como letal en la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie” (WHO, 1992). Es una característica genética heredable cuya frecuencia incrementa en la población como un resultado directo de la presión de selección con un insecticida. Las esterasas elevadas han sido involucradas en la resistencia a los insecticidas organofosforados (malatión) y en menor medida en la resistencia a los piretroides (deltametrina), diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ) nos indica que la resistencia al malatión por parte de las cepas en estudio pudiera estar relacionada con el incremento en los niveles de esterasas como mecanismo de resistencia metabólica (Bastidas y cols., 2015).

Los mecanismos desintoxicantes encontrados, fueron las esterasas, las cuales ejercen su acción uniéndose rápidamente al insecticida, antes de que llegue a su sitio de acción, lo que requiere elevadas cantidades de estas enzimas desencadenando la sobreproducción enzimática y por ende el desarrollo de resistencia (Karunaratne y cols., 1993). Confiere resistencia a los piretroides y organofosforados.

No obstante, los insecticidas organofosforados ejercen su acción tóxica mediante la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) (Saume, 1992), por lo que la elevación de esta enzima, indica que también podría estar involucrada en el mecanismo de resistencia presentado por las

cepas evaluadas. Han sido reportados por López y cols., (2020) como el mecanismo desintoxicante de los organofosforados en una cepa Chiapas, México.

Se puede afirmar que los resultados obtenidos en el presente estudio, basados en los bioensayos, pruebas bioquímicas y electroforéticas, evidencian que hay comunidades en el estado Carabobo, en las cuales se presenta alta resistencia al malatión y a la deltametrina en poblaciones naturales de *Ae. aegypti*.

Estos procesos de resistencia deberán ser abordados con mayor profundidad para determinar si están poblaciones resistentes se están diseminando, para así definir como se debe abordar el control vectorial.

## CONCLUSIONES

Al estudiar las poblaciones de *Ae. aegypti* de las comunidades Lago Jardín y 1 de Diciembre, y someterlas a pruebas de susceptibilidad a malatión y deltametrina, mostraron elevada resistencia a ambos. Esto posiblemente esté relacionado con el uso prolongado de estos insecticidas a lo largo de los años. Con respecto a los mecanismos de resistencia involucrados, se destaca el incremento de alfa esterasas, junto con el posible aumento de la acetilcolinesterasa.

Gracias a la información generada por este trabajo ahora se tiene una idea más clara sobre el comportamiento del mosquito en estas comunidades.

Por otro lado, en base a los resultados obtenidos se puede decir que la detección de la resistencia a insecticidas debe ser un componente esencial en todos los programas para el control del vector transmisor del dengue y otras arbovirosis, ya que la presencia de esterasas o acetilcolinesterasa elevada asociadas a estos mecanismos de resistencia en poblaciones de campo limita el número y clases de insecticidas disponibles. La determinación temprana de estos mecanismos es de vital importancia en los programas de control y en el manejo de la resistencia a insecticidas. Debido a que esto les permite a los entes gubernamentales diseñar programas más eficaces en el manejo del vector.

En la actualidad, los casos de dengue han estado incrementándose en nuestro país, por esta razón contar con este tipo de estudio es de gran ayuda, ya que los resultados obtenidos podrían facilitar las campañas de prevención contra la enfermedad.

## RECOMENDACIONES

- Implementar medidas alternativas (no químicas) para el control del vector.
- No usar diferentes insecticidas de forma frecuente porque esto aumenta la probabilidad de crear resistencia.
- Aplicar solo las dosis recomendadas de los insecticidas.
- Evitar repetir tratamientos con insecticidas que pertenezcan al mismo grupo químico.
- No utilizar insecticidas de resistencia comprobada en las localidades.
- No acortar los periodos de aplicación de los insecticidas.
- No aplicar insecticidas en lugares cerrados, debido a que esto pudiese incrementar el riesgo de aparición de resistencia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, L., Castillo, C., Oviedo, M., y Briceño, F. (2008). Diferencias en la susceptibilidad a la deltametrina en poblaciones de *Aedes aegypti* de Trujillo, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 48, 169-175.
- Álvarez, L., Ponce, G., Oviedo, M., López, B., y Flores, A. (2013). Resistance to Malathion and Deltamethrin in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Western Venezuela. *Vector, control, pestmanagement, resistance, repellents*, 50, 1031-1039.
- Álvarez, L., Ponce, G., Oviedo, M., Briceño, A., y Flores, A. (2014). Mecanismos asociados a la resistencia al derribo "kdr" a la deltametrina en *Aedes aegypti* del occidente de Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 54, 58-67.
- Bastidas, D., Figueroa, L., Pérez, E., Molina de Fernández, D. (2015). Estado de la resistencia a insecticidas organosintéticos de *Aedes aegypti* de Coro, estado Falcón, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 55(2), 173-183.
- Bastidas, D., Molina de Fernández, D., Ferrer, E. (2018). Caracterización de la resistencia a insecticidas DDT y Lambdacialotrina asociados a la mutación Kdr V10161 en algunas cepas de *Aedes aegypti* (Linnaeus 1762) (Díptera: Culicidae) de Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 58(1,2), 16-31.
- Bisset, J., Rodríguez, M., Molina, D., Díaz, C., y Soca, L. (2001). Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. *Revista Cubana Medicina Tropical*, 5,37-43.
- Bisset, J., Mondelo, R., Rodríguez, M., Ricardo, Y., Hurtado, D., Fuentes, I. (2014). Evaluación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) de Argentina. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 66(3), 360-369. <https://doi.org/10.21149/10131>.
- Brogdon, W., Beach, R., Stewart, J. y Castanaza, L., (1989). Análisis por ensayo de microplacas de la distribución de la Resistencia de *Anopheles albimanusa* organofosforados y carbamatos en Guatemala. *Bol. San. Panam*, 106, 139-147.

- Brogdon, W., y McAllister, J. (1998). Insecticideresistance and vector control. *EmergingInfectiousDiseases*, 4(4), 605-613.
- Calderón-Arguedas, Ó., Vargas, K. y Troyo, A. (2018). Resistencia a insecticidas en cepas de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) de tres distritos de la Región Pacífico Central de Costa Rica. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 70(3), 1-9.
- Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, U.S.A. (CDC), (2010). Dengue. [Documento en Línea]. Disponible: <http://www.cdc.gov/spanish/enfermedades.htm> (Consultado: 2022, Julio 25).
- Chico, P., Hidalgo, F., Ochoa y Esquivel, R., (2001). Ciclo de vida del *Aedes aegypti* y manifestaciones clínicas del dengue. *ActaPediátrica de México*, 22(2), 114-117.
- Clark, G., (2008). Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in Northern Mexico and South Texas: Do They Really Respect the Border? *J. Amer. Mosq. Control. Assoc*, 78, 361-362.
- Cloyd, R. A., y Cowles, R. S. (2010). Manejo de resistencia: principios de resistencia, modo de acción y rotación de insecticidas. *ConnectAgricExpStn*, 1-12.
- Figueroa, L., Álvarez, M., Pérez, E., y Molina de Fernández, D. (2006). Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anophelesaquasalis* Curry (Díptera: Culicidae) del estado Aragua. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 46(1).
- García, G., (2018). *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* (Díptera: Culicidae) y su importancia en salud humana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 70(1), 55-70.
- García-Segua, J., Gavilanes, J., Martínez, A., Montero, F., Oñaderra, M. y Vivanco, F., (2002). Técnicas instrumentales de análisis en bioquímica. *España, Síntesis, SA*.
- Georghiou, G., y Pasteur, N. (1978). Electrophoretic esterase patterns in insecticide-resistant and susceptible mosquitoes. *J Econ Entomol*, 71 (2), 5-201. <https://doi.org/10.1093/jee/71.2.201>

- Gubler, D., (2005). The emergence of epidemic dengue fever and dengue hemorrhagic fever in the Americas: a case of failed public health policy. *Revista Panama Salud Pública*, 17, 221-224.
- Karunaratne, S., Jayawar, K., Hemingway, J., y Ketterman, A. (1993). Characterization of a B-type esterase involved in insecticide resistance from the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Biochem J*, 339, 575-579.
- López, A., Castillo, A., Cisneros, J., Solís, F., Penilla, R., Black W., y cols., (2020). Resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (Díptera: Culicidae) de Tapachula, Chiapas, México. *Salud Publica México*, 62(4), 39-446. <https://doi.org/10.21149/10131>
- Mazzarri, M., y Georghiou, P. (1995). Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* (L) from Venezuela. *J. Am. Mosq. Control Assoc*, 11, 315-322.
- Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), (2005). *Boletín epidemiológico semanal*, 52 [Documento en Línea]. Disponible: <http://www.msds.gov.ve/ms/modulesphp> (Consultado: 2022, Julio 20).
- Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), (2007). *Boletín epidemiológico semanal*, 52 [Documento en Línea]. Disponible: <http://www.msds.gov.ve/ms/modulesphp> (Consultado: 2022, Julio 20).
- Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), (2008). *Boletín epidemiológico semanal*, 53 [Documento en Línea]. Disponible: <http://www.msds.gov.ve/ms/modulesphp> (Consultado: 2022, Julio 20).
- Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), (2016). *Boletín epidemiológico semanal*, 52, 1-33. [Documento en Línea]. Disponible: <http://www.msds.gov.ve/ms/modulesphp> (Consultado: 2022, Julio 20).
- Molina de Fernández, D., Bastidas, D., y Figueroa, L. (2013). Malatión vs. *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Díptera: Culicidae) de diferentes regiones de Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 53(1).
- Molina, D., Bastidas, D., Molina, N., Figueroa, L., Navarro, J., Guerra, A., González, J., Sánchez, V., y Ramírez, R. (2016). Estudio preliminar sobre el comportamiento de *Aedes albopictus* de la región central de Venezuela a insecticidas químicos. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 56(1), 30-42.
- Organización Mundial de la Salud (OMS), (2022). Dengue y dengue grave [Documento en Línea]. Disponible: <https://www.who.int/es/news->

room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue#:~:text=aegypti%20se%20alimenta%20con%20frecuencia,entrar%20en%20contacto%20con%20agua [Consulta: enero 10, 2022]

- Pacheco, L., Rodríguez, M., Bisset, J., Leyva, Y., Gutiérrez, G., y Fuentes, I. (2013). Actividad incrementada de las enzimas citocromo P450 monooxigenasas en cepas cubanas de *Aedes aegypti* de referencia, resistentes a insecticidas. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 65(3).
- Pérez, E. y Molina de Fernández, D. (2009). Resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Díptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 49(1), 143-150.
- Pérez, J., (2006). Correlación de la Respuesta de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) al Insecticida Organofosforado Malatión con la Incidencia y la Mortalidad de Dengue en cinco estados de Venezuela: 1995. *Comunidad y Salud*, 4(1), 2-9.
- Rodríguez, R., (2002). Estrategias para el control de dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54,189-201.
- Santacoloma, L., Chaves, B., y Brochero, H. (2010). Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. *Revista Panam Salud Pública*, 27(1), 66-73.
- Saume, F. (1992). *Introducción a la química y toxicología de insecticidas*. Ed. Industria Gráfica Integral C.A. Maracay, Venezuela.
- Sojo, M., Pérez, L. y, Tesone, M., (2017). Conocimientos sobre la fiebre chikungunya en estudiantes del primer año de la carrera de Medicina de la Universidad de Carabobo sede Aragua, 2014. *Comunidad y Salud*, 15(2), 49-60.
- Torres, E., Torres, Y., Baldoquín, W., Rodríguez, M., Pérez, A. (2020). Estrategia de capacitación para el diagnóstico y manejo de arbovirosis en Cienfuegos. *Medisur*, 19(2), 228-235.
- WHO (1992). Present status of pesticide resistance. Thech. Rep. Ser. N° 818, WHO, Geneva, Switzerland. 2-17.
- Zoghbi, N., y López, Á. (2016). La llegada del virus Zika a Venezuela y su posible huella en la salud materna-infantil. Una discusión impostergable. *Comunidad y Salud*, 14(1), 67-73.

## ANEXOS

1. **Anexo A:** Hoja de registro para la recolección de los datos de las pruebas biológicas.

### FORMATO PARA RECOLECCION DE DATOS

Bioensayos en botellas para evaluación de insecticidas.

Números de mosquitos muertos por intervalos de tiempo.

Número \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ ensayo \_\_\_\_\_  
 Especie: \_\_\_\_\_

Insecticida: \_\_\_\_\_  
 Concentraciones: \_\_\_\_\_

Número de individuos por botella: \_\_\_\_\_ Localidad: \_\_\_\_\_

Temperatura: \_\_\_\_\_ Humedad relativa: \_\_\_\_\_ Código: \_\_\_\_\_  
 Operador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

C=		Tiempo de Exposición											
No de botella													
1													
2													
3													
4													
control													

C=		Tiempo de Exposición											
No de botella													
1													
2													
3													
4													
control													