

Artículo original

## Vigilancia de la resistencia a los insecticidas organosintéticos en *Anopheles albimanus* y *Aedes aegypti* de Ecuador 2019

### *Surveillance of resistance to organosynthetic insecticides in Anopheles albimanus and Aedes aegypti from Ecuador 2019*

<https://doi.org/10.52808/bmsa.7e5.61e.012>

Rubén Guerrero Caicedo<sup>1</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-0011-8159>

Mayra Alexandra Lascano Córdova<sup>1\*</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-0387-1066>

Delia Marlene López Domínguez<sup>1</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-7304-2995>

Luisa Elena Figueroa Acosta<sup>2</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-7568-3526>

Recibido: 21/11/2020

Aceptado: 19/01/2021

#### RESUMEN

*Anopheles* y *Aedes*, son los géneros que agrupan las especies causantes de enfermedades vectoriales como malaria y otras arbovirosis. Las condiciones climáticas en países como Ecuador favorecen la propagación del vector en cualquier época del año y el uso prolongado de insecticidas en estas especies para su control, les ha desarrollado resistencia a los mismos. Evaluar la resistencia a los insecticidas organosintéticos en *Anopheles albimanus* y *Aedes aegypti* en 8 provincias de Ecuador en 2019 fue el objetivo de este estudio. Empleando la prueba de botellas para adultos y el método de inmersión para larvas. El análisis de los resultados se realizó mediante tablas graficadas en el Programa Excel, arrojando la curva sigmoideal. *Aedes Aegypti* presentó resistencia al insecticida piretroide deltametrina en casi todas las localidades estudiadas, al organofosforado malatión en el 66% y al temephos en 50 por ciento. *Anopheles albimanus* presentó resistencia al insecticida piretroide deltametrina en más del 50% de las localidades estudiadas y al organofosforado malatión en el 100%. Este estudio reveló que la resistencia a insecticidas resulta frecuente en Ecuador, producto de la presión del uso de insecticidas para dicho control, por lo que se recomienda su uso confiable y preciso. Resultando un valioso aporte para el desarrollo de estrategias exitosas de control vectorial al implementar intervenciones que conlleven el uso de la herramienta química para el combate de los vectores de enfermedades en Ecuador.

**Palabras clave:** arbovirosis, malaria, piretroides, organofosforados, vectores

#### ABSTRACT

*Anopheles* and *Aedes* are the genera that group the species that cause vector diseases such as malaria and other arboviral diseases. The climatic conditions in countries like Ecuador favor the propagation of the vector at any time of the year and the prolonged use of insecticides in these species for their control, has developed resistance to them. The objective of this study was to evaluate resistance to organosynthetic insecticides in *Anopheles albimanus* and *Aedes aegypti* in 8 provinces of Ecuador in 2019. Using the adult bottle test and the larval immersion method. The analysis of the results was carried out using graphed tables in the Excel program, yielding the sigmoidal curve. *Aedes Aegypti* presented resistance to the insecticide pyrethroid deltamethrin in almost all the localities studied, to the organophosphate malathion in 66% and to temephos in 50 percent. *Anopheles albimanus* presented resistance to the insecticide pyrethroid deltamethrin in more than 50% of the studied localities and to the organophosphate malathion in 100%. This study revealed that resistance to insecticides is frequent in Ecuador, due to the pressure of the use of insecticides for that control, so its reliable and precise use is recommended. It is a valuable contribution to the development of successful vector control strategies when implementing interventions that involve the use of the chemical tool to combat disease vectors in Ecuador.

**Key words:** arbovirosis, malaria, pyrethroids, organophosphates, vectors.

<sup>1</sup>Universidad Regional Autónoma de Los Andes (UNIANDES); Ecuador

<sup>2</sup>Universidad de Carabobo Facultad de Ciencias de la Salud Escuela de Bioanálisis Profa Omaira Figueroa Sede Aragua/Instituto de Altos Estudios Dr. Arnoldo Gabardón –Centro de Estudio de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental Laboratorio de Evaluación de Insecticidas, Venezuela

\*Autor de Correspondencia: [ua.mayralascano@uniandes.edu.ec](mailto:ua.mayralascano@uniandes.edu.ec)

## Introducción

*Anopheles* y *Aedes*, son los géneros que agrupan a las especies que actúan como principales vectores de la malaria y las arbovirosis tales como zika, dengue, chikunguña y fiebre amarilla, dichas enfermedades vectoriales son las que causan la mayor morbimortalidad en el ámbito mundial, estas especies se encuentran ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del mundo (Betancourt y Falcón, 2020). Ecuador es un país tropical, con condiciones climáticas favorables para albergar a las especies *Anopheles albimanus* y *Aedes aegypti*. Además del COVID-19, el dengue es otra epidemia que amenaza a Ecuador, según revelan las cifras de contagios que se registraron en los últimos dos años. En 2019- a escala nacional los casos fueron 8.416, mientras en 2020 la cifra se elevó a 15.579, casi el doble, (Ministerio de Salud Pública de Ecuador, 2020).

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020) reportó aproximadamente cinco mil casos de malaria en Ecuador. En la actualidad no existe un tratamiento específico o vacunas disponibles contra la mayoría de las arbovirosis y malaria, entre otras, Estas dolencias causan gran impacto económico y social, particularmente en países tropicales como Ecuador. Actualmente, ningún método efectivo de inmunización está disponible para controlar dichas enfermedades y la única forma de controlar la transmisión está dirigida hacia sus vectores. Por esto, las actividades de control vectorial son las principales estrategias disponibles para prevenir y reducir el impacto en la salud pública. El uso de insecticidas químicos ha sido la forma más utilizada en los programas de Control. Estos se han empleado por más de 60 años con resultados variables. Inicialmente se usaron piretrinas, de corto efecto de noqueo. Posteriormente se introdujeron insecticidas de mayor acción residual como los organoclorados, carbamatos y organofosforados (OPS, 2019).

Lamentablemente, muchos vectores de enfermedades han desarrollado resistencia a los insecticidas usados para su control. La resistencia a insecticidas se ha definido como la propiedad que han adquirido las poblaciones de insectos, para sobrevivir a la exposición a una dosis estándar de insecticida. El uso sistemático y la presión ejercida por los insecticidas piretroides para tratar mosquiteros y el amplio uso de otras clases de insecticidas para el rociado de interiores, como compuestos organoclorados (DDT) y organofosforados, han contribuido a la aparición de resistencia a los insecticidas en varias especies de vectores. Para el desarrollo de estrategias exitosas de control vectorial se debe tener en cuenta los resultados de la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en el área a intervenir así como evaluar las intervenciones realizadas en territorio. Por tal razón, la Organización Mundial de la Salud y el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (OMS, 2016) han desarrollado metodologías de evaluación de insecticidas para poblaciones de *Ae. aegypti* y *Anopheles spp*, con el fin de intensificar la vigilancia de la resistencia de insecticidas en cada uno de los países de la región y mantener actualizada la información de resistencia fenotípica y sus mecanismos de resistencia.

En Ecuador este fenómeno ha sido poco documentado, sobretodo en especies de importancia en salud pública, tales como los vectores de malaria y arbovirosis, en este sentido, actualmente como parte de las estrategias de prevención y control, se ha incorporado la Red Nacional de Laboratorios de Entomología, con seis laboratorios en la región Litoral, tres laboratorios en la región Amazónica, un laboratorio en la región Insular y un laboratorio de referencia nacional, los cuales realizan el monitoreo continuo de resistencia a insecticidas en vectores de importancia médica y la evaluación operativa de metodologías de control vectorial. El país forma parte de la Red Regional de Resistencia a los Insecticidas y como parte del fortalecimiento de la Red Nacional de Laboratorios de Entomología, se presentan los resultados de la vigilancia de la resistencia a los insecticidas utilizados en el control vectorial, en poblaciones de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus*, realizadas por el Centro de Referencia Nacional de Vectores y la Red de Laboratorios de Entomología de las Coordinaciones Zonales 1, 4, 7 y 8, durante el período de Enero a Diciembre de 2019.

Con la detección de resistencia a insecticidas piretroides y organofosforados, se hace indispensable la vigilancia periódica de las poblaciones de vectores en el Ecuador, que permitan orientar las intervenciones de control vectorial. Por esta razón en la presente investigación se propuso, evaluar la resistencia a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* de Ecuador para 2019. Estos resultados permitirán adoptar sistemáticamente una metodología de estratificación, focalizar intervenciones en áreas críticas y la implementación de nuevas estrategias a partir de criterios técnicos.

## Materiales y métodos

La investigación se realizó según las pautas programáticas de uso de insecticidas del Sistema de Vigilancia de la Resistencia a los Insecticidas (SIRI) en el Ecuador, considerando las áreas de riesgo para la transmisión de arbovirosis (Dengue, Zika, Chikungunya y fiebre amarilla) por el mosquito *Ae. aegypti* y de malaria por *An. albimanus*.

### Cepas utilizadas

Se utilizaron cepas de calle de *Ae. aegypti* que se colectaron en 33 localidades de 8 provincias; 15 localidades de 5 provincias y 25 localidades de 6 provincias para la evaluación de deltametrina, malatión y temefos respectivamente. Para *An. albimanus* en 12 localidades de 6 provincias, 11 localidades de 3 provincias y 7 localidades de 4 provincias, para los mismos agentes químicos. Se colectaron estadios inmaduros en criaderos naturales y artificiales. Para ambos casos se realiza una cría asociada que consiste en colectar larvas para el desarrollo del ciclo biológico, esto con la finalidad de obtener una relación taxonómica entre los diferentes estados inmaduros y adultos de la especie. El material biológico colectado se identificó y clasificó mediante el empleo de claves taxonómicas de Cova-García, (1961); Faran y Linthicum,

(1981); Navarro, (1996); Forattini *et al.*, (1998); Rubio-Palis, (2000) y González *et al.*, (2008), a nivel de géneros, subgéneros y especies. Los bioensayos por especie de vector se realizaron con:

### Insecticidas utilizados

1. Deltametrina:(S)- $\alpha$ -cyano-3-phenoxybenzyl,1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate; con 96,8% de pureza, suministrado por Roussel Uclaf (Romainville, Francia). Se utilizó a una concentración de 0,1% en silicona. Dosis 6,25  $\mu$ g/ml
2. Malation: Organotiofosfato,  $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ , masa molar 330,358 g/mol. Soluble en agua, 2-[(dimetoxifosforothioyl)sulfanyl]butanedioate, Diethyl. Dosis 100  $\mu$ g/mL..
3. Temefos: o,o-dimetil fosforotioato o-diéster con 4,4 $\epsilon$  tiodifenol; con 93,3% de pureza, suministrado por American Cyanamid Co. (Princeton, NJ, Estados Unidos de América). Se utilizó una concentración de 1,0% en acetona y se hicieron diluciones de 1:10 para las evaluaciones. Dosis 0,125 mg/L.

### Determinación de la susceptibilidad a insecticidas en adultos (Botella impregnada CDC)

Los bioensayos para evaluar susceptibilidad a insecticidas se realizaron siguiendo el método de exposición residual de insecticidas en botellas del CDC (Brogdon & McAllister, 1998; OMS, 2016). Los mosquitos adultos hembras *Ae. aegypti* y *An. albimanus*, fueron expuestos a botellas de vidrio tipo Wheaton de 250 mL, tratadas con soluciones cetónicas de insecticidas, las cuales insecticidas de la OMS (susceptibilidad: entre 98% y 100% de letalidad; verificación de la resistencia: entre 80% y 97%; y alta resistencia: menos de 80% de letalidad).

Los bioensayos se realizaron en el laboratorio a temperaturas aproximadas de  $23^{\circ}C \pm 2$  y humedad relativa de  $55\% \pm 5$ . Fueron expuestos 25 mosquitos adultos hembras por botella y se evaluaron cinco repeticiones por insecticida. Cada quince minutos fue registrado el número de mosquitos muertos hasta observar el 100% de mortalidad. Los bioensayos fueron replicados tres veces el mismo día de ejecución de la prueba. Criterio de mortalidad Situación en la que el insecto se encuentra sin ningún movimiento evidente de cualquier apéndice después de la observación por un mínimo de 3 segundos.

### Determinación en larvas de la susceptibilidad a temefos

La resistencia de las larvas de *Ae. aegypti* al temefós se determinó mediante los bioensayos de susceptibilidad propuestos por la OMS (WHO, 1981). Para ello se colocaron 25 larvas que se encontraban en el tercer estadio tardío o el cuarto estadio temprano en vasos que contenían temefós una concentración de 0,125 mg/L, con cinco réplicas. La letalidad se determinó 24 horas después de aplicado el insecticida, ocasionaron una letalidad entre 2% y 98% se repitieron los ensayos tres veces en días diferentes.

### Análisis de los Resultados

Los datos fueron tabulados en tablas donde se refleja las respuestas de los mosquitos y se categorizan como susceptibles y resistentes. Además, se relacionaron las variables tiempo mortalidad para los insectos evaluados. Los datos obtenidos con las botellas fueron graficados en el programa Excel. Dicho análisis arrojó una curva sigmoideal, el porcentaje de mortalidad y los tiempos letales en minutos para los insecticidas

## Resultados

### Evaluación de la resistencia en *Aedes aegypti*.

La exposición del insecticida piretroide deltametrina (6,25  $\mu$ g/ml) en *Ae. aegypti*, arrojó susceptibilidad únicamente en la localidad Loreto de Orellana (3,03%). En 31 localidades evaluadas (93,93%) se determinó la alta resistencia al piretroide (Tabla 1), con mortalidades inferiores al 80%, y solo una localidad en la provincia de Guayas tuvo una mortalidad estimada de 97%, lo que sugiere resistencia, pero debe confirmarse.

En la Figura 1, se presentan las curvas sigmoideas, de cepas de campo de *Ae. aegypti*, ante el efecto del insecticida deltametrina a 6,25  $\mu$ g/ml en las pruebas en botella. En los registros de mortalidad que se hicieron a los 15, 30, 45 y 60; en el tiempo-mortalidad en adultos, solo registró el 100% de mortalidad en la cepa de campo de Loreto a los 30 minutos, calificándola como susceptible; y el resto de las localidades de la 7 provincias restantes, a los 30 minutos alcanzaron porcentajes menos de 80% de letalidad (alta resistencia).

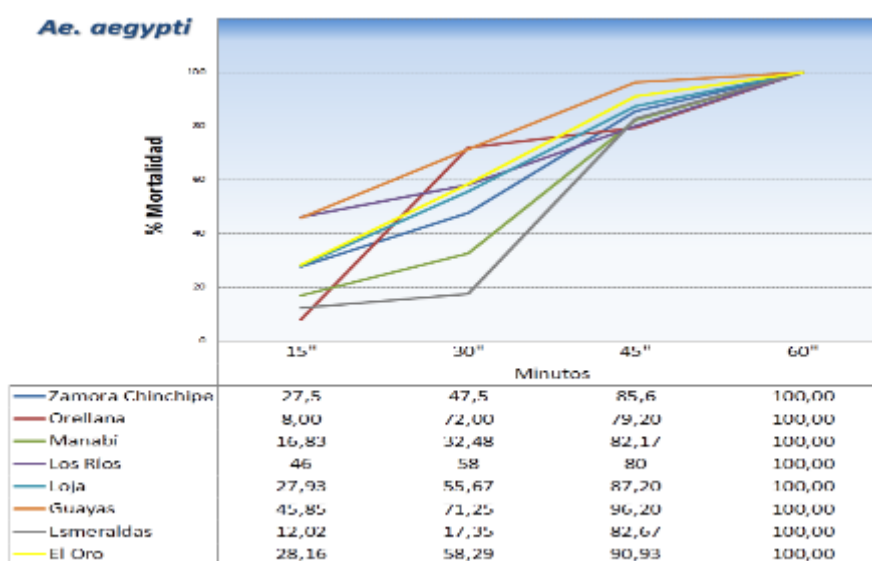
En la tabla 2 se muestran los resultados de 15 poblaciones de *Ae. aegypti* de cinco provincias. se observa que el incremento de poblaciones resistentes en la provincia de Manabí y la presencia de poblaciones susceptibles en la provincia de El Oro; esta variación podría estar vinculada a la presión ejercida con otros insecticidas pertenecientes al grupo de organofosforados, lo que significa que no hay desplazamiento de las poblaciones de insectos susceptibles. El tiempo dosis respuesta de la letalidad como se observa en la Figura 2, a los 30 minutos en 4 provincias evaluadas se estimó promedios porcentuales inferiores a la dosis diagnóstica de alta resistencia.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la exposición de larvas de *Ae. aegypti*, donde se refleja la resistencia a una única aplicación de temefos, a la dosis de 0.04 ppm mostrando mortalidades inferiores al 98% en las larvas, solo

10 localidades, en la evaluación única a las 24 horas post exposición, con porcentajes de letalidad, inferiores a la dosis diagnóstica de alta resistencia, debido a que el temefos es un insecticida organofosforado utilizado en el control larvario la resistencia está vinculada a la presión ejercida por insecticidas del mismo grupo como el malatión y el desarrollo de mecanismos enzimáticos.

**Tabla 1. Evaluación de la resistencia en *Aedes aegypti* al insecticida piretroide deltametrina, en prueba de botella, Ecuador, 2019**

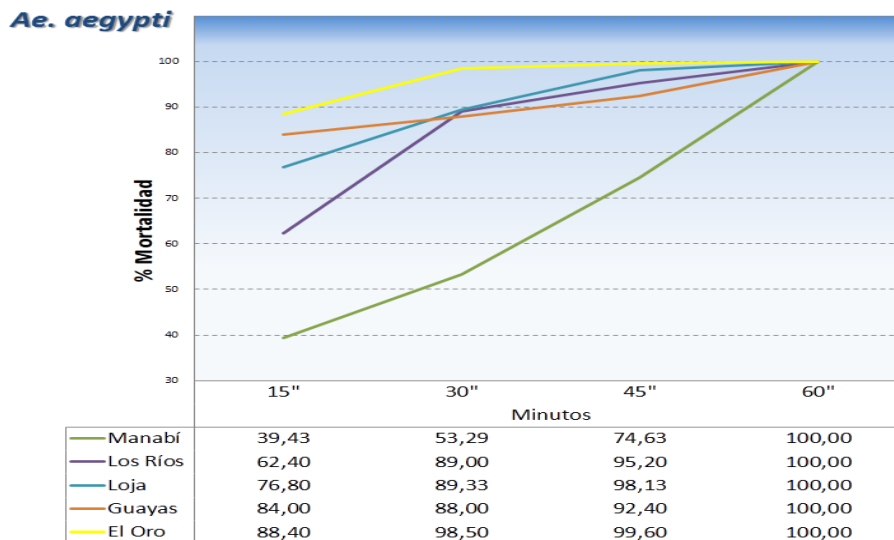
Provincia	Localidad	Coordenadas geográficas	<i>Aedes aegypti</i>	
			% Mortalidad	Evaluación
Esmeraldas	Muisne-Bilsa	0.61129, -80.01863	1,25%	Resistente
	San Lorenzo	1.28626, -78.83514	41,25%	Resistente
	Esmeraldas	0.95520, -79.65397	10%	Resistente
Manabí	Portoviejo	-1.05458, -80.45445	13%	Resistente
	Jaramijó	-0.948722, -80.63306	20%	Resistente
	Montecristi	-1.045576, -80.65889	23%	Resistente
	Tosagua	-0.78679, -80.23473	16,25	Resistente
	Manta-Piñas	-3.68107, -79.68083	30%	Resistente
	Manta AbdónCalderón	-1.03151, -80.33945	39%	Resistente
	Manta-La Época	-0.96212, -80.71271	39%	Resistente
	Santa Ana	-0.96212, -80.71271	53,75%	Resistente
	Cuba libre	-0.45000, -80.1167	25,00%	Resistente
	Los Esteros	-1.53333, -80.5028	28,75%	Resistente
	Los Geranios	-0.95000, -80.7333	25,00%	Resistente
	La Paz	-0.95800, -80.7333	73,75%	Resistente
	15 de septiembre	-0.95320, -80.7333	27,16%	Resistente
	Manta	-0.96212, -80.71271	41,25%	Resistente
El Oro	Portovelo	-3.72145, -79.62187	68,75%	Resistente
	El Guabo	-3.23880, -79.8292	26%	Resistente
	Pasaje	-3.32561, -79.80697	50%	Resistente
	Machala	-3.25861, -79.96053	54%	Resistente
	Santa Rosa	-3.44882, -79.95952	86%	Resistente
	Huaquillas	-3.47523, -80.23084	65%	Resistente
Orellana	Loreto	-0.66666, -77.31672	100%	Susceptible
Guayas	Durán	-2.20000, -79.8333	79%	Resistente
	Paraíso de la Flor	-2.25833, -79.82500	97,00%	Resistente
	Guasmo sur	-2.23333, -79.90000	38,00%	Resistente
	Vergeles	-1.25000m -79.9167	70,67%	Resistente
Loja	Catamayo	-3.98333, -79.35000	62,00%	Resistente
	Macará	-4.38333, -79.95000	55,00%	Resistente
	Zapotillo	-4.38333, -80.25000	50,00%	Resistente
Los Ríos	Babahoyo	-1.81667, -79.5167	58,00%	Resistente
Zamora Chinchipe	Yantzaza	-3.82778, -78.7594	47,50%	Resistente



**Figura 1. Susceptibilidad en adultos de *Aedes aegypti* al insecticida piretroide deltametrina, en prueba de botella, en el estado Ecuatoriano 2019**

**Tabla 2. Evaluación de la resistencia en *Aedes aegypti* al insecticida organofosforado malatión, en prueba de botella, Ecuador, 2019**

Provincia	Localidad	<i>Aedes aegypti</i>		
			% Mortalidad	Evaluación
El Oro	Barbones	-3.18333, -79.9167	97,50	Susceptible
	Portovelo	-3.72145, -79.62187	100,00	Susceptible
Guayas	Febres Cordero	-1.93333, -80.6167	78,00	Resistente
	Guasmo Sur	-2.23333, -79.90000	98,00	Susceptible
Loja	Catamayo	-3.98333, -79.35000	73,75	Resistente
	Macará	-4.38333, -79.95000	98,75	Susceptible
	Zapotillo	-4.38333, -80.25000	98,75	Susceptible
Los Ríos	Babahoyo	-1.81667, -79.5167	89,33	Resistente
Manabí	Los Esteros	-1.53333, -80.5028	38,75	Resistente
	Santa Ana	-0.96212, -80.71271	85,00	Resistente
	Cuba Libre	-0.45000, -80.1167	7,50	Resistente
	15 de septiembre	-0.95320, -80.7333	77,50	Resistente
	La paz	-0.95800, -80.7333	51,25	Resistente
	La Florita	-0.433333, -80.4667	63,75	Resistente
	Los Geranios	-0.95000, -80.7333	51,25	Resistente



**Figura 2. Susceptibilidad en adultos de *Aedes aegypti* al insecticida organofosforado malatión en prueba de botella, en el estado Ecuatoriano 2019**

**Tabla 3. Evaluación de la resistencia en *Aedes aegypti* al insecticida organofosforado temefos, Ecuador, 2019.**

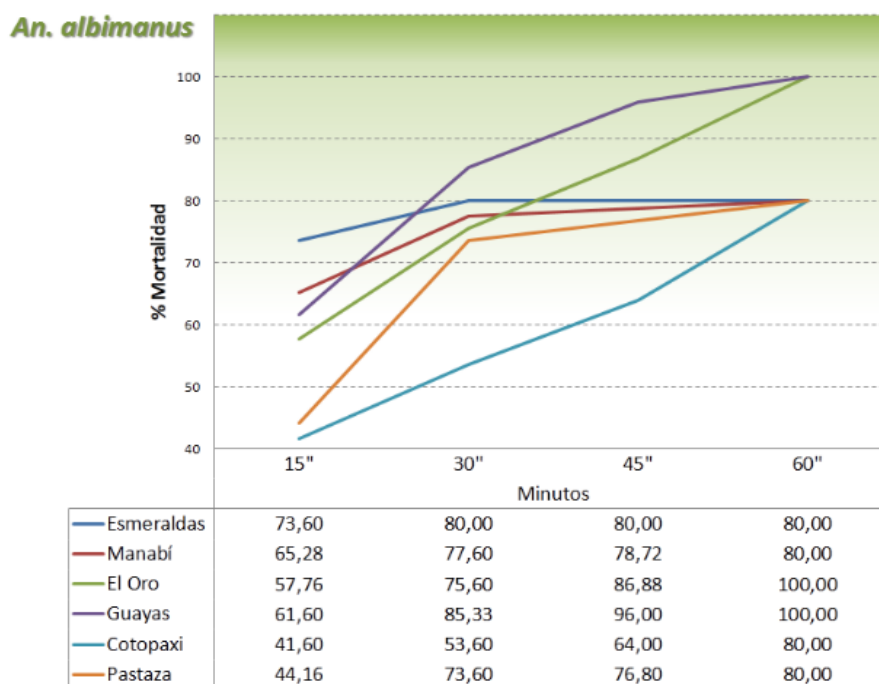
Provincia	Localidad	<i>Aedes aegypti</i>		
			% Mortalidad	Evaluación
Esmeraldas	Tachina	0.95000, -79.6167	12,12	Resistente
	Esmeraldas	0.95520, -79.65397	47,90	Susceptible
	Atacames	0.86667, -79.85000	19,54	Resistente
	San Mateo	0.88333, -79.6333	15,46	Resistente
	Tonsupa	0.81667, -79.95000	20,89	Resistente
	Muisne	0.61129, -80.01863	64,00	Susceptible
Manabí	Manta - La Paz	-0.95800, -80.7333	30,89	Resistente
	Manta - 15 de septiembre	-0.95320, -80.7333	32,90	Resistente
	Manta - Los Geranios	-0.95000, -80.7333	26,36	Resistente
	Manta - La Florida	-0.43333, -80.4667	63,54	Resistente
	Manta - 15 de abril	-1.26667, -80.4333	20,98	Resistente
Zamora Chinchipe	Montecristi	-1.045576, -80.65889	33,87	Resistente
	Zumbi		89,00	Susceptible
Yantzaza		-3.82778, -78.7594	12,80	Susceptible
	Ciudadela Deportiva	-1.94333, -80.56733	61,00	Susceptible
Guayas				
	Pasaje	-3.32561, -79.80697	1,06	Susceptible
El Oro	Portovelo	-3.72145, -79.62187	0,57	Susceptible
Loja	Catamayo	-3.98333, -79.35000	1,26	Susceptible
	Macara	-4.38333, -79.95000	1,03	Susceptible
	Zapotillo	-4.38333, -80.25000	0,1	Susceptible

### Evaluación de la resistencia en *Anopheles albimanus*.

En la Tabla 4, se presentan los resultados de los bioensayos con *An. albimanus* expuestos a deltametrina, en 4 de 12 localidades evaluadas se evidenció susceptibilidad, mientras que el 66,67% (8/12) fueron altamente resistentes al piretroide, con mortalidades al tiempo diagnóstico inferiores al 98%. El tiempo dosis respuesta de la letalidad como se observa en la Figura 3, a los 30 minutos en las seis provincias evaluadas se estimó promedios porcentuales inferiores a la dosis diagnóstica de alta resistencia.

**Tabla 4. Evaluación de resistencia en *Anopheles albimanus* al insecticida piretroide deltametrina, en prueba de botella, en el estado Ecuatoriano 2019**

Provincia	<i>Anopheles albimanus</i>			Evaluación
	Localidad		% Mortalidad	
Esmeraldas	San Lorenzo	1.28626, -78.83514	100%	<b>Susceptible</b>
Manabí	Santa Marianita	-0.98333, -80.8333	97%	Resistente
El Oro	Machala	-3.25861, -79.96053	81,60%	Resistente
	Huaquillas	-3.47523, -80.23084	62,00%	Resistente
	Santa Rosa	-3.44882, -79.95952	68,80%	Resistente
	Pasaje	-3.32561, -79.80697	92,00%	Resistente
	El Guabo	-3.23880, -79.8292	92,00%	Resistente
Guayas	Samborondón	-1.95000, -79.7333	99,00%	<b>Susceptible</b>
	Daule	-1.86667, -79.9333	100%	<b>Susceptible</b>
	Unión de Bananeros	-2.28333, -79.8333	56%	Resistente
Cotopaxi	La Maná	-0.94094, -79.22506	100%	<b>Susceptible</b>
Pastaza	Sharamentza	-1.56667m -76.4167	100%	<b>Susceptible</b>



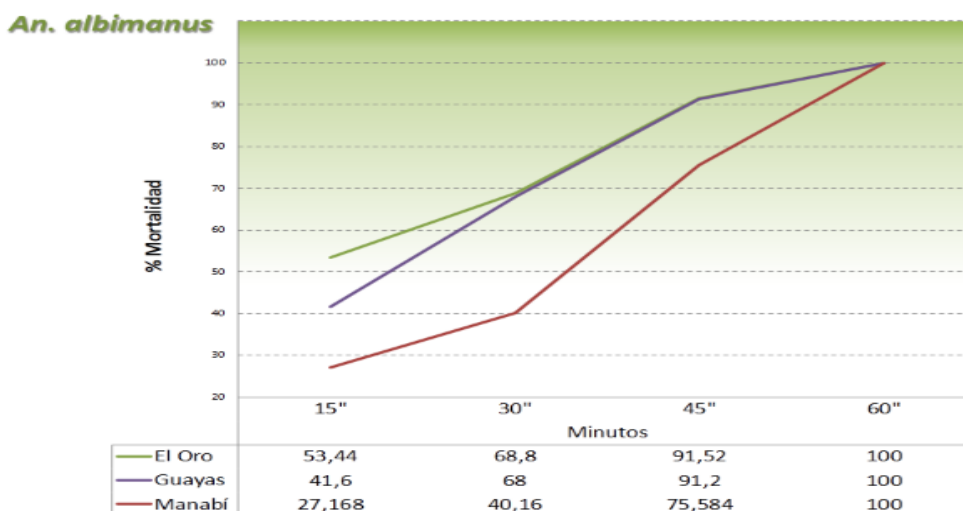
**Figura 3. Susceptibilidad en adultos del *Anopheles albimanus* al insecticida piretroide deltametrina, en prueba de botella, en el estado Ecuatoriano 2019**

En la Tabla 5, se muestra que el 100% (n=10) de las localidades evaluadas para *An. albimanus* fueron resistentes al insecticida malatión a una dosis diagnóstica de 100 ug/mL, en 30 minutos de exposición, la alta incidencia de poblaciones resistentes podría estar vinculada por la presión ejercida con el uso de agroquímicos y el control de otras plagas. Igualmente, el tiempo dosis respuesta de mortalidad a la exposición a malatión, solo la localidad de El Oro evidenció resistencia probable, con un porcentaje de 98,50% a los 30 minutos; esta variación podría estar vinculada a la presión ejercida con otros insecticidas pertenecientes al grupo de organofosforados.

El tiempo dosis respuesta de la letalidad como se observa en la Figura 3, a los 30 minutos en las tres provincias evaluadas se estimó promedios porcentuales inferiores a la dosis diagnóstica de alta resistencia.

**Tabla 5. Evaluación de resistencia en *Anopheles albimanus* al insecticida malation, en prueba de botella 2019**

Provincia	Localidad	<i>Anopheles albimanus</i>		
			% Mortalidad	Evaluación
El Oro	El Guabo	-3.23880, -79.8292	86%	Resistente
	Pasaje	-3.32561, -79.80697	79%	Resistente
	Machala	-3.25861, -79.96053	62,40%	Resistente
	Santa Rosa	-3.44882, -79.95952	57%	Resistente
	Huaquillas	-3.47523, -80.23084	57%	Resistente
Guayas	Durán	-2.20000, -79.8333	68%	Resistente
Manabí	Portoviejo	-1.05000, -80.45000	4%	Resistente
	Jaramijó	-0.948722, -80.63306	1%	Resistente
	Manta-Las Piñas	-3.68107, -79.68083	31%	Resistente
	Manta-La Época	-0.95000, -80.7333	96%	Resistente



**Figura 3. Susceptibilidad en adultos de *Anopheles albimanus* al insecticida organofosforado malatión en prueba de botella, en el estado Ecuatoriano 2019**

**Discusión**

El manejo de la resistencia a los insecticidas se ve complicado por el hecho de que la resistencia puede revestir diversas formas. En términos generales, los principales mecanismos de resistencia pueden ser divididos en dos grupos: resistencia metabólica y resistencia por alteración del sitio diana. La resistencia metabólica se debe a una modificación de los sistemas enzimáticos del mosquito por la cual este se desintoxica del insecticida con más rapidez de lo normal. La desintoxicación impide que el insecticida llegue al sitio de acción al que iba dirigido dentro del organismo del mosquito.

En el caso de los vectores del paludismo, se piensa que hay tres sistemas enzimáticos cuya intervención es importante para metabolizar los insecticidas: las esterasas, las monooxigenasas y la glutatión S-transferasas. La resistencia por alteración del sitio diana se produce cuando una mutación modifica el receptor proteínico que el insecticida está destinado a atacar. Cuando ello ocurre, el insecticida ya no puede unirse al que era su sitio diana en el receptor, y como consecuencia el insecto no resulta afectado por el insecticida, o lo resulta en menor medida. En el caso del DDT y los piretroides, la mutación, que tiene lugar en el receptor del canal del sodio, confiere lo que se denomina “resistencia knockdown” (mediada por los genes kdr). En el caso de los organofosforados y los carbamatos, la mutación se produce en la proteína acetilcolinesterasa (un neurotransmisor) y confiere lo que suele denominarse resistencia Ace-1. El gen que codifica la resistencia al dieldrín (rdl) afecta al receptor del ácido gamma-aminobutírico y, según se ha comprobado, también confiere resistencia al fipronil.

*Aedes Aegypti* presentó resistencia al insecticida piretroide deltametrina en casi todas las localidades estudiadas, al organofosforado malatión en el 66% y al temephos en 50 por ciento. Esta diferencia en la respuesta entre adultos y larvas a los insecticidas organofosforados malatión y temephos, se debe a que el metabolismo de los insecticidas en las larvas es diferente al de los adultos. La alta resistencia a la deltametrina posiblemente se deba a la presión de selección que han ejercido sobre estas localidades, el uso de mosquiteros impregnados con deltametrina. En este contexto, estos resultados pueden ser discutidos con Perez y Molina de Fernández (2009), determinaron los niveles de resistencia a insecticidas en larvas de *Aedes aegypti* de tres municipios del estado Aragua – Venezuela (Girardot, Mario Briceño Iragorri y Urdaneta), en comparación con una cepa susceptible (Rockefeller), a través del método de inmersión de la OMS.

Se evaluaron los insecticidas organofosforados (malatión, pirimifos metil y temefos) y el carbamato (propoxur). Se encontró resistencia al malatión en las tres cepas, con valores de factores de resistencia (FR50) de 69,50x; 150,6x y 113,52x; para las cepas Girardot, Mario Briceño Iragorri y Urdaneta, respectivamente; sugiriendo esta diferencia en los niveles de resistencia a este insecticida, que la naturaleza del fenómeno es focal. Todas las cepas resultaron susceptibles a los organofosforados pirimifos metil y temefos, y al carbamato propoxur. Estudios con sinergistas PB y DEF demostraron que las enzimas del grupo multifunción oxidasas están implicadas en el desarrollo de la resistencia al malatión.

De igual forma Santacoloma *et al.*, (2011), evaluaron el estado de susceptibilidad a insecticidas piretroides deltametrina y lambdacialotrina y al organoclorado DDT, en 13 poblaciones naturales de *Aedes aegypti* recolectadas en localidades de Colombia. Todas las poblaciones del mosquito evaluadas evidenciaron resistencia al organoclorado DDT. En cuanto a los piretroides, se encontró resistencia generalizada a la lambdacialotrina pero no a deltametrina.

Siguiendo este mismo orden se ideas Molina de Fernández *et al.*, (2013), realizaron un estudio en mosquitos provenientes de zonas urbanas con alta casuística de dengue de los estados: Amazonas, Aragua, Bolívar, Lara, Mérida y Zulia de Venezuela, para determinar el status de susceptibilidad en este vector al malatión, en comparación con la cepa susceptible referencial, Rockefeller (Rock).

Los resultados de los bioensayos mostraron que existe susceptibilidad a malatión en las poblaciones evaluadas. Además, Bisset *et al.*, (2014), determinaron en larvas de *Ae. aegypti* de Misiones y Buenos Aires, Argentina, el nivel de resistencia a insecticidas organofosforados (temefos y fenitrotion) y a piretroides (deltametrina y cipermetrina). En el estado adulto se evaluó los piretroides (deltametrina, lambdacialotrina y cipermetrina) y el organofosforado clorpirifos. Tanto las larvas como los adultos resultaron susceptibles a todos los insecticidas evaluados. De manera similar Conde *et al.*, (2015), determinaron el estado de la sensibilidad a insecticidas de uso en salud pública en poblaciones de *Aedes aegypti* del departamento de Caldas, Colombia, en el 2007 y el 2011. En el 2007 se encontró resistencia al temefós en dos barrios del municipio de La Dorada, con grados de resistencia de 11,5 y 13,3. Por ello, la Dirección Territorial de Salud de Caldas suspendió el uso de este larvicida en dichos barrios. Cuatro años después, en el 2011, se observó una reducción en los grados de resistencia al temefós, así como resistencia al metil-pirimifós.

Todas las poblaciones evaluadas fueron sensibles a los insecticidas deltametrina, malatión y fenitrotión en los dos períodos. Simultáneamente, Bastidas *et al.*, (2015), evaluaron la respuesta a los insecticidas organofosforados malatión, fenitrotión, pirimifos-metil al carbamato propoxur y al piretroide lambdacialotrina en una cepa de campo denominada Coro, conformada por un pool de material (inmaduro) colectado en barriadas con alta casuística de dengue ubicadas en municipio Miranda, estado Falcón, Venezuela; en comparación con la cepa susceptible Rockefeller. La cepa evaluada resultó resistente a malatión (45 min), fenitrotión (75 min) pirimifos-metil (75 min) con respecto a la cepa susceptible con 30, 45 y 45 min. respectivamente, con porcentajes de mortalidad en el tiempo umbral de 89,2% malatión; 55,7% fenitrotión; 56,6%, pirimifos-metil. Se encontró susceptibilidad al carbamato propoxur y al piretroide lambdacialotrina.

Así mismo Molina de Fernández *et al.*, (2016), realizaron un estudio preliminar sobre el comportamiento frente a insecticidas organosintéticos de *Ae. albopictus* de diferentes localidades de tres estados centrales de Venezuela, durante el período 2012-2014. Todas las cepas evaluadas presentaron sensibilidad al DDT (200 µg/mL) y cuatro de ellas a lambdacialotrina (6,25 µg/mL), solo una, Santos Michelena (SM) presentó valores de sobrevivencia. También esto fue observado con: malatión (100 µg/mL) con una mortalidad en 30 minutos de 42,6% para Carabobo; 46,2% Distrito Capital (DC); 69,6% Zamora y 75,5% Mario Briceño Iragorri (MBI), solo resultó sensible SM. En cuanto a fenitrotion se encontraron valores de sobrevivencia con mortalidades en 30 minutos de 72,2%; para Carabobo, 30,7% DC y 45,8% MBI; solo expresaron sensibilidad Zamora y SM.

En las cepas Carabobo y DC se observó el efecto sinérgico FS = 3 y FS = 1,3, respectivamente. Paralelamente Rodríguez *et al.*, (2016), determinaron el nivel de resistencia a insecticidas en su grado técnico y en sus formulaciones comerciales en *Ae. aegypti* de Pinar del Río, Cuba. En larvas se encontró alta resistencia a temefos, en su formulación técnica, y con los productos en su formulación comercial, se observó una efectividad del 100 %, con recambio diario de agua, de hasta 20 días para Temefar G1, 18 días para Biolav G1 y 12 días para Abatex G1. En los ensayos de adultos, la cepa resultó susceptible a cipermetrina, deltametrina y clorpirifos, y resistente a la lambdacialotrina. Con respecto a las tres formulaciones comerciales evaluadas, solo se observó resistencia a Aqua K-Otrina 2 EW.

De manera similar Perez (2017), evaluó la eficacia del temefos frente al piriproxifeno a diferentes dosis en *Ae. aegypti* mantenido en condiciones de laboratorio en Perú. Encontró susceptibilidad al insecticida temefos tanto en la cepa Rockefeller como en la cepa Colique III Zona y una mortalidad disminuida para el piriproxifeno en la cepa Colique III Zona.

Más recientemente el SIRI (2019, datos no publicados) en el periodo de 2017 a 2019, informó que se evaluó *Ae. aegypti* de 42 localidades de 12 provincias, solo 2 de la provincia de Guayas (4,76%) resultaron susceptibles deltametrina, además de la posible resistencia cruzada con el DDT al tener un mismo sitio de acción y el desarrollo de mecanismos de resistencia. De igual modo Villamar *et al.*, (2020), determinaron la efectividad de la deltametrina, utilizada en mosquitos adultos como estrategia para evitar la propagación de la reproducción del *Ae. aegypti* en espacios periurbanos del Perú. Encontraron entre 10 y 20% de resistencia en las tres localidades evaluadas.



*Anopheles albimanus* presentó resistencia al insecticida piretroide deltametrina en más del 50% de las localidades estudiadas y al organofosforado malatión en el 100%. La alta resistencia al malatión posiblemente se deba a la presión de selección que han ejercido sobre estas localidades, la aplicación espacial con este compuesto, efectuada por las autoridades de salud. En este escenario, estos resultados pueden ser discutidos con Figueroa Acosta *et al.*, (2006) determinaron el nivel de resistencia al insecticida piretroide lambdacialotrina y al organofosforado pirimifosmetil, en *An. aquasalis* de Aragua, Venezuela.

Para lambdacialotrina 0,1 µg/mL se obtuvo un tiempo letal (TL98) de 140,7 minutos y para pirimifosmetil 0,1 µg/mL se obtuvo un TL98 de 93,0 minutos. Igualmente, Vargas *et al.*, (2006) determinaron los niveles de resistencia a temephos y deltametrina en dos poblaciones naturales de *An. albimanus* de Perú (Sullana y Tambogrande) Se identificó resistencia en las poblaciones de *An. albimanus* para deltametrina.

También Dzul *et al.*, (2006) diagnosticaron la resistencia a insecticidas y sus mecanismos en *An. albimanus* del sur de la Península de Yucatán (PY), México. Material y métodos. La F1 de *An. albimanus* colectados durante noviembre-diciembre de 2005 en seis localidades de los municipios Othón P. Blanco en Quintana Roo y Calakmul en Campeche, fue sometida a pruebas de susceptibilidad con deltametrina, DDT, pirimifos metil y bendiocarb. Se encontró resistencia al DDT y a deltametrina en las seis localidades y a pirimifos metil en solo una.

De modo similar Molina de Fernández y Figueroa Acosta (2009), evaluaron la expresión de resistencia a los insecticidas organofosforados fenitrotión y metilpirimifos, usados para el control de *An. aquasalis*, en cuatro localidades del estado Sucre, Venezuela. Se detectó resistencia en todas para ambos insecticidas.

Por otra parte, Cáceres *et al.*, (2011), realizaron un estudio sobre el estado de la sensibilidad de *Anopheles albimanus* a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides, en las localidades de Aguas Claras, Pintupo y Puente Bayano, ubicadas en la comarca indígena de Madugandí, Panamá, región con transmisión de malaria, donde éste es el vector principal. Las tres cepas de *An. albimanus* resultaron resistentes a deltametrina, lambdacialotrina, ciflutrina y cipermetrina, y sensibles a los fenitrotión, malatión, clorpirifos y a propoxur. Seguidamente Figueroa Acosta (2012), determinó la resistencia bioquímica In vivo e In vitro a insecticidas organosintéticos en *An. aquasalis* de Puerta Negra del estado Aragua, Venezuela, se encontró resistencia cruzada a los insecticidas organofosforados fenitrotión con valores de 63,93 minutos a 0,1 µg/ml, mientras que se observó en estado de alerta para cipermetrina, por lo que se presume haya resistencia cruzada entre DDT y piretroides considerando que ya ha sido detectada resistencia al DDT en esta región. Más adelante Pinto Caballero (2013), caracterizó la resistencia a insecticidas en *An. albimanus* en Tumbes, Perú, una zona dedicada al cultivo del arroz.

La especie resultó resistente a todos los insecticidas evaluados: alfacipermetrina, deltametrina, cipermetrina, malation, fenitrotion y bendiocarb. Por último, Figueroa Acosta y Molina de Fernández (2017), evaluaron la respuesta de *An. aquasalis* del estado Zulia al piretroide lamdacialotrina y al organofosforado fenitrotion, encontraron que resultó susceptible a lamdacialotrina pero resistente a fenitrotion.

El manejo de la resistencia a los insecticidas se ve complicado por el hecho de que la resistencia puede revestir diversas formas. En términos generales, los principales mecanismos de resistencia pueden ser divididos en dos grupos: resistencia metabólica y resistencia por alteración del sitio diana. La resistencia metabólica se debe a una modificación de los sistemas enzimáticos del mosquito por la cual este se desintoxica del insecticida con más rapidez de lo normal. La desintoxicación impide que el insecticida llegue al sitio de acción al que iba dirigido dentro del organismo del mosquito.

En el caso de los vectores del paludismo, se piensa que hay tres sistemas enzimáticos cuya intervención es importante para metabolizar los insecticidas: las esterasas, las monooxigenasas y la glutatión S-transferasas. La resistencia por alteración del sitio diana se produce cuando una mutación modifica el receptor proteínico que el insecticida está destinado a atacar. Cuando ello ocurre, el insecticida ya no puede unirse al que era su sitio diana en el receptor, y como consecuencia el insecto no resulta afectado por el insecticida, o lo resulta en menor medida. En el caso del DDT y los piretroides, la mutación, que tiene lugar en el receptor del canal del sodio, confiere lo que se denomina “resistencia knockdown” (mediada por los genes *kdr*).

En el caso de los organofosforados y los carbamatos, la mutación se produce en la proteína acetilcolinesterasa (un neurotransmisor) y confiere lo que suele denominarse resistencia Ace-1. El gen que codifica la resistencia al dieldrín (*rdl*) afecta al receptor del ácido gamma-aminobutírico y, según se ha comprobado, también confiere resistencia al fipronil.

## Conclusiones

Este estudio reveló que la resistencia a insecticidas (RI) es un fenómeno de naturaleza focal, que se presenta con bastante frecuencia en Ecuador. Esta resistencia se encuentra relacionada a la presión ejercida por los insecticidas en los últimos años.

Dicha presión ocurre cuando se implementan intervenciones tales como: uso de mosquiteros impregnados con insecticidas piretroides de larga duración, aplicación intradomiciliaria y espacial de insecticidas para el control de los vectores tanto de arbovirosis como de malaria, por los organismos de salud del país. Aunado a esto la aplicación de

insecticidas para uso agrícola y doméstico, utilizados de manera indiscriminada por las personas. Por esta razón la herramienta química debe ser empleada de manera responsable y precisa.

Finalmente, en el estado Ecuatoriano el uso sistemático y la presión ejercida por los insecticidas piretroides para tratar mosquiteros y el amplio uso de otras clases de insecticidas para el rociado de interiores, como compuestos organoclorados (DDT) y organofosforados, han contribuido a la aparición de resistencia a los insecticidas en varias especies de vectores.

## Recomendaciones

1. Establecer colonias de cada especie en condiciones de laboratorio, para que sirvan de cepas susceptibles referenciales para las pruebas biológicas y bioquímicas.
2. Efectuar seguimiento de la vigilancia de la resistencia, periódicamente en las poblaciones de campo de vectores, para evaluar los distintos grupos de insecticidas.
3. Alternar el uso de los insecticidas usados en salud pública, en las zonas estudiadas para disminuir la aparición de resistencia.
4. Realizar pruebas con sinergistas para determinar mecanismos de resistencia basado en enzimas IN VIVO.
5. Realizar pruebas confirmatorias empleando la herramienta bioquímica y molecular, para detectar mecanismos metabólicos de resistencia a insecticidas.
6. Llevar a cabo bioensayos en el campo que evalúen la eficacia del insecticida según las condiciones locales y con un programa de seguimiento a la calibración adecuada de equipos, vigilancia de dosis apropiadas y capacitación a quienes se encargan de aplicar los insecticidas.

## Consideraciones éticas

Todos los protocolos empleados en el estudio, han sido validados por los respectivos comités de expertos de organizaciones internacionales tales: como la Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud y Centro de Prevención y Control de Enfermedades.

## Conflictos de intereses

Los autores del trabajo declaramos que no existen conflictos de intereses.

## Agradecimientos

A todas las personas e instituciones que contribuyeron al desarrollo del proyecto.

## Referencias

- Bastidas Beltrán D.M., Figueroa Acosta, L.E., Pérez Pinto E. & Molina de Fernández D. (2015). Estado de la resistencia a insecticidas organosintéticos de *Aedes aegypti* de Coro, estado Falcón, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb* 55 (2): 128-136.
- Betancourt M. & Falcón, J.A. (2020). Arbovirus y salud pública. *Ciencia*, 71(1): 8-15.
- Bisset, J.A., Esteban, R., Rodríguez, M.M., Leyva, R., Hurtado, D., & Fuentes, I. (2014). Evaluación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Argentina. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 66(3): 360-369.
- Bisset, J.A., Rodríguez, M.M., Hurtado, D., Hernández, H., Valdéz, V., & Fuentes, I. (2016). Resistencia a insecticidas y sus mecanismos bioquímicos en *Aedes aegypti* del municipio Boyeros en los años 2010 y 2012. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 6(1): 1-10.
- Brogdon W. & McAllister J. (1998). Simplification of adult mosquito bioassays through use of time mortality determinations in glass bottles. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* 14: 159-154.
- Cáceres, L., Rovira, J., García, A., Torres, R. (2011). Determinación de la resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides en tres poblaciones de *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) de Panamá. *Biomédica* 31: 419-27.

- Conde, M., Orjuela, L., Castellanos, C., Herrera-Varela, M., Licastro, S. & Quiñones, M. (2015). Evaluación de la sensibilidad a insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del departamento de Caldas, Colombia, en 2007 y 2011. *Biomédica* 35:43-52.
- Cova-Garcia, P. (1961). Notas sobre los anofelinos de Venezuela y su identificación. 2nd. ed. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social., Caracas.
- Dzul, F., Penilla R. & Rodríguez, A. (2007). Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Anopheles albimanus* del sur de la Península de Yucatán, México. *Salud Publica México*, 49: 302-311.
- Faran M. E. & Linthicum K. J. (1981). A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (Nyssorhynchus) (Diptera: Culicidae). *Mosq. Syst.* 13: 1-81.
- Figueroa Acosta L. E., Marín Álvarez M., Pérez Pinto E. & Molina de Fernández D. (2006). Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado Aragua. *Bol. Mal. Salud Amb.* 46 (1): 39-47.
- Figueroa Acosta, L.E. (2012). Resistencia Bioquímica del *Anopheles Aquasalis* a Insecticidas Organosintéticos en Zonas Agrícolas del Estado Aragua, Venezuela. *INFORMED* 14 (6): 265-278.
- Figueroa Acosta, LE. & Molina de Fernández, D. (2017). Respuesta de *Anopheles aquasalis* Curry 1932 ( Diptera: Culicidae) a insecticidas organosintéticos del estado Zulia, Venezuela. editorial académica española, ISBN 978-3-330-09403-1
- Forattini O. P., Kakitani I., Alvarenga M. M. G. R. & de Brito M. (1998). Formas imaturas de anofelineos em recipientes artificiais. *Rev. Saúde Pública.* 32: 517-518.
- González, C.R.; Jercic, M.I.; Reyes, C.; Mejias, G.; Plavetic, C. & Parra, A. (2008). Clave pictórica para la identificación de géneros de Culicidae (Diptera) de Chile con impacto en la salud pública. *Acta Entomol Chile.* 32 (1-2): 35-42.
- Ministerio de Salud Pública de Ecuador. (2020). Gaceta oficial, enfermedades vectoriales, semana 50, año 2020.
- Molina de Fernández D. & Figueroa Acosta. L. E. (2009). Resistencia metabólica a Insecticidas Organofosforados en *Anopheles aquasalis* Curry 1932, Municipio Libertador, estado Sucre, Venezuela. *Biomédica.* 29(3): 604-615.
- Molina de Fernández, D., Molina, N., Bastidas Beltrán, D.M., Figueroa Acosta, L.E., Navarro, J.C., Guerra, L.A., Sánchez, V., & Ramírez, R. (2016). Estudio preliminar sobre el comportamiento de *Aedes albopictus* de la región central de Venezuela a insecticidas químicos. *Bol. Mal. Salud Amb* 56 (1): 52-68.
- Molina de Fernández, D., Bastidas, D. & Figueroa Acosta, LE. (2013). Malation vs. *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) de diferentes regiones de Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb* 53(1):46-55.
- Navarro C. J. C. (1996). Actualización taxonómica de la tribu Anophelini de Venezuela, con nueva clave para la identificación de larvas de 4to estadio. *Bol. Dir. Malariaol. y San. Amb.* 35: 25-43.
- Organización Mundial de la Salud (O.M.S). (2016). Programa mundial sobre el paludismo. Procedimientos de las pruebas para la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en los mosquitos vectores del paludismo. Ginebra, Suiza.
- Organización Mundial de la Salud (O.M.S). (2020). Reporte Mundial sobre la malaria 2020. Documento en línea: <http://www.who.org/AD/DPC/CD/mal-world-rpt-2020.htm> (Consulta: Enero, 13, 2021).
- Organización Panamericana de la Salud. (2019). Documento operativo de aplicación del manejo integrado de vectores adaptado al contexto de las Américas. Washington, D.C.
- Pérez, E. & Molina de Fernández, D. (2009) Resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb* 49:143-150.
- Perez, M. (2017). Evaluación del temefos y piriproxifeno para el control de larvas de *Ae. aegypti* en condiciones de laboratorio. *Horiz. Med.* 17(4):24-29.
- Pinto Caballero, J. (2013). Caracterización de resistencia del *Anopheles albimanus* en Tumbes. Iniciativa Amazónica contra la malaria (AMI) Red Amazónica de Vigilancia de la Resistencia a los Antimalaricos (RAVREDA) XXII Reunión Anual de Evaluación Lima, Perú 9 al 11 de abril del 2013.

- Rodríguez, M.M., Bisset, J.A., Hurtado, D., Montada, D., Leyva, M., Castex, M., Hernández, H., O'Farril, L.A., & Fuentes, I. (2016). Estado de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del municipio Pinar del Río. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 68(2): 125-135.
- Rubio-Palis Y. (2000). *Anopheles (Nyssorhynchus) de Venezuela: Taxonomía, Bionomía, Ecología e Importancia Médica*. Publicaciones del Bol. Malariol. San. Amb. Maracay. 124p.
- Santacoloma, L., Chaves, B. & Brochero, H. (2010). Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. *Rev. Pan. Salud Públ.* 27: 66-73.
- Sistema de Vigilancia de la Resistencia a los Insecticidas (SIRI). (2019). Informe técnico. Ministerio de Salud Pública de Ecuador (datos no publicados).
- Vargas, F., Córdova, O. & Alvarado, A. (2006). Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano. *Rev. Perú. Med Exp. Salud Pública* 23: 259.
- Villamar, M.E., Romero, N.L. & Espinoza, Y.P. (2020). Estrategia para evitar la propagación en la reproducción del *Aedes Aegypti* en espacios periurbanos. *Enfermería Investiga* 5(1): 10-16.
- WHO (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.807. 6p. Geneva, Switzerland.