

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

ESCUELA DE POSGRADO



TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS CON MENCIÓN EN PROTECCIÓN DE CULTIVOS

CARACTERIZACIÓN METABÓLICA DE LA RESISTENCIA DE *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) A LOS INSECTICIDAS DELTAMETRINA Y TEMEFOS EN TRUJILLO, PERÚ

Área de Investigación:

Control biológico de plagas

Autor:

Br. Sánchez Tamayo, Luis Alberto

Jurado Evaluador:

Presidente: Huanes Mariños, Milton Américo
Secretario: Barandiaran Gamarra, Miguel Angel
Vocal: Robles Pastor, Blanca Flor

Asesor:

Cabrera La Rosa, Juan Carlos
Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-8236-3352>

TRUJILLO – PERÚ 2023

Fecha de sustentación: 2023/01/06

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme a lo largo del camino de la vida, por nunca dejarme solo y darme las fuerzas necesarias para poder continuar logrando mis objetivos y levantarme cuando la vida te golpea y atraviesas momentos difíciles.

A mi familia, por estar conmigo siempre, en los buenos y malos momentos, por apoyarme en todo lo que hago, por ser mi soporte y mi mayor motivación para superarme día a día, son lo más importante de mi vida.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Juan Carlos Cabrera La Rosa, asesor de tesis y amigo, por todo su apoyo y guía en el proceso de elaboración y ejecución de la presente investigación. Gracias por todos sus consejos y sugerencias para poder culminar la maestría con éxito y continuar avanzando en mi desarrollo profesional.

A la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO) y la Escuela de Posgrado (EPG), por brindarme todas las facilidades, laboratorios y herramientas necesarias para el desarrollo de la presente investigación y por la exigencia académica y calidad humana que brindan en la casa superior de estudios.

Al Proyecto 112-2018-FONDECYT por el financiamiento brindado a la realización de la presente tesis.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el nivel de susceptibilidad de poblaciones naturales de *Aedes aegypti* al insecticida piretroide deltametrina y al organofosforado temefos, e identificar los mecanismos bioquímicos asociados con resistencia en estas poblaciones, las cuales se recolectaron de Bellavista, Buenos Aires, El Porvenir y Laredo, cuatro de las principales zonas de Trujillo donde este vector es un problema potencial de salud pública. En cada localidad se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, se examinaron recipientes capaces de contener agua, se recolectaron todas las lavas y pupas macroscópicamente relacionadas con esta especie. Se criaron generaciones F1 y F2 en condiciones controladas y con la generación F2 se realizaron bioensayos con papeles impregnados (metodología de la OMS) y la susceptibilidad se determinó por medio del método de las botellas impregnadas (propuesto por los Centros para el Control y la Prevención de enfermedades o CDC), para lo cual se estableció un grupo control (etanol absoluto) y dos grupos problema (deltametrina y temefos), además se utilizó una cepa de referencia (Rockefeller), con cinco repeticiones de 25 individuos cada una. Se evaluó el porcentaje de mortalidad de los individuos adultos de cada localidad y se realizó pruebas bioquímicas colorimétricas para detectar mecanismo de resistencia (F1) con la afinidad a las enzimas reactivas específicas como alfa (α) y beta (β) esterasas, GST (glutación-S-transferasas) y AChE (acetilcolinesterasa).

Palabras clave: resistencia, *Aedes aegypti*, deltametrina, temefos.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the level of susceptibility of natural populations of *Aedes aegypti* to the pyrethroid insecticide deltamethrin and the organophosphate temephos, and to identify the biochemical mechanisms associated with resistance in these populations, which were collected from Bellavista, Buenos Aires, El Porvenir, and Laredo, four of the main areas of Trujillo where this vector is a potential public health problem. In each locality, a non-probabilistic convenience sampling was carried out, containers capable of containing water were examined, and all the larvae and pupae macroscopically related to this species were collected. F1 and F2 generations were bred under controlled conditions and with the F2 generation bioassays were carried out with impregnated papers (WHO methodology) and susceptibility was determined by means of the impregnated bottle method (proposed by the Centers for Disease Control and Prevention) of diseases or CDC), for which a control group (absolute ethanol) and two problem groups (deltamethrin and temephos) were established, in addition a reference strain (Rockefeller) was used, with five repetitions of 25 individuals each. The percentage of mortality of the adult individuals of each locality was evaluated and colorimetric biochemical tests were carried out to detect the resistance mechanism (F1) with the affinity to specific reactive enzymes such as alpha (α) and beta (β) esterases, GST (glutathione -S-transferases) and AChE (acetylcholinesterase).

Key words: resistance, *Aedes aegypti*, deltamethrin, temephos.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
2.1. Planteamiento del problema.....	2
2.2. Marco Teórico.....	2
2.2.1. Características morfológicas de <i>Aedes aegypti</i>	4
2.2.2. Ciclo biológico.....	5
2.2.3. Ecología del adulto.....	5
2.2.4. Lugares de reproducción.....	6
2.2.5. El dengue.....	7
2.2.6. Síntomas.....	7
2.2.7. Modo de transmisión.....	7
2.2.8. Medidas preventivas.....	7
2.2.9. Conceptos técnicos.....	8
2.3. Justificación.....	11
2.4. Objetivos.....	12
2.4.1. Objetivo general.....	12
2.4.2. Objetivos específicos.....	12
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
3.1. Diseño del estudio.....	13

3.2. Población.....	13
3.3. Muestra.....	13
3.4. Operacionalización de variables.....	13
3.5. Procedimientos y Técnicas.....	14
3.5.1. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	14
3.5.2. Procedimientos.....	14
a. Área de estudio y colección del material biológico..	14
b. Crianza y mantenimiento de las poblaciones.....	15
c. Preparación de insecticidas a evaluar.....	15
d. Pruebas biológicas.....	15
e. Pruebas bioquímicas en larvas.....	15
3.6. Plan de análisis de datos.....	16
3.6.1. Análisis de bioensayos.....	16
3.6.2. Análisis de pruebas bioquímicas.....	17
3.7. Consideraciones éticas.....	18
4. RESULTADOS.....	19
5. DISCUSIÓN.....	29
6. CONCLUSIONES.....	31
7. RECOMENDACIONES.....	32
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
9. ANEXOS.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Listado de larvicidas evaluados por OMS para uso en agua potable.....	2
Tabla 2.	Listado de adulticidas evaluados por OMS para uso en nebulización para control de adultos.....	3
Tabla 3.	Rango de valores (%) y descripción de cada uno en relación al percentil 99 de Rock obtenido en el análisis bioquímico.....	19
Tabla 4.	Resumen de los percentiles 99 de Rock encontrados en cada localidad de estudio según enzimas utilizadas.....	25
Tabla 5.	Resumen del porcentaje de individuos de <i>Aedes aegypti</i> que superan el percentil 99 de Rock según localidad.....	26
Tabla 6.	Clasificación de las poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> de cada localidad muestreada en función a la enzima α -esterasa y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.....	27
Tabla 7.	Clasificación de las poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> de cada localidad muestreada en función a la enzima β -esterasas y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.....	27
Tabla 8.	Clasificación de las poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> de cada localidad muestreada en función a la enzima GST y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.....	28

Tabla 9. Clasificación de las poblaciones de <i>Aedes aegypti</i> de cada localidad muestreada en función a la enzima AChE y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.....	28
--	----

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, la reincorporación de *Aedes aegypti* fue descubierta en 1984 en Loreto, posteriormente se diseminó hacia localidades cercanas como San Martín y la selva central (Satipo y Chanchamayo). Hasta el 2017 se había hallado en 484 distritos y 22 regiones (MINSa, 2021).

Los reportes de casos de resistencia en individuos de la especie *Aedes aegypti* son muy frecuentes de encontrar, por la inmensa y constante presión de selección que se ha provocado con el uso indiscriminado de los insecticidas aplicados para el control de este insecto (Pérez, 2017).

En muchos lugares del mundo se realizan estudios de resistencia a determinados insecticidas y cuyos resultados determinan el nivel de adaptación de la especie, ciclos de vida corto y alta fecundidad de los insectos; además, debido a que es la principal razón que beneficia la propagación de muchas dolencias con alta morbilidad y mortalidad (dengue, Zika y chikungunya) (Morales, 2012), situación que también es apreciable en la región La Libertad que cuenta con una diversidad de ámbitos geográficos.

II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Planteamiento del problema

¿Cuál será el grado de susceptibilidad de *Aedes aegypti* y los mecanismos de resistencia metabólica a los insecticidas deltametrina y temefos?

2.2. Marco Teórico

Bisset *et-al.* (2007), comenta que los casos reportados de resistencia de la especie a determinados insecticidas son una limitante para los programas de control del vector y de todas las operaciones relacionadas a este objetivo, esta resistencia se produce principalmente por su corto ciclo biológico y su alta capacidad de reproducción.

En la Tabla 1 podemos observar los productos permitidos para el control de la plaga en estado de larva, además se detalla el tipo de formulación, la dosis de aplicación del ingrediente activo y el nivel de toxicidad. Actualmente en el país, se usa el producto Temefos (MINSA y DIGESA, 2015).

Tabla 1: Listado de larvicidas evaluados por OMS para aplicación en agua potable.

Insecticida	Formulación	Dosis de uso del ingrediente activo	Clasificación de toxicidad
Temefos	EC, GR	1 mg/litro	U
Metopreno	EC	1 mg/litro	U
Piriproxifen	GR	0.01 mg/litro	III
<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	WG	1 – 5 mg/litro	U

EC = Concentrado emulsionable; WG = Gránulos dispersable en agua; GR = Gránulos.
U = Toxicidad poco probable; III = Ligeramente peligroso.

Fuente: MINSA, 2010.

En la Tabla 2 podemos observar los productos permitidos para el control de la plaga en estado adulto. Las aplicaciones para control de adultos de *Aedes aegypti* se realizan en nebulización y se utilizan plaguicidas permitidos en la salud pública, cuya formulación más habitual es el concentrado emulsionable (EC, EW, ULV) (MINSA, 2010).

Tabla 2: Listado de aduicidas detallados por la OMS para su empleo en nebulización para control de adultos.

Insecticida	Químico	Dosis de uso del ingrediente activo (g/ha)		Clasificación de toxicidad
		Nebulización en frío	Nebulización en caliente	
Fenitrotion	OP	250-300	250-300	II
Malation	OP	112-600	500-600	III
Pirimifos metil	OP	230-330	180-200	III
Bioresmetrin	Pyr	5	10	U
Cyflutrina	Pyr	1-2	1-2	II
Cipermetrina	Pyr	1-3	-	II
Cifenoctrina	Pyr	2-5	5-10	II
Deltametrina	Pyr	0.5-1	0.5-1	II
Etofenprox	Pyr	10-20	10-20	U
Lambdacialotrina	Pyr	1	1	II
Permetrina	Pyr	5	10	II
Resmetrina	Pyr	2-4	4	III

OP = Organofosforado; Pyr = Piretroide.

U = Toxicidad poco probable; II = Moderadamente peligroso; III = Ligeramente peligroso

Fuente: MINSA, 2010.

Los insecticidas químicos son muy efectivos en el control, pero al ser empleados en las últimas décadas e indiscriminadamente puede inducir efectos en el ciclo biológico del *Aedes aegypti*, ocasionando modificaciones en su comportamiento y en sus funciones vitales, y como consecuencia la aparición de resistencia a estos plaguicidas (Mogollon, 2020).

La resistencia es una de las desventajas en el uso de los plaguicidas, ya que representan una fuerte presión de selección en el insecto foco y otros que comparten similares mecanismos metabólicos. Un tipo de resistencia es la metabólica, donde se presentan cambios fisiológicos y bioquímicos, impidiendo que el ingrediente activo alcance su sitio de acción (García *et al.*, 2017).

A nivel mundial los reportes más frecuentes de resistencia de *Aedes aegypti* son a los insecticidas del grupo de los organofosforados y de los piretroides; sin embargo, no se tiene un trabajo específico reciente en el Perú.

2.2.1. Características morfológicas de *Aedes aegypti*

Según Cabezas (2005), esta especie presenta un tamaño pequeño a mediano y generalmente es de color oscuro; además, presenta una especie de escamas de color plata y líneas en todo el cuerpo, abdomen y tórax, muy semejantes a una lira y las antenas son del tipo filiforme. En las articulaciones presenta anillos muy marcados y claros.

2.2.2. Ciclo biológico

Esta especie presenta los estadios principales de huevo, estadios larvales, pupa y la forma adulta. Periodo de incubación de 5 a 15 días (Quispe, 2015). Según Puertas (2021), los esfuerzos en el control de este insecto deben estar dirigidos a los estadios de huevo, larvas y pupas; debido a que, estos tres se desarrollan en superficies que contengan agua.

2.2.3. Ecología del adulto (Cabezas, 2005).

- **Emergencia.** En esta etapa el insecto sale de la pupa y luego se coloca por algunas horas en las paredes del envase o superficie que lo contiene hasta que sus alas estén aptas para el vuelo; así como el exoesqueleto.

- **Apareamiento.** La unión del macho con la hembra puede ocurrir un día después de la emergencia y esto se produce cuando la hembra emite sonidos durante el vuelo los cuales son detectados por el macho.

- **Alimentación.** El alimento principal de los insectos adultos de esta especie es la sangre de los seres humanos, estos insectos vuelan atraídos por los olores naturales del cuerpo humano y la sangre sirve de alimento para que los huevos se desarrollen de manera óptima.

- **Ciclo gonadotrófico.** Este ciclo se refiere al desarrollo del huevo, que va de 2 a 3 días, la hembra llega a poner de 100 a 200 huevos cuando se alimenta con 2 a 3 mg de sangre humana. La hembra realiza la oviposición en lugares oscuros sobre superficies acuáticas limpias.

- **Rango de vuelo.** La hembra tiene mayor capacidad de vuelo que el macho, la cual puede llegar a recorrer hasta 3 km para realizar una oviposición en lugares óptimos. Lo habitual es que la hembra recorra de 50 a 100 m a lo largo de toda su vida adulta, ya sea en el mismo lugar donde emergió o en otro.
- **Conducta de reposo.** Los momentos de reposo los realizan en lugares alejados de la luz del sol, usualmente en ambientes internos de una casa o edificio y pueden ser capturados con precaución.
- **Longevidad.** El tiempo de vida de los insectos adultos es muy variable, en la naturaleza viven menos, solo algunas semanas, y en condiciones de laboratorio su vida se alarga a varios meses. En condiciones naturales la mortalidad llega hasta más del 50% en una semana o un 10% cada día, llegando a más del 90% en las cuatro primeras semanas.

2.2.4. Lugares de reproducción

Son muy variados, el principal requisito para la oviposición es la presencia de agua en el recipiente, cuando eso se cumple, la hembra oviposita al nivel de la superficie del agua; además, el lugar tiene que ser sin luz solar, es decir oscuro. En el caso de la costa, donde generalmente no llueve, los lugares de reproducción son diversos estanques o recipientes de agua y en el caso de la selva, donde las lluvias son frecuentes, son los envases u objetos desechados donde cae la lluvia (Cabezas, 2005).

2.2.5. El dengue

Según DIGESA (2010), el adulto de *Aedes aegypti* es el vector responsable de la transmisión del virus que ocasiona la enfermedad infecciosa conocida comúnmente como dengue.

2.2.6. Síntomas

De acuerdo a Aquinaga (2021), se presentan diversos síntomas entre los cuales destacan los siguientes: fiebre elevada de 38°C a más, acompañada de dolor de cabeza, detrás de los ojos, en articulaciones, en músculos y también en huesos y en la zona abdominal. Además, existe presencia de sarpullido o erupciones en la piel, incluso llegando a producirse hemorragias leves.

2.2.7. Modo de transmisión

El insecto adulto de *Aedes aegypti* al realizar diversas picaduras de alimentación, en alguna de ellas se alimenta de la sangre de una persona enferma y posteriormente continúa con sus picaduras en personas sanas incorporando el virus en esas personas (Tuñoque, 2019).

2.2.8. Medidas preventivas

Según DIGESA (2010), debemos considerar las siguientes medidas preventivas para evitar contagios de este virus:

- Eliminar a los insectos presentes en el hogar y cortar el ciclo de reproducción con diversos tratamientos en los recipientes que se tengan disponibles para almacenar agua.

- Reconocer los potenciales lugares donde los insectos adultos pueden ovipositar los huevos y establecer criaderos, en el caso de los hogares los más comunes son los tanques de agua, recipientes, bidones, baldes y objetos con forma de contenedor.
- Realizar el lavado y desinfección de los recipientes donde se acumula agua, cada 3 a 4 días, con énfasis en el cepillado de las paredes internas del recipiente para eliminar los huevos presentes en esos lugares.
- No utilizar recipientes con agua para colocar flores, en vez de usar agua, cambiar por arena mojada o flores artificiales y si no es posible eso, entonces lavar y desinfectar los recipientes cada 3 o 4 días.
- Permitir el ingreso al personal de salud para que realiza las observaciones y los controles necesarios en los lugares donde exista presencia de los insectos adultos o zancudos; además de conservar las bolsas de abate que dicho personal coloque en los recipientes, esto con la finalidad de cortar el ciclo biológico.
- Conservar los envases vacíos secos, limpios y desinfectados, lejos de la intemperie donde puede llover.
- Separar todos los envases y recipientes que no se utilicen y que tengan formas curvas que puedan acumular agua.

2.2.9. Conceptos técnicos

- **Resistencia.** De acuerdo a lo que comenta el IRAC (2022), el término resistencia está relacionada directamente con la pérdida o disminución de la sensibilidad de un individuo, en este caso un insecto plaga, hacia

un determinado ingrediente activo utilizado para su control según las recomendaciones técnicas del fabricante, es decir que las dosis utilizadas ya no funcionan como al inicio.

- **Resistencia metabólica.** Este tipo de resistencia ocurre cuando existen altos niveles de actividad de enzimas lo cual conlleva a reducir la dosis eficaz de un ingrediente activo logrando que no llegue al lugar de acción. Esta resistencia se basa en enzimas detoxificantes y está relacionada con oxidasas de función mixta u OFM, esterasas y transferasas (Conde, 2012).

- **Deltametrina.** Ingrediente activo perteneciente al grupo químico de los Piretroides, de actividad sistémica y considerado moderadamente peligroso. Dentro de estos, los cianopiretroides son muy selectivos y también tóxicos en mamíferos; no obstante, esta toxicidad es 5 mil veces mayor para los insectos plaga, debido a esto se puede usar dosis muy bajas sin riesgo para los mamíferos (Palomino *et al.*, 2007).

- **Temefos.** Ingrediente activo perteneciente al grupo químico de los organofosforados que actúa en las zonas sinápticas mediante fosforilación e inhibición de la acetilcolinesterasa. No tienen efecto sobre el estadio de pupa; sin embargo, en los primeros estadios larvales se muestra su mayor eficacia (Pérez, 2017).

- **Esterasas.** Son hidrolasas cuyo sitio de acción son los enlaces tipo éster. Las esterasas se definen como un grupo de enzimas o familia de enzimas con una gran variedad de sustratos, gracias a esto se puede extender su potencial hidrolítico hacia diversos compuestos que presenten enlaces tipo éster (Calero, 2006).

- **GST.** También llamada glutatión-S-transferasa. Es un grupo de enzimas que aceleran la conjugación del glutatión endógeno a una diversidad de compuestos electrofílicos. A su vez, protegen las macromoléculas biológicas como las proteínas y también los ácidos nucleicos de los efectos tóxicos de una reacción covalente con el ingrediente activo utilizado. La GST está relacionada con la resistencia a moléculas del grupo químico de los organofosforados (Díaz *et al.*, 2004).

- **AChE.** Comúnmente llamada acetilcolinesterasa. Está relacionada con la hidrólisis de acetilcolina, con modificaciones en cantidad y calidad en la enzima y con cambios específicos acompañadas de variaciones en los parámetros cinéticos de la mencionada hidrólisis. Tales cambios implican reemplazos de aminoácidos en el lugar de acción de las enzimas. Las variaciones de las AChE en grupos de insectos con resistencia a insecticidas del grupo químico de los carbamatos y los organofosforados producen como efecto una reducción de la sensibilidad de la enzima a la inhibición ocasionada por la acción tóxica de estos ingredientes activos (Conde, 2012).

2.3. Justificación

En el año 1956 se logró extinguir al insecto *Aedes aegypti*; sin embargo, este pudo ingresar nuevamente en el año 1984 trayendo consigo al dengue. Esta enfermedad tuvo su periodo más difícil y contagioso en 1990 con el llamado dengue clásico, el cual se manifestaba gracias al serotipo 1 del virus dengue y ocasionó muchas complicaciones en la selva peruana. Desde aquella época, se ha expandido a nivel nacional con mayor presencia en la zona costera y selvática del país. En los últimos años se ha diversificado los 4 serotipos del virus, con presencia de casos de dengue del tipo hemorrágico (More *et al.*, 2018).

En nuestro país, el número de casos de dengue en el año 2020 fue de 47,933, siendo las regiones de Ucayali, Loreto e Ica las más afectadas (MINSA, 2021). *Aedes aegypti* es transmisor de las enfermedades por virus Zika (ZIKV), Dengue (DENV) y también Chikungunya (CHIKV), estos pertenecen al grupo de los arbovirosis (Gómez, 2018).

La distribución de estas enfermedades es a nivel global y una de las causas de su incremento a través del tiempo, es el incremento de resistencia a los diversos insecticidas (Ventocilla, 2020).

2.4. Objetivos

2.4.1 Objetivo General

- Evaluar el estado de la resistencia a insecticidas en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* de los distritos de El Porvenir y Laredo de la provincia de Trujillo.

2.4.2 Objetivos Específicos

- Identificar los mecanismos bioquímicos responsables de la resistencia a la deltametrina y al temefos, a través de la ejecución de ensayos bioquímicos para detectar las actividades enzimáticas de α -esterasas, β -esterasas, GST y AChE) asociados a los insecticidas en estudio.
- Determinar la viabilidad del uso de los insecticidas deltametrina y temefos dentro de manejo integrado de vectores en los programas de salud pública en función al porcentaje de mortalidad y el estado de la resistencia.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño del estudio

La presente investigación estudió tres tratamientos, conformados por los insecticidas deltametrina, temefos y un tratamiento control con las cepas de referencia Rockefeller con cinco repeticiones por cada tratamiento. El número de individuos utilizados para cada repetición fue de 25.

3.2. Población

La población experimental estuvo conformada por pupas y huevos de *Aedes aegypti* recolectadas de las localidades de Buenavista, Buenos Aires, El Porvenir y Laredo.

3.3. Muestra

En cada localidad se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia de 100 individuos de *Aedes aegypti*, entre pupas y huevos.

3.4. Operacionalización de variables

Se evaluaron las siguientes variables y se obtuvieron datos para su procesamiento y análisis:

- Estado de la susceptibilidad: se realizaron pruebas biológicas con la metodología OMS y CDC en larvas y adultos de *Aedes aegypti* respetivamente para estimar el nivel de resistencia.
- Expresión de los mecanismos de resistencia: se desarrollaron pruebas bioquímicas para la identificación de los mecanismos de resistencia en las poblaciones naturales de *Aedes aegypti*.

3.5. Procedimientos y Técnicas

3.5.1. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los datos se registraron antes, durante y después de la realización de la presente investigación, mediante el análisis de bibliografía relacionada al tema y la observación minuciosa y estructurada del proceso, tomando en cuenta los parámetros a evaluar en cada etapa de la metodología propuesta.

3.5.2. Procedimientos

La ejecución del proyecto de investigación se realizó de la siguiente manera:

- a. Área de estudio y colección del material biológico:** se colectó individuos de *Aedes aegypti* de las localidades de Buenavista, Buenos Aires, El Porvenir y Laredo, pertenecientes a la ciudad de Trujillo.

- b. Crianza y mantenimiento de las poblaciones:** se realizó la crianza de los individuos naturales hasta obtener individuos F1 y F2. Además, del mantenimiento de la cepa de referencia Rockefeller.
- c. Preparación de insecticidas a evaluar:** se utilizó soluciones de los insecticidas deltametrina y temefos de grado técnico diluidos en acetona.
- d. Pruebas biológicas:** se ejecutaron pruebas biológicas con la metodología de papeles impregnados de la OMS y botellas impregnadas de la CDC en larvas y adultos F2 de *Aedes aegypti*, respectivamente, y se determinó el grado de resistencia.
- e. Pruebas bioquímicas en larvas:** se realizó la identificación de los mecanismos de resistencia con larvas de tercer y cuarto estadio en las poblaciones que tuvieron grados de resistencia (GR) >5. Se congelaron y almacenaron 30 larvas por cada localidad a -70 °C hasta realizar las pruebas. La actividad enzimática de las α -esterasas, β -esterasas, GST y AChE se evaluaron de acuerdo al procedimiento de Brogdon (1984 a,b), Brogdon *et al.* (1997) y Hemingway (1998). Se homogenizó cada larva en 100 μ L de buffer de fosfato de potasio (KPO₄) (6,6 gr de fosfato de potasio dibásico/1,7 gr de fosfato monobásico/100 ml de agua destilada (dH₂O) pH 7,2) completando el homogenizado a 1 ml con el mismo buffer.

La cantidad de 100 µL de homogenizado se examinó 3 veces para cada larva y se puso en tres pozos en una microplaca de 96 pozos con fondo plano. Se realizó la medición de las absorbancias mediante espectrofotometría con ayuda de un lector de microplacas, para cada enzima se utilizó una longitud de onda determinada. La cepa de referencia se utilizó como grupo susceptible en todas las pruebas realizadas. Los reactivos químicos y sustratos empleados en las pruebas bioquímicas fueron, en su mayoría, suministrados por el laboratorio.

3.6. Plan de análisis de datos

3.6.1. Análisis de bioensayos

Se utilizó la fórmula de Abbot (1987) modificada para realizar las correcciones de los bioensayos de larvas y adultos cuando la mortalidad en el control negativo se encuentre en el rango de 5 y 20%.

$$\frac{\% \text{ mortalidad de la prueba} - \% \text{ mortalidad del control}}{100 - \% \text{ mortalidad del control}} \times 100$$

De acuerdo a los procesos de la WHO (1981), se determinó el estado de resistencia/susceptibilidad, los cuales mencionan que mortalidades mayores de 98% y menores de 80% son indicadores de susceptibilidad y resistencia respectivamente. Los niveles de mortalidad intermedia sugieren susceptibilidad alterada que merece una vigilancia especial a esa población de individuos.

En los bioensayos con larvas se hallaron las dosis letales 50 y 90 (DL50 y DL90) con los insecticidas deltametrina y temephos utilizando la regresión dosis-mortalidad usando el análisis de regresión Probit (SPSS, 26.0). Se obtuvieron los grados de resistencia (GR) para los insecticidas en mención luego de calcular las dosis letales para cada población y por comparación con la línea de regresión de la cepa susceptible de referencia Rockefeller. En relación al análisis de los grados de resistencia se utilizó el criterio de Mazzarri y Georghiou (1995), quienes sugieren que los grados de resistencia pueden ser clasificados en altos (>10) medios (entre 5 y 10) y bajos (<5).

Se utilizó Microsoft Excel 2022 para graficar los datos de los bioensayos con adultos: el tiempo vs el porcentaje de mortalidad. Todos los individuos sobrevivientes al tiempo y dosis diagnóstico de cada ingrediente activo, establecidos con la cepa de referencia Rockefeller, se consideraron resistentes (Brogdon y McAllister, 1998).

3.6.2. Análisis de pruebas bioquímicas

Se determinó la absorbancia media, la desviación estándar y el coeficiente de variación en el análisis bioquímico con base a los datos de las repeticiones de los pozos de cada larva. Se descartaron las repeticiones con un coeficiente de variación mayor a 0,15 para prevenir discrepancias ocasionadas por error manual. Se restó el promedio de las absorbancias del control negativo del valor de cada larva por cada enzima para suprimir así la reacción de base.

Para hallar las desigualdades en los niveles enzimáticos en cada población, luego de un ensayo de normalidad, se comparó los perfiles de actividad enzimática con pruebas de Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor el cual determinó si presentan diferencias significativas entre las medias de las absorbancias de las poblaciones en estudio.

Con el uso del Diagrama de Caja y Bigotes, se graficó las diferencias de los valores de las medianas hallados de las absorbancias corregidas para la actividad enzimática (α – esterasas, β – esterasas, GTS y AChE) de cepas de *Aedes aegypti* procedentes de Buenavista, Buenos Aires, El Porvenir y Laredo, confrontados con la cepa susceptible Rockefeller.

3.7. Consideraciones éticas

No se aplican en la presente investigación.

IV. RESULTADOS

Se consideró el siguiente rango de valores con su respectiva descripción para los datos obtenidos en los análisis bioquímicos en larvas y adultos de las localidades de Bellavista, Laredo, Buenos Aires y El Porvenir.

Tabla 3: Rango de valores (%) y descripción de cada uno en relación al percentil 99 de Rock obtenido en el análisis bioquímico.

Rango de valores (%)	Descripción
0.0 a 15.0	Inalterada
15.1 a 50.0	Alterada
50.1 a más	Altamente Alterada

1. Análisis bioquímico completo de larvas F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Bellavista.

1.1. Análisis con α -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.029160475

El 25% de larvas de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Alterada.

1.2. Análisis con β -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.01569521

El 10.5% de larvas de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

1.3. Análisis con GST

El percentil 99 de Rock fue de 0.07687801

El 60% de larvas de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

1.4. Análisis con %AChE inhibida

El percentil 99 de Rock fue de 27.4186937

El 85% de larvas de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

2. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Bellavista.

2.1. Análisis con α -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0523

El 20% de adultos de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Alterada.

2.2. Análisis con β -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0419

El 5% de adultos de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

2.3. Análisis con GST

El percentil 99 de Rock fue de 0.0603

El 15% de adultos de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

2.4. Análisis con %AChE inhibida

El percentil 99 de Rock fue de 45.9524

El 100% de adultos de *Aedes aegypti* de Bellavista superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

3. Análisis bioquímico completo de larvas F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Laredo.

3.1. Análisis con α -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.02916048

El 0% de larvas de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población lterada.

3.2. Análisis con β -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.01569521

El 0% de larvas de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

3.3. Análisis con GST

El percentil 99 de Rock fue de 0.07687801

El 90% de larvas de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

3.4. Análisis con %AChE inhibida

El percentil 99 de Rock fue de 27.4186937

El 95% de larvas de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

4. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Laredo.

4.1. Análisis con α -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0523

El 7.7% de adultos de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

4.2. Análisis con β -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0419

El 0% de adultos de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

4.3. Análisis con GST

El percentil 99 de Rock fue de 0.06033915

El 0% de adultos de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

4.4. Análisis con %AChE inhibida

El percentil 99 de Rock fue de 45.9524

El 100% de adultos de *Aedes aegypti* de Laredo superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

5. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Buenos Aires.

5.1. Análisis con α -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0523

El 0% de adultos de *Aedes aegypti* de Buenos Aires superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

5.2. Análisis con β -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0419

El 5% de adultos de *Aedes aegypti* de Buenos Aires superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

5.3. Análisis con GST

El percentil 99 de Rock fue de 0.0603

El 95% de adultos de *Aedes aegypti* de Buenos Aires superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

5.4. Análisis con %AChE inhibida

El percentil 99 de Rock fue de 45.952381

El 95% de adultos de *Aedes aegypti* de Buenos Aires superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

6. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de El Porvenir.

6.1. Análisis con α -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0523

El 79.2% de adultos de *Aedes aegypti* de El Porvenir superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

6.2. Análisis con β -esterasas

El percentil 99 de Rock fue de 0.0419

El 20.8% de adultos de *Aedes aegypti* de El Porvenir superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Alterada.

6.3. Análisis con GST

El percentil 99 de Rock fue de 0.0603

El 0% de adultos de *Aedes aegypti* de El Porvenir superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Inalterada.

6.4. Análisis con %AChE inhibida

El percentil 99 de Rock fue de 45.9524

El 91.7% de adultos de *Aedes aegypti* de El Porvenir superan el percentil 99 de Rock, por lo que se considera una población Altamente Alterada.

En la Tabla 4, se presentan los percentiles 99 de la cepa de Rock hallados por estadios larvales y/o adultos de *Aedes aegypti* en cada localidad muestreada en función a las enzimas empleadas para el estudio, las cuales fueron α -esterasas, β -esterasas, GST y AChE. Para las localidades de Bellavista y Laredo se estudiaron adultos y larvas de *Aedes aegypti*; en cambio, para las zonas de Buenos Aires y El Porvenir solo se estudiaron adultos.

Tabla 4: Resumen de los percentiles 99 de Rock encontrados en cada localidad de estudio según enzimas utilizadas.

Localidad	Muestra	α -esterasas	β -esterasas	GST	AChE
Bellavista	Adultos	0.0523	0.0419	0.0603	45.9524
Bellavista	Larvas	0.0292	0.0157	0.0769	27.4187
Buenos Aires	Adultos	0.0523	0.0419	0.0603	45.9524
Laredo	Adultos	0.0523	0.0419	0.0603	45.9524
Laredo	Larvas	0.0292	0.0157	0.0769	27.4187
El Porvenir	Adultos	0.0523	0.0419	0.0603	45.9524

En la Tabla 5, se detalla los porcentajes de individuos de cada localidad estudiada que superan a sus respectivos percentiles 99 de Rock detallados en la Tabla 4. Cada uno de estos datos porcentuales se relacionaron con la Tabla 3, ubicando el rango de valor o nivel específico para cada una. En el caso de las α -esterasas y β -esterasas están estrechamente relacionadas con la resistencia a los insecticidas organofosforados, en este caso el temefos; respecto a la GST, está relacionada con los piretroides como la deltametrina y la AChE también a los organofosforados.

Tabla 5: Resumen del porcentaje de individuos de *Aedes aegypti* que superan el percentil 99 de Rock según localidad.

Localidad	Muestra	α -esterasas	β -esterasas	GST	AChE
Bellavista	Adultos	20	5	15	100
Bellavista	Larvas	25	10.5	60	85
Buenos Aires	Adultos	0	5	95	95
Laredo	Adultos	7.7	0	0	100
Laredo	Larvas	0	0	90	95
El Porvenir	Adultos	79.2	20.8	0	91.7

En la Tabla 6, destaca la población de adultos de la localidad de El Porvenir clasificada como población altamente alterada con un 79.2% de individuos que superaron el percentil 99 de Rock en la enzima α -esterasa, las demás poblaciones de individuos se consideraron inalteradas o alteradas ligeramente.

Tabla 6: Clasificación de las poblaciones de *Aedes aegypti* de cada localidad muestreada en función a la enzima α -esterasa y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.

Localidad	Muestra	α -esterasas	Descripción de la población
Bellavista	Adultos	20	Población alterada
Bellavista	Larvas	25	Población alterada
Buenos Aires	Adultos	0	Población inalterada
Laredo	Adultos	7.7	Población inalterada
Laredo	Larvas	0	Población inalterada
El Porvenir	Adultos	79.2	Población altamente alterada

En la Tabla 7, se destaca la presencia de la mayoría de poblaciones en condición de inalteradas en relación a la enzima β -esterasa, a excepción de la población de adultos de la localidad de El Porvenir, la cual se consideró como población alterada al obtener 20.8% de individuos que superaron al percentil 99 de Rock.

Tabla 7: Clasificación de las poblaciones de *Aedes aegypti* de cada localidad muestreada en función a la enzima β -esterasas y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.

Localidad	Muestra	β-esterasas	Descripción de la población
Bellavista	Adultos	5	Población inalterada
Bellavista	Larvas	10.5	Población inalterada
Buenos Aires	Adultos	5	Población inalterada
Laredo	Adultos	0	Población inalterada
Laredo	Larvas	0	Población inalterada
El Porvenir	Adultos	20.8	Población alterada

En la Tabla 8, se detalla tres localidades cuyas poblaciones fueron consideradas como inalteradas (adultos de Bellavista, Laredo y El Porvenir) y las tres poblaciones restantes se clasificaron como altamente alteradas (larvas de Bellavista y Laredo y adultos de Buenos Aires). Estos resultados fueron en relación a la enzima GST y al porcentaje de individuos que superaron el percentil 99 de Rock para cada localidad en estudio.

Tabla 8: Clasificación de las poblaciones de *Aedes aegypti* de cada localidad muestreada en función a la enzima GST y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.

Localidad	Muestra	GST	Descripción de la población
Bellavista	Adultos	15	Población inalterada
Bellavista	Larvas	60	Población altamente alterada
Buenos Aires	Adultos	95	Población altamente alterada
Laredo	Adultos	0	Población inalterada
Laredo	Larvas	90	Población altamente alterada
El Porvenir	Adultos	0	Población inalterada

En la Tabla 9, se consideraron a todas las poblaciones de *Aedes aegypti* de las distintas localidades como altamente alteradas, debido a que todas superaron el 50% de individuos que superaron el percentil 99 de Rock para la enzima AChE.

Tabla 9: Clasificación de las poblaciones de *Aedes aegypti* de cada localidad muestreada en función a la enzima AChE y a su porcentaje de individuos que superan el percentil 99 de Rock.

Localidad	Muestra	AChE	Descripción de la población
Bellavista	Adultos	100	Población altamente alterada
Bellavista	Larvas	85	Población altamente alterada
Buenos Aires	Adultos	95	Población altamente alterada
Laredo	Adultos	100	Población altamente alterada
Laredo	Larvas	95	Población altamente alterada
El Porvenir	Adultos	91.7	Población altamente alterada

V. DISCUSIÓN

Guzmán (2013), estudió la susceptibilidad de poblaciones naturales de *Aedes aegypti* colectadas de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura) al insecticida lambdacialotrina y patrones de esterases, para lo cual realizó la colecta, crianza y reproducción de individuos de esta especie. La susceptibilidad fue evaluada mediante el método de las botellas impregnadas del CDC, con un grupo control de etanol, un grupo problema del insecticida y una cepa de referencia Rockefeller. El investigador utilizó cuatro repeticiones con veinte individuos por cada repetición. Las esterases fueron sometidas a los sustratos alfa y beta naftil acetato y resultó un porcentaje de mortalidad elevado para las poblaciones de Laredo y Sullana; por ende, concluyó que las poblaciones son susceptibles al insecticida utilizado.

Santacoloma *et al.* (2010), examinó el nivel de susceptibilidad de 13 poblaciones de *Aedes aegypti* a deltametrina, lambdacialotrina y DDR, además determinó el tipo de resistencia involucrada. Realizó recolección y crianza de estadios inmaduros hasta obtener la F2, con la cual realizó la metodología de papeles y botellas impregnadas. Además, realizó pruebas colorimétricas y evaluó los niveles de esterases no específicas (ENE), oxidasas de función mixta (OFM) y acetilcolinesterasa modificada (ACEM). Se encontró que todas las poblaciones fueron resistentes al DDT y resistencia generalizada a lambdacialotrina; sin embargo, no a deltametrina. Los mecanismos de resistencia investigados hicieron posible encontrar 7 de 11 poblaciones con ENE elevadas y una población con OFM prominente.

Calderón (2018), investigó el nivel de resistencia y los mecanismos de detoxificación enzimática de tres cepas de *Aedes aegypti* a temefos, deltametrina y cipermetrina. Realizó bioensayos con niveles de concentración letal del 50% o CL₅₀ y un tratamiento control con la cepa Rockefeller. Se encontró que ninguna cepa es resistente a temefos, dos cepas fueron resistentes a deltametrina de las localidades de Barranca y Jacó. Y, la cepa de Quepos no resultó resistente a ningún insecticida piretroide. El autor concluyó que las larvas de *Aedes aegypti* de las tres localidades no son resistentes a temefos.

Ardila-Roldán *et al.* (2013), determinó el nivel de sensibilidad de poblaciones de *Aedes aegypti* a DDT, lambdacialotrina y permetrina. La F1 fue usada para el estudio de los mecanismos bioquímicos relacionados con las beta-esterasas inespecíficas y las enzimas mono oxigenasas del citocromo P450. Con la F2 estudió la sensibilidad mediante bioensayos con la metodología de CDC y la técnica para larvas de la OMS. Encontró que todas las poblaciones fueron resistentes a los tres insecticidas y las enzimas P450 podrían tener un papel importante en la resistencia a los piretroides y al DDT.

VI. CONCLUSIONES

La población de adultos de la localidad de El Porvenir es considerada altamente alterada o resistente al insecticida Temefos, considerando las pruebas bioquímicas con la enzima α -esterasa. Las poblaciones de larvas y adultos de Bellavista, larvas y adultos de Laredo y adultos de Buenos Aires son consideradas susceptibles o medianamente susceptibles al insecticida en mención.

Las tres poblaciones de larvas de Bellavista y Laredo y adultos de Buenos Aires son altamente alteradas o resistentes al insecticida Deltametrina. Estos resultados fueron en el análisis con la enzima GST. Las poblaciones de adultos de Bellavista, Laredo y El Porvenir son consideradas susceptibles a la Deltametrina.

VII. RECOMENDACIONES

Se sugiere realizar investigaciones periódicas en las mismas localidades evaluadas en la presente tesis e incluir otros sectores potencialmente vulnerables para determinar la susceptibilidad y/o resistencia de las poblaciones a los insecticidas utilizados en ese momento.

Se recomienda estudiar e implementar otras técnicas alternativas y complementarias al control químico, como el control social y el control biológico. El primero, mediante programas de concientización y prevención a la población objetivo; y el segundo, a través del uso de agentes de control biológico como copépodos, peces o bacterias.

Implementar y promover un Programa de Manejo Integrado de Vectores que se base en el monitoreo y el control de los estadios larvales y adultos machos y hembras de *Aedes aegypti* en las localidades vulnerables mediante diversas técnicas con eficacia comprobada previamente.

Estructurar un programa eficaz de control químico de vectores con énfasis en el manejo de la resistencia de ingredientes activos mediante la rotación de modos de acción y el estudio de la reversión de la resistencia de las poblaciones locales a los ingredientes activos con resistencia confirmada.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbot, A. (1987). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 3:302–303.
- Aguinaga, J. (2021). Factores de asociación que predisponen a contraer dengue en el distrito Pucalá, Lambayeque. Tesis para optar el título profesional de Segunda Especialidad Profesional en Epidemiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Ardila-Roldán, S.; Santacoloma, L. y Brochero, H. (2013). Estado de la sensibilidad a los insecticidas de uso en salud pública en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del departamento de Casanare, Colombia. *Biomédica*, 33(3), 446-58.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i3.1534>
- Bisset, J.; Rodríguez, M.; Fernández, D. y Palomino, M. (2007). Resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de 2 provincias del Perú. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 59(3)
Recuperado en 02 de mayo de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602007000300004&lng=es&tlng=es.
- Brogdon, W. (1984a). Mosquito protein microassay I. Protein determinations from small portions of single mosquito homogenates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 79B: 457– 459.

- Brogdon, W. (1984b). Mosquito protein microassay. II. Modification for potential use. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 79B: 461–464.

- Brogdon, W.; Mcallister, J. y Vulule, J. (1997). Heme peroxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing the elevated oxidase mechanism for insecticide resistance. *Journal of American Mosquito Control Association* 1997, 13: 233–237.

- Brogdon, W. y McAllister, J. (1998). Insecticide Resistance and Vector Control. *Emerging Infectious Diseases*. 4:605 – 613.

- Cabezas, C. (2005). Dengue en el Perú: Aportes para su diagnóstico y control. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 22(3), 212-228. Recuperado en 02 de mayo de 2022, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342005000300009&lng=es&tlng=es.

- Calderón, O.; Vargas, K. y Troyo, A. (2018). Resistencia a insecticidas en cepas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de tres distritos de la Región Pacífico Central de Costa Rica. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, Vol. 70, N° 3.

- Calero, O. (2006). Caracterización bioquímica y molecular de una esterasa fúngica. Aplicación en la industria papelera. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.

- Conde, A. (2012). Caracterización del Nivel de Resistencia y Mecanismos a Insecticidas en Larvas y Adultos de *Aedes (Stegomyia) aegypti*, Linnaeus 1762, en los Municipios de Victoria, Viterbo, Marquetalia y La Dorada, Departamento de Caldas. Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: Magíster en Infecciones y Salud en el Trópico. Facultad de Medicina, Departamento de Salud Pública. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C., Colombia.

- Díaz, C.; Rodríguez, M.; Fresneda, M. & Bisset, J. (2004). Determinación de la actividad glutatión-S-transferasa en cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros países de América Latina. Revista Cubana de Medicina Tropical, 56(2), 111-116. Recuperado en 03 de mayo de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602004000200005&lng=es&tlng=es.

- DIGESA (2010). El Dengue. Consultado el 02 de mayo de 2022. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/material_educativo/dengue.asp

- García-Rojas J.; Robles-Bermúdez A.; Cambero-Campos, O.; Carvajal-Cazola C. y Peña-Sandoval G. (2017). Resistencia metabólica a insecticidas. Revista Bio Ciencias 4(6), Article ID 04.06.01

- Gómez, G. (2018). *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) y su importancia en salud humana. Revista Cubana de Medicina Tropical, 70(1), 55-70. Recuperado en 02 de mayo de 2022, de

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602018000100007&lng=es&tlng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602018000100007&lng=es&tlng=es)

- Guzmán, J. (2013). Susceptibilidad al lambda cialotrina y patrones de esterases en poblaciones naturales de *Aedes aegypti* de los distritos de Laredo (La Libertad) y Sullana (Piura). Tesis para optar el título de Biólogo – Microbiólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Hemingway, J. (1998). Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (Field and Laboratory Manual) WHO/CDC/CPC/MAL/98.6. World Health Organization, Geneva.
- IRAC (2022). Folleto de clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas. 6ª edición de IRAC Internacional. Consultado el 03 de mayo de 2022. Disponible en file:///C:/Users/Jes%C3%BAs%20Tello%20Ch%C3%A1vez/Downloads/FOLLETO-Clasificacio%CC%81n-MdA-de-insecticidas-y-acaricidas_2022.pdf
- Mazarri, M. y Georghiou, G. (1995). Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. J Am Mosq Control Assoc. 11:315-322.

- MINSA (2010). Norma técnica de salud para la implementación de la vigilancia y control del *Aedes aegypti*, vector del dengue en el territorio Nacional. Dirección General de Salud Ambiental. Lima, Perú.
- MINSA (2021). Número de casos de dengue, Perú 2015 – 2021. Consultado el 02 de mayo de 2022. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/dengue/dengue_202133_02_094334.pdf
- MINSA y DIGESA (2015). Norma técnica de salud para la implementación de la vigilancia y control del *Aedes aegypti*, vector del dengue y la fiebre de chikungunya y la prevención del ingreso del *Aedes albopictus* en el territorio nacional. Consultado el 02 de mayo de 2022. Disponible en <https://www.datosabiertos.gob.pe/sites/default/files/recursos/2017/09/NTS%20116-2015%20%20VIGILANCIA%20Y%20CONTROL%20DEL%20AEDES%20AEGYPTI.pdf>
- Mogollon, A. (2020). Actividad larvicida de cuatro extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae). Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Piura. Piura, Perú.
- Morales, R. (2012). Efecto del fenobarbital, ibuprofeno y paracetamol sobre la tolerancia a insecticidas y variación en las esterasas en *Aedes aegypti* (Diptera:

Culicidae). Informe de experiencia laboral para optar el título de Biólogo – Microbiólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

- More, M.; Castañeda, C. y Suyón, M. (2018). Nuevo registro altitudinal de *Aedes aegypti* en la región de Piura, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(3), 536-537. <https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3791>
- Palomino, M.; León C.; Valencia V.; Cárdenas, F. y Ancca J. (2007). Evaluación de campo del efecto residual de la deltametrina sobre la mortalidad y knockdown en *Triatoma infestans*, según tipo de superficie en Arequipa, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 24(2), 136-143. Recuperado en 03 de mayo de 2022, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342007000200007&lng=es&tlng=es.
- Pérez, M. (2017). Evaluación del temefos y pyriproxifeno para el control de larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. *Horizonte Médico (Lima)*, 17(4), 24-29. <https://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2017.v17n4.05>
- Puertas, L. (2021). Ciclo Biológico y Parámetros Poblacionales de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio y en campo, Bagua Grande, Amazonas. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

- Quispe, E. (2015). Ciclo Biológico y Tabla de Vida de *Aedes aegypti* L. en laboratorio, Trujillo. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Santacoloma, L.; Chaves B. y Brochero, H. (2010). Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. Rev. Panam Salud Publica 27(1): 66–73.
- Tuñoque, J. (2019). Impacto de la aplicación del protocolo de manejo integrado de vectores en el control de *Aedes aegypti*, en Bagua Grande, Región Amazonas. Tesis para optar el título de Segunda Especialidad Profesional en Entomología Médica y Control de Vectores. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Ventocilla, C. (2020). Características epidemiológicas y distribución espacial y temporal de casos confirmados de enfermedades metaxenicas transmitidas por *Aedes aegypti* en el Perú durante el periodo 2009-2018. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.
- World Health Organization (WHO). (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides, unpublished document. WHO/VBC/ 81.807, 6 pp.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Análisis bioquímico completo de larvas F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Bellavista.

1.1. Análisis con α -esterasas

α -esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0056
2	0.0168
3	0.0125
4	0.0064
5	0.0304
6	0.0096
7	0.0243
8	0.0111
9	0.0126
10	0.0115
11	0.0146
12	0.0255
13	0.0185
14	0.0156
15	0.0257
16	0.0189
17	0.0414
18	0.0805
19	0.0381
20	0.0299

1.2. Análisis con β -esterasas

β -esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0056
2	0.0120
3	0.0094
4	0.0060
5	0.0041
6	0.0045
7	0.0109
8	0.0074
9	0.0098
10	0.0056
11	0.0096
12	0.0072
13	0.0133
14	0.0110
15	0.0152
16	0.0185
17	0.0371
18	0.0137
19	0.0129

1.3. Análisis con GST

GST	
N° de especimen	nm/mosquito/min
1	0.1315
2	0.0853
3	0.0836
4	0.0601
5	0.0511
6	0.0764
7	0.0657
8	0.1116
9	0.0468
10	0.1196
11	0.0629
12	0.0758
13	0.2727
14	0.2621
15	0.2631
16	0.2440
17	0.2236
18	0.1983
19	0.1365
20	0.0573

1.4. Análisis con %AChE inhibida

% iAChE	
Nº de especimen	% iAChE
1	0.00
2	4.84
3	10.07
4	0.00
5	11.69
6	11.50
7	0.00
8	0.00
9	6.03
10	5.58
11	0.00
12	0.00
13	17.53
14	2.25
15	0.00
16	0.0000
17	14.3713
18	29.7619
19	45.7143
20	34.5455

Anexo 2. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Bellavista.

2.1. Análisis con α -esterasas

α-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0177
2	0.0346
3	0.0311
4	0.0318
5	0.0147
6	0.0600
7	0.0502
8	0.0501
9	0.0241
10	0.0504
11	0.0395
12	0.0402
13	0.0373
14	0.0613
15	0.0778
16	0.0333
17	0.0496
18	0.0659
19	0.0439
20	0.0350

2.2. Análisis con β -esterasas

β-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0252
2	0.0271
3	0.0222
4	0.0206
5	0.0239
6	0.0437
7	0.0277
8	0.0260
9	0.0207
10	0.0317
11	0.0357
12	0.0233
13	0.0244
14	0.0372
15	0.0338
16	0.0195
17	0.0243
18	0.0228
19	0.0127
20	0.0110

2.3. Análisis con GST

GST	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0296
2	0.0038
3	0.1145
4	0.0376
5	0.0333
6	0.0000
7	0.0276
8	0.0143
9	0.0401
10	0.0092
11	0.0391
12	0.0501
13	0.0709
14	0.0290
15	0.0210
16	0.0135
17	0.0311
18	0.0154
19	0.0370
20	0.0659

2.4. Análisis con %AChE inhibida

%AChE inhibida	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	9.80
2	5.88
3	17.24
4	8.67
5	8.89
6	8.33
7	0.00
8	3.53
9	10.53
10	18.42
11	0.00
12	20.90
13	21.23
14	0.00
15	24.05
16	5.63
17	33.33
18	14.2857
19	2.0000
20	6.5789

Anexo 3. Análisis bioquímico completo de larvas F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Laredo.

3.1. Análisis con α -esterasas

α-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0257
2	0.0192
3	0.0181
4	0.0210
5	0.0158
6	0.0241
7	0.0229
8	0.0135
9	0.0216
10	0.0236
11	0.0201
12	0.0240
13	0.0198
14	0.0169
15	0.0261
16	0.0227
17	0.0233
18	0.0260
19	0.0164
20	0.0157

3.2. Análisis con β -esterasas

β-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0110
2	0.0105
3	0.0081
4	0.0106
5	0.0105
6	0.0118
7	0.0081
8	0.0073
9	0.0128
10	0.0090
11	0.0068
12	0.0077
13	0.0117
14	0.0105
15	0.0085
16	0.0056
17	0.0126
18	0.0117
19	0.0093
20	0.0117

3.3. Análisis con GST

GST	
N° de especimen	nm/mosquito/min
1	0.1209
2	0.1102
3	0.0695
4	0.1515
5	0.0991
6	0.1007
7	0.2013
8	0.1488
9	0.0795
10	0.0704
11	0.1100
12	0.1153
13	0.0940
14	0.2549
15	0.2664
16	0.0887
17	0.0942
18	0.1338
19	0.0885
20	0.1903

3.4. Análisis con %AChE inhibida

%iAChE	
N° de especimen	%iAChE
1	6.30
2	1.73
3	3.23
4	9.07
5	22.15
6	0.42
7	0.00
8	29.38
9	10.86
10	24.61
11	15.32
12	17.75
13	24.88
14	10.90
15	5.69
16	11.3360
17	14.7651
18	11.2392
19	12.9108
20	13.1195

Anexo 4. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Laredo.

4.1. Análisis con α -esterasas

α-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0215
2	0.0344
3	0.0432
4	0.0379
5	0.0313
6	0.0314
7	0.0297
8	0.0289
9	0.0393
10	0.0486
11	0.0306
12	0.0392
13	0.0630

4.2. Análisis con β -esterasas

β-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0296
2	0.0228
3	0.0407
4	0.0237
5	0.0244
6	0.0261
7	0.0307
8	0.0233
9	0.0039
10	0.0165
11	0.0118
12	0.0178
13	0.0227

4.3. Análisis con GST

GST	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0035
2	0.0009
3	0.0000
4	0.0001
5	0.0038
6	0.0024
7	0.0000
8	0.0000
9	0.0165
10	0.0000
11	0.0005
12	0.0028
13	0.0023

4.4. Análisis con %AChE inhibida

%AChE inhibida	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	21.8241
2	1.0724
3	15.1685
4	0.0000
5	8.9317
6	18.1395
7	27.6404
8	40.4762
9	32.1383
10	36.7911
11	5.4811
12	14.7899
13	38.6957

Anexo 5. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de Buenos Aires.

5.1. Análisis con α -esterasas

α-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0089
2	0.0125
3	0.0148
4	0.0161
5	0.0169
6	0.0181
7	0.0110
8	0.0176
9	0.0134
10	0.0168
11	0.0143
12	0.0257
13	0.0268
14	0.0246
15	0.0198
16	0.0197
17	0.0208
18	0.0243
19	0.0230
20	0.0205

5.2. Análisis con β -esterasas

β-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0259
2	0.0150
3	0.0187
4	0.0265
5	0.0279
6	0.0329
7	0.0121
8	0.0254
9	0.0508
10	0.0384
11	0.0224
12	0.0299
13	0.0200
14	0.0295
15	0.0247
16	0.0279
17	0.0253
18	0.0297
19	0.0204
20	0.0159

5.3. Análisis con GST

GST	
N° de especimen	nm/mosquito/min
1	0.1654
2	0.1174
3	0.1405
4	0.1620
5	0.0654
6	0.2256
7	0.0910
8	0.1335
9	0.0291
10	0.1496
11	0.1951
12	0.1457
13	0.1258
14	0.1271
15	0.1493
16	0.2303
17	0.1492
18	0.2296
19	0.1125
20	0.1135

5.4. Análisis con %AChE inhibida

%AChE inhibida	
N° de especimen	% Inhibición
1	19.64
2	8.98
3	17.04
4	50.51
5	24.22
6	12.14
7	14.53
8	2.68
9	11.36
10	10.99
11	15.16
12	0.00
13	1.81
14	21.63
15	1.62
16	6.39
17	8.41
18	9.5847
19	6.8493
20	12.3626

Anexo 6. Análisis bioquímico completo de adultos F2 de *Aedes aegypti* recolectadas de El Porvenir.

6.1. Análisis con α -esterasas

α-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0683
2	0.0856
3	0.0891
4	0.0699
5	0.0724
6	0.0817
7	0.0886
8	0.1186
9	0.0823
10	0.1311
11	0.0802
12	0.0481
13	0.0514
14	0.0535
15	0.0398
16	0.0802
17	0.0470
18	0.0419
19	0.0529
20	0.0751
21	0.0634
22	0.0537
23	0.0659
24	0.0784

6.2. Análisis con β -esterasas

β-esterasas	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0253
2	0.0254
3	0.0251
4	0.0256
5	0.0256
6	0.0261
7	0.0282
8	0.0291
9	0.0230
10	0.0464
11	0.0230
12	0.0201
13	0.0276
14	0.0329
15	0.0320
16	0.0653
17	0.0408
18	0.0300
19	0.0480
20	0.0635
21	0.0542
22	0.0280
23	0.0317
24	0.0327

6.3. Análisis con GST

GST	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	0.0008
2	0.0005
3	0.0006
4	0.0000
5	0.0000
6	0.0003
7	0.0005
8	0.0000
9	0.0000
10	0.0005
11	0.0006
12	0.0000
13	0.0010
14	0.0015
15	0.0000
16	0.0000
17	0.0000
18	0.0000
19	0.0000
20	0.0000
21	0.0000
22	0.0000
23	0.0000
24	0.0000

6.4. Análisis con %AChE inhibida

%AChE inhibida	
N° de especimen	nm/mg ptn/min
1	37.28
2	0.00
3	5.86
4	99.64
5	0.00
6	17.00
7	40.49
8	0.00
9	0.00
10	8.87
11	74.88
12	30.86
13	37.88
14	4.6512
15	20.6430
16	2.3622
17	0.9554
18	13.9021
19	3.12
20	0.00
21	24.53
22	21.99
23	38.80
24	0.00