

Estado de la resistencia a insecticidas organosintéticos de *Aedes aegypti* de Coro, estado Falcon, Venezuela

Status of resistance to organo-synthetic insecticides by an Aedes aegypti strain from Coro, Falcon state, Venezuela

Danny Bastidas Beltrán¹, Luisa Figueroa Acosta¹, Enrique Pérez Pinto¹ & Darjaniva Molina Picón de Fernández^{1*}

RESUMEN

Aedes aegypti es una de las especies más estudiadas en salud pública por ser vector primario en el ser humano del virus dengue, fiebre amarilla, chikungunya y zika. Se evaluó 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. Se realizaron los bioensayos en botellas tratadas con insecticidas, según el método del CDC e igualmente se identificaron los mecanismos de resistencia in vitro a través de pruebas bioquímicas. 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. En cuanto a las pruebas bioquímicas se encontraron valores elevados para esterasas alfa (α) y beta (β) con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) al comparar con la cepa susceptible. La acetilcolinesterasa inhibida (Achei) a pesar de encontrar diferencias significativas con la cepa Rockefeller los valores están por debajo de la misma. La resistencia de la cepa Coro a los insecticidas organofosforados parece asociarse con el incremento de las esterasas alfa (α) y beta (β). Los resultados obtenidos representan un aporte valioso para monitorear la resistencia de *Ae. aegypti* a nivel local dentro de un programa de manejo integrado de vectores.

Palabras clave: esterasas, acetilcolinesterasa, organofosforados, resistencia a insecticidas.

INTRODUCCIÓN

Los mosquitos constituyen uno de los grupos de insectos de mayor importancia médica

SUMMARY

Aedes aegypti is one of the most studied species in public health as the primary vector in humans the dengue, chikungunya, zika virus and yellow fever. Response to organophosphorus insecticides malathion, fenitrothion, methyl-pirimiphos and carbamate propoxur was evaluated and the pyrethroid lambda-field strain called Coro, made up of a pool of material (immature) collected in neighborhoods with high casuistry of dengue Coro located in Miranda municipality, Falcón state, Venezuela; compared with the susceptible Rockefeller. Bioassays in insecticide-treated bottles were performed according to the method of the CDC and also the mechanisms of resistance in vitro were identified by biochemical tests. The resistant strain was evaluated to malathion (45 min), fenitrothion (75 min) methyl-pirimiphos (75 min) compared to the susceptible strain with 30, 45 and 45 min respectively, with mortality rates of 89 time threshold, 2% malathion, fenitrothion 55.7%, 56.6%, pirimiphos-methyl. Susceptibility to propoxur carbamate and pyrethroid lambda was found. As for the high values for biochemical tests esterases alpha (α) and beta (β) with statistically significant differences ($P < 0.05$) compared with the susceptible strain were found. Inhibited acetylcholinesterase (Achei) despite significant differences with the Rockefeller strain values are below the same acetylcholinesterase. Falcon resistance to organophosphate insecticides strain appears to be associated with increased alpha esterases (α) and beta (β). The results represent a valuable contribution to monitor the resistance of *Ae. aegypti* locally within a program of integrated vector management.

Key words: esterases, acetylcholinesterase, organophosphate, insecticide resistance.

por su acción como vectores biológicos de numerosas enfermedades. La especie *Aedes aegypti* perteneciente al orden Díptera, familia Culicidae y subfamilia Culicinae, se distribuye en la mayor parte

¹ Centro de Estudio de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental, Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldón” (MPPS). Maracay, estado Aragua. Venezuela.

*Autora de correspondencia: darja2410@gmail.com

de las áreas tropicales o subtropicales del planeta, comprendidas entre los 45° de latitud norte y los 35° de latitud sur, en las zonas isotermales intermedias a los 20°C (Salvatella, 2005). Es el vector primario en el ser humano de los flavivirus dengue (DEN), fiebre amarilla (VFA), alfavirus Chikungunya (CHIKV) y Zika (Centro de Control de Enfermedades, CDC, 2010; Organización Mundial de la Salud, OMS, 2013; 2014). En Venezuela, desde la primera epidemia de dengue en 1989-1990, se han reportado cientos de miles de casos hasta la fecha. De hecho entre el 2009-2013 se reportaron más de 335 mil casos, de los cuales en el estado Falcón se reportaron más de 11.500 (Ministerio del Poder Popular para la Salud, MPPS, 2010; 2012 y 2013). Debido a las cifras señaladas y considerando el carácter endémico del dengue en nuestro país y la ausencia de una vacuna contra este virus, las estrategias de control de *Ae. aegypti* están basadas en el manejo integrado del vector, que implica el saneamiento ambiental, la educación sanitaria, la participación social y el control químico vectorial a través del uso de insecticidas durante las epidemias (Rodríguez, 2002). El malatión y otros organofosforados han sido usados como adulticidas en tratamiento espacial con el fin de reducir las densidades del vector. También se ha usado temefos granulado en recipientes de agua doméstica para control de hábitats larvales, y los insecticidas piretroides como adulticidas, sobre todo en casos de emergencia (Georghiouet *et al.*, 1987; Gratz., 1991). Sin embargo el uso de la herramienta química en el control de *Ae. aegypti*, ha traído como consecuencia la selección de poblaciones del vector resistentes a insecticidas. En Cuba se ha reportado alta resistencia en larvas de *Ae. aegypti* a temefos y a fenitron la cual está asociada con las enzimas esterasas y oxidasas (Bisset *et al.*, 2004); para el estado adulto, se observó resistencia a malatión, fenitrotion y propoxur (Rodríguez *et al.*, 2004). En México los niveles elevados de esterasas sugieren resistencia a organofosforados, carbamatos y algunos insecticidas piretroides (Flores *et al.*, 2007). Así mismo Pérez *et al.*, (2009), estudiaron la resistencia focal a insecticidas organosintéticos en *Ae. aegypti* de diferentes municipios del estado Aragua, Venezuela, donde evaluaron los insecticidas organofosforados: malatión, pirimifosmetil, y temefos y el carbamato propoxur, encontrando resistencia al malatión en los tres municipios evaluados y susceptibilidad a metilpirimifos, temefos y al carbamato propoxur.

El presente estudio consiste en analizar la resistencia de *Ae. aegypti* a los diferentes insecticidas haciendo uso de herramientas biológicas y bioquímicas, a fin de ofrecer información valiosa desde el punto de vista químico, que pueda incorporarse en los programas de manejo integrado del vector.

MATERIALES Y MÉTODOS

Insectos

La muestra para los bioensayos estuvo comprendida por mosquitos adultos de *Ae. aegypti* obtenidos a partir de material inmaduro (larvas y pupas) recolectado de recipientes en los que el agua se conservó por períodos superiores a una semana, sin ser renovada; tales recipientes incluyen: tanques sin tapa, pipotes, latas, floreros y otros semejantes, ubicados en los solares y preferiblemente en lugares sombreados de los cementerios y algunos jardines de las diferentes localidades, seleccionadas por ser los primeros lugares en reportar la presencia de *Ae. aegypti*. Para ello se aplicaron los métodos sugeridos por la Organización Mundial de la Salud, utilizando cucharones, goteros y succionadores (OMS, 1993). El material fue trasladado al Laboratorio de Biología de Vectores y Reservorios del Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA) IAE “Dr. Arnoldo Gabaldón” para su desarrollo.

Aedes aegypti cepas de campo: De las localidades Pantano arriba, Pantano abajo, Los Orumos, Urb. Los Médanos, Barrio La Cañada, Barrio Zumurucuaire y Chimpire.

Ae. aegypti cepa Rockefeller: Cepa susceptible suministrada por el Centro de Control de enfermedades (CDC), San Juan de Puerto Rico.

Insecticidas

Fueron evaluados los insecticidas: organofosforados: malatión (96%), fenitrotión (95%) y pirimifos-metil (89,8%); carbamato: propoxur (99,3%) y el piretroide lambdacialotrina (70%), en presentación grado técnico, sin valor comercial, los mismos fueron suministrados por Insecticidas Internacionales Compañía Anónima (INICA), Cagua, estado Aragua, Venezuela.

Pruebas Biológicas

Se realizaron siguiendo el método de las botellas tratadas con insecticidas, del CDC (Brogdon & McAllister, 1998). Los mosquitos adultos *Ae. aegypti* fueron expuestos a botellas de vidrio tipo Wheaton de 250 mL, tratadas con soluciones cetónicas de insecticidas, las cuales se usaron como cámaras de prueba para detectar la resistencia o susceptibilidad a los insecticidas en mosquitos adultos. Estas fueron preparadas en el Laboratorio de Evaluación de Insecticidas del CEEESA, IAE “Dr. Arnoldo Gabaldon” siguiendo metodología estandarizada por Figueroa *et al.*, 2006 y evaluadas a la dosis diagnósticas y el límite o umbral de resistencia, obtenidos en la cepa Rockefeller en el laboratorio, así tenemos que: malatión (100 µg en 30 minutos), fenitrotión (100 µg en 45 minutos), pirimifosmetil (100 µg en 45 minutos), lambdacialotrina (6,25 µg en 30 minutos), y propoxur (6,25 µg en 15 minutos), (Molina de Fernández *et al.*, 2013).

Los ensayos se realizaron a temperaturas aproximadas de 23°C±2 y humedad relativa de 55%±5. Fueron expuestos aproximadamente 15±5 mosquitos adultos hembras por botella y se evaluaron cuatro repeticiones por cada concentración de insecticida y dos repeticiones como grupo control. Los ensayos fueron replicados tres veces el mismo día de ejecución del bioensayo durante el tiempo en el que se logró el 100% de mortalidad. De esta manera se determinó el efecto del insecticida en función del tiempo de exposición y de acuerdo a la mortalidad del control se planteó corregir con la fórmula de Abbot (1925). Se relacionaron las variables tiempo-mortalidad. Para ello se graficaron los registros de porcentajes de mortalidad en el eje de las abscisas (X) y el tiempo en el eje de las ordenadas (Y), haciendo uso del Programa Excel 97-2003. Dicho análisis arrojó la línea gráfica de la tasa de mortalidad de la cepa a cada insecticida. Estas fueron graficadas en el mismo plano junto con la línea de base de susceptibilidad del respectivo insecticida; correspondiente a las dosis diagnósticas y límite umbral de resistencia. Mortalidad menor al 80%, se catalogó como resistente, entre 80% y 97% como población en vigilancia y 98% o más como susceptible. (IRAC, 2011; WHO, 1998). Cuando en el grupo control se registró una mortalidad entre 5 y 20% se aplicó la fórmula de Abbott (1925) para su corrección.

Criterio de mortalidad

Mosquitos “muertos” son los que presentan ausencia de movimiento, derribo o incapacidad para caminar. Mosquitos inmovilizados que se deslizan por la curvatura de la botella al rotarla, deben ser clasificados como “muertos”. El porcentaje de mosquitos muertos en el tiempo diagnóstico (mosquitos muertos/total de mosquitos en el ensayo) es el valor más importante en el gráfico (CDC, 2015).

Pruebas Bioquímicas

Para determinar los mecanismos bioquímicos asociados con la pérdida de susceptibilidad a insecticidas, se realizaron pruebas “*in vitro*” de mecanismos enzimáticos involucrados en los sistemas de desintoxicación en la resistencia metabólica a insecticidas. (Brogdon *et al.*, 1989; Figueroa *et al.*, 2006).

Cada mosquito fue triturado en 50 µl de una solución tampón de fosfato de sodio (0,05 M; pH 7,5) y diluido a 0,5 mL del mismo tampón. Se tomaron alícuotas de 50 µL de cada muestra que fueron colocadas en placas para microtitulación de 96 pocillos. Se evaluaron cuatro enzimas diferentes que confieren resistencia a insecticidas; esterasas alfa (α); esterasas beta (β); acetilcolinesterasa (AChe); acetilcolinesterasa insensible (ACHei).

Los sustratos utilizados en cada ensayo incluyen α y β-naftil acetato para las esterasas, el yoduro de acetiltiocolina se usó para medir la concentración de la acetilcolinesterasa sensible, para la acetilcolinesterasa insensible se añadió el insecticida carbamato propoxur a la muestra. La absorbancia fue medida en un lector de ELISA (Ensayo Inmuno Absorbente Ligado a Enzimas), Multiskan Plus de Fisher Scientific, empleando filtros de 620 nm para las (α) y (β) esterasas y filtro de 405 nm para las AChE y AChEi. A los datos obtenidos se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis ($P < 0,05$) a través del programa Statistix versión 8.0 (Sokal & Rolf, 1980).

Identificación de esterasas por electroforesis

La electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), se utiliza mayormente para la separación de proteínas cargadas, por migración en un campo

eléctrico. En el presente trabajo la electroforesis se realizó siguiendo el método de García-Segua *et al.*, 2002, para lo cual se prepararon las muestras en una proporción de 1:1; 10 μ L de homogenato con 10 μ L de amortiguador de carga, un total de 20 μ L. Luego se preparó el gel tampón colocándolo en la placa y esperando la polimerización del mismo. Seguidamente se preparó el gel de corrida, añadiéndolo a la placa nuevamente, colocando el peine separador. Una vez ocurrida la polimerización se retiró el peine, y el gel del soporte. Se llenó la cámara con amortiguador de corrida, se colocó el gel dentro de esta y se colocaron las muestras en cada pocillo correspondiente; la corrida a 150 voltios se llevó a cabo entre 1 hora ó 1 hora y 20 minutos, aproximadamente. Posteriormente, se sacó el gel y se colocó en un recipiente que contenía 50 ml de substrato, se incubó por 20 minutos luego se añadió el colorante Fast Blue por 5 minutos; se enjuagó y se procedió a sumergirlo en solución fijadora 50 ml por 20 minutos; luego se procedió a secar a 80°C por 1 hora y 45 minutos respectivamente, se retiraron y cuantificaron las bandas. Para la identificación de esterazas, se determinó la razón de movilidad (Rf), dividiendo la distancia recorrida de cada una de las bandas de la muestra, entre la distancia recorrida por el indicador, y se buscó identificar las esterazas A4 y B2, que han sido reportadas como mecanismo de resistencia en otras especies de importancia médica.

RESULTADOS

Pruebas Biológicas

En el tratamiento control no se encontró mortalidad superior al 5%.

En las Fig. 1, 2 y 3 se presentan los resultados al evaluar los insecticidas organofosforados malatión, fenitrotion y pirimifos-metil a una concentración de 100 μ g/mL, cada uno. La cepa Coro presentó el 100% de mortalidad a los 45 min para malatión (Fig. 1); a los 75 min para fenitrotión (Fig. 2) y pirimifos-metil (Fig. 3), con porcentajes de mortalidad en el tiempo umbral de 89,2% malation; 55,7% fenitrotion; 56,6%, pirimifos-metil, con respecto a la cepa susceptible que tuvo tiempos de 30, 45 y 45 min. respectivamente. Dichos datos indican que la cepa Coro es resistente a todos los insecticidas organofosforados evaluados.

En la Fig. 4 se presentan los resultados al evaluar el insecticida piretroide lambdacialotrina a una concentración de 6,25 μ g/mL. La cepa Coro, presentó el 100% de mortalidad a los 30 min., no superando el umbral de resistencia por lo que es susceptible a dicho insecticida.

En la Fig. 5 se presentan los resultados al evaluar el insecticida carbamato propoxur a una concentración de 6,25 μ g/mL, la cepa Coro, alcanzó el 100% de mortalidad a los 15 min., no superando el umbral de resistencia por lo que esta cepa resultó susceptible a este insecticida.

Pruebas Bioquímicas

En la Tabla I se presenta un resumen de los resultados de los mecanismos de resistencia a insecticidas “*in vitro*”, representados por la media de las densidades ópticas (DO) y sus valores de desviación estándar para cada una de las determinaciones realizadas. Se muestran los valores de la cepa referencial susceptible Rockefeller y la cepa Coro encontrando que los niveles de esterazas (α) y (β) fueron elevados y el análisis de Kruskal Wallis demostró que existen diferencias estadísticamente significativas ($P<0,05$) al comparar con la cepa susceptible. En cuanto a la AChei a pesar de encontrar diferencias estadísticamente significativas con la cepa Rockefeller, los valores están por debajo de la misma.

Identificación de esterazas por electroforésis

En la Fig. 6 se presentan los patrones electroforéticos para las esterazas (α) y (β), donde se pueden observar 3 patrones esterazas, con 1, 2 y 3 bandas, en total 3 patrones de bandas distintas, con valores de Rf entre 0,2 a 0,7; con variable intensidad del color de las bandas.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la cepa *Ae. aegypti* Coro presentó resistencia a los insecticidas organofosforados: malatión, fenitrotión y pirimifos-metil, evidenciándose una marcada diferencia en las líneas gráficas obtenidas al comparar con las de la cepa susceptible Rockefeller. Se demostró que la resistencia a los organofosforados estudiados pudiera ser por el incremento de los niveles de esterazas como

Fig. 1. Datos tiempo-mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y una cepa de campo de Coro, estado Falcón expuestos al insecticida organofosforado malation a una concentración de 100 µg/mL por botella.

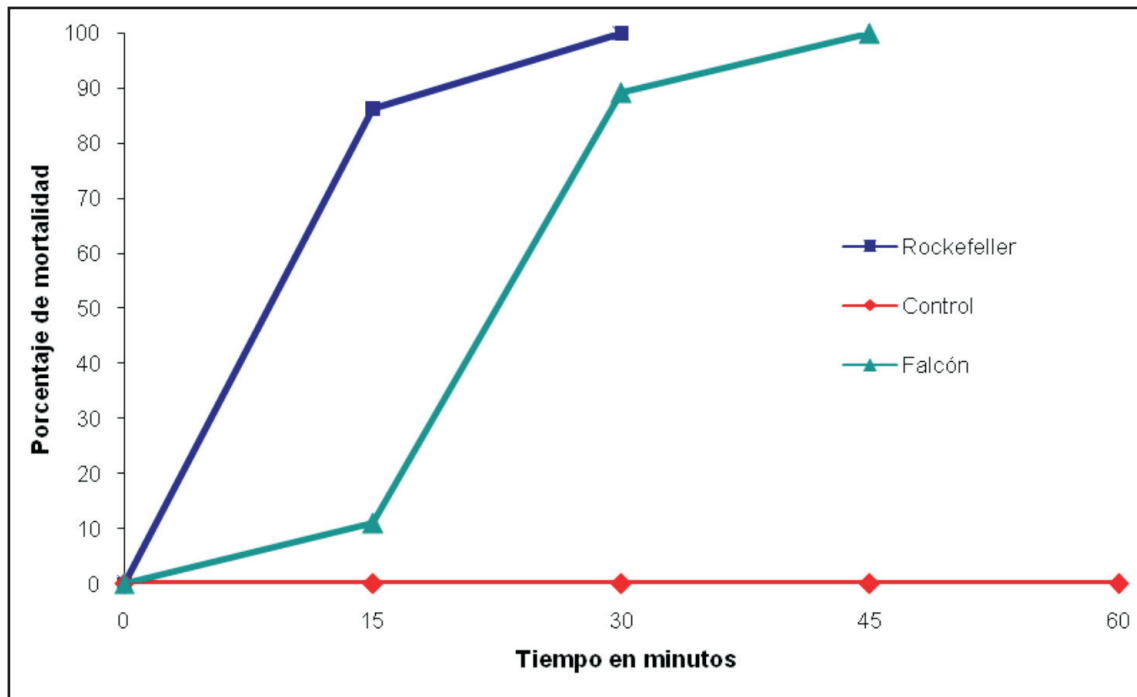


Fig. 2. Datos tiempo-mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y una cepa de campo de Coro, estado Falcón expuestos al insecticida organofosforado fenitrotión a una concentración de 100 µg/mL por botella.

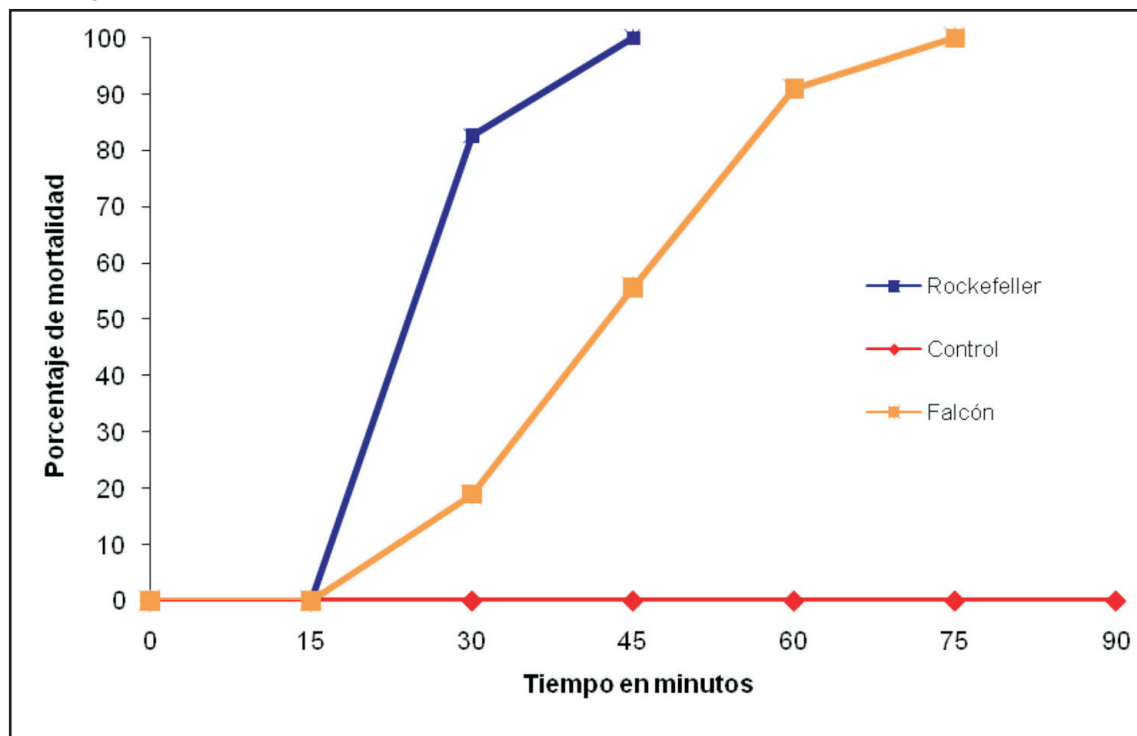


Fig. 3. Datos tiempo-mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y una cepa de campo de Coro, estado Falcón, expuestos al insecticida organofosforado metil-pirimifos a una concentración de 100 µg/mL por botella.

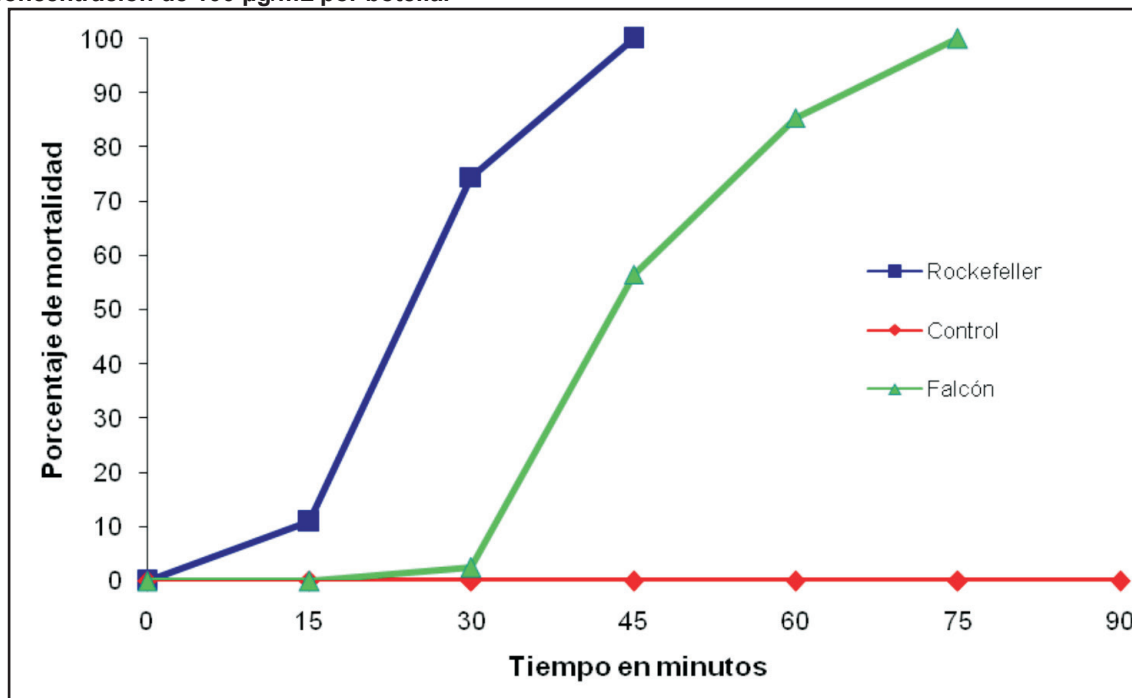


Fig. 4. Datos tiempo-mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y una cepa de campo de Coro, estado Falcón, expuestos al insecticida piretroide lambdacialotrina a una concentración de 6,25 µg/mL por botella.

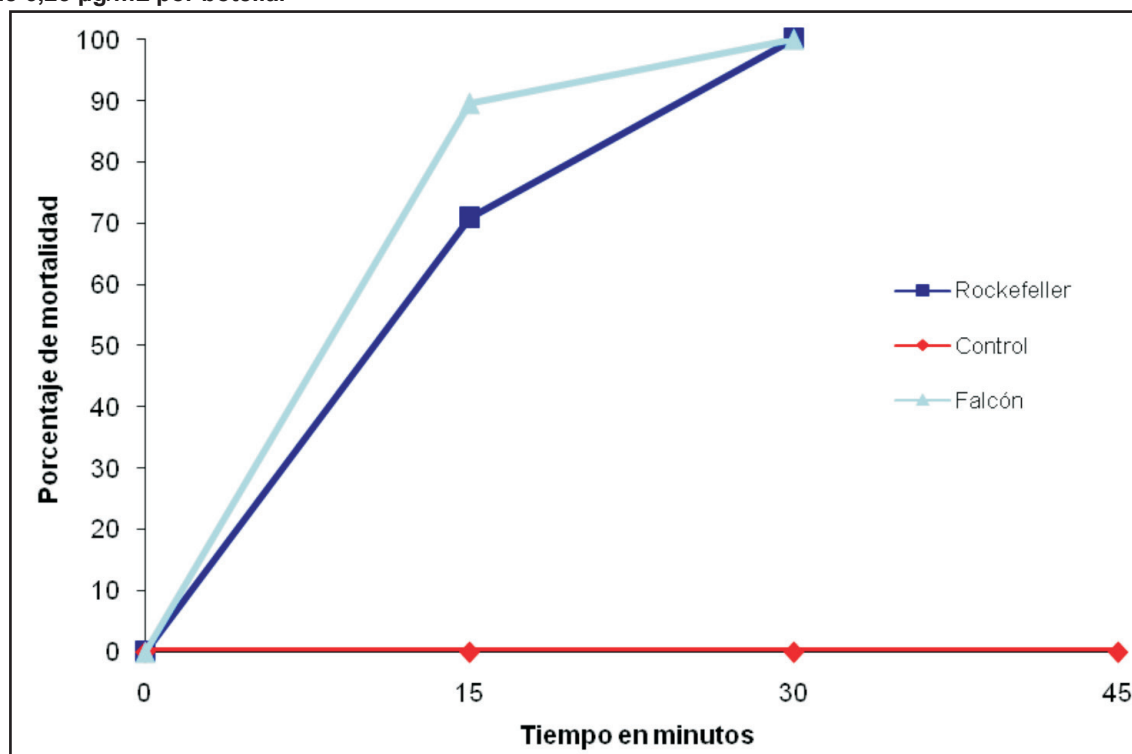


Fig. 5. Datos tiempo-mortalidad en adultos de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y una cepa de campo de Coro, estado Falcón, expuestos al insecticida carbamato propoxur a una concentración de 6,25 µg/mL por botella.

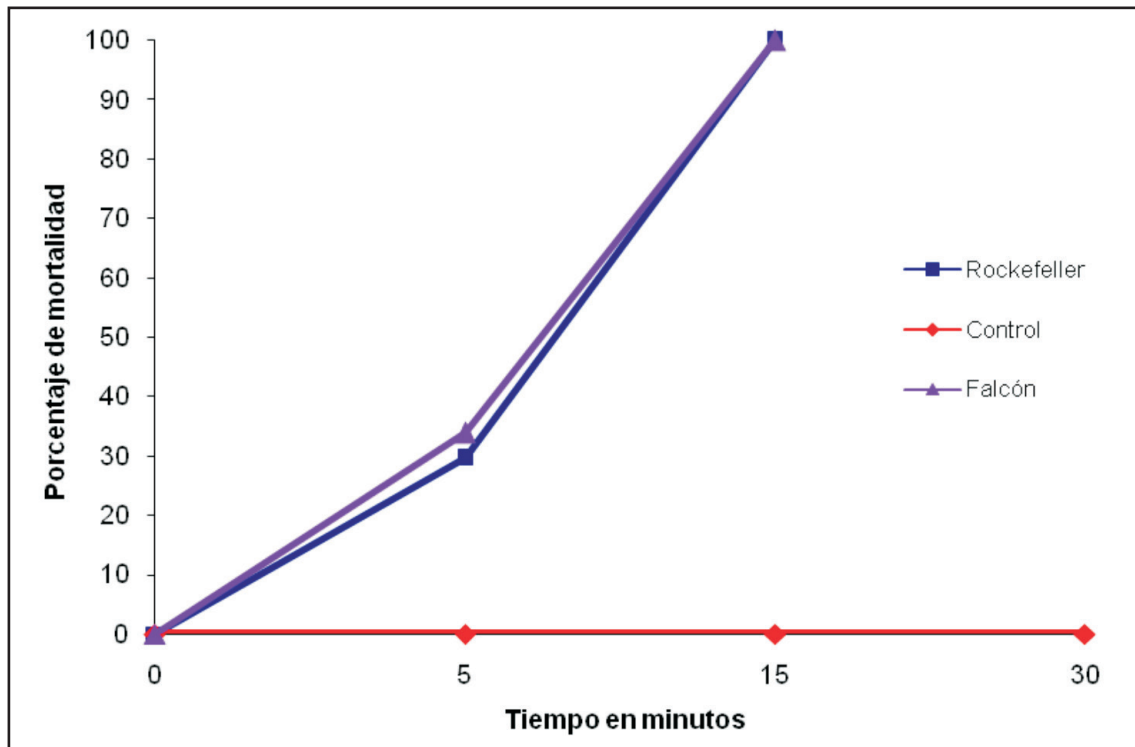


Fig. 6. Patrones electroforéticos en *Ae. aegypti* de Coro (hembras y machos), Municipio Miranda, Estado Falcón.

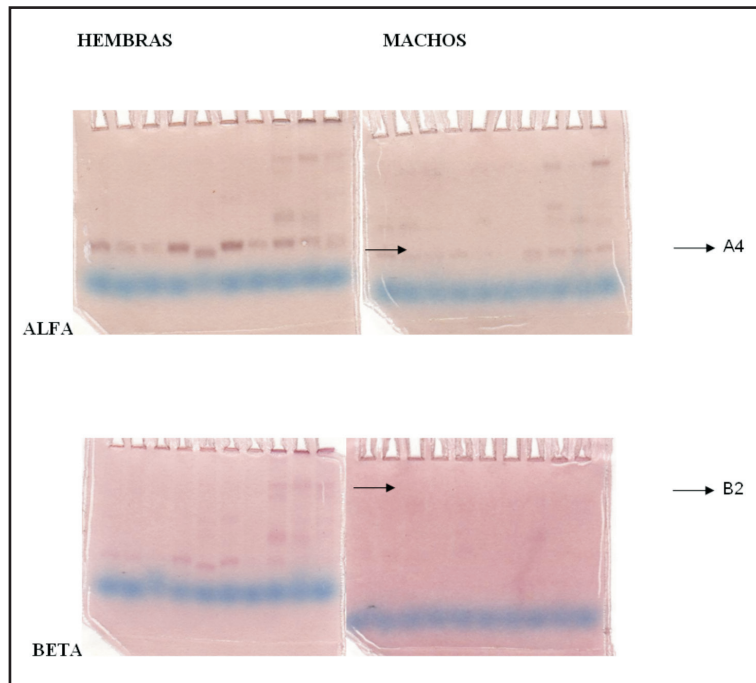


Tabla I. Mecanismos de resistencia “in vitro” (media y desviación estándar) de *Ae. aegypti* cepa susceptible (Rockefeller) y una cepa de campo de Coro Falcón.

Cepas	Mecanismos Enzimáticos Evaluados		
	Esterasas alfa (α)	Esterasas beta (β)	AChei Insensible
Rockefeller	1,163 +/- 0,080	1,063 +/- 0,087	0,110 +/-0,026
Falcón	1,641 +/- 0,091	1,634 +/- 0,111	0,107 +/-0,104

mecanismo de resistencia metabólica dado por los altos valores obtenidos en las pruebas bioquímicas de las esterasas (α) y (β) (Flores *et al.*, 2007). La AChei no está involucrada como mecanismo de resistencia a los insecticidas organofosforados a pesar de encontrar diferencias significativas ($P < 0,05$), al comparar con la cepa Rockefeller, se encontraron valores inferiores de los presentados por esta cepa. Diversos estudios han demostrado resistencia a los insecticidas organofosforados en *Anopheles* (Figuroa *et al.*, 2006) *Culex* (Reyes & Mark, 2000) en *Ae. aegypti* (Georghiou *et al.*, 1987). En 1960 se reportaron los primeros casos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos en *Ae. aegypti* (Fox *et al.*, 1961), reportaron una cepa en Puerto Rico resistente a malation y diazinon. La capacidad de resistir al malation se asoció con la destoxicación mediada por enzimas de actividad específica: carboxilesterasa lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio. Molina de Fernández *et al.* (1995), así mismo reportaron que en cepas de *Ae. aegypti* de cinco estados venezolanos (Aragua, Barinas, Lara, Miranda y Táchira), se demostró que los organofosforados malation y fenitrotión continuaban siendo eficaces para el control en zonas urbanas a pesar de haber sido ampliamente usados para el control de *Ae. aegypti* en Venezuela.

El origen de esta resistencia metabólica pudiera ser el resultado de las medidas de control aplicadas al vector *Ae. aegypti* en el municipio Miranda, Coro, estado Falcón las cuales incluyen el uso de malation y fenitrotión (fenitrotión) para el control de adultos según datos suministrados por la Dirección de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria de la Gobernación Bolivariana del Estado Falcón. Esta presión con el malation pudo haber producido genes de resistencia que favorece resistencia cruzada a fenitrotión y pirimifos-metil, lo cual se evidenció en dicho estudio. Se encontró susceptibilidad al insecticida piretroide lambdacialotrina y al carbamato

propoxur. Estudios de evaluación de la resistencia a insecticidas han encontrado susceptibilidad a insecticidas piretroides tal es el caso de Vargas *et al.* (2006) y Bisset *et al.* (2009) por lo que este insecticida al igual que el carbamato propoxur son buenos candidatos para emplear en las estrategias de control de este vector. Más recientemente, Molina de Fernández *et al.* (2013), publicaron un estudio donde evaluaron mosquitos provenientes de zonas urbanas con alta casuística de dengue de los estados: Amazonas, Aragua, Bolívar, Lara, Mérida y Zulia, para determinar el status de susceptibilidad en este vector al malation, en comparación con la cepa susceptible Rockefeller. Los resultados de los bioensayos mostraron que existe susceptibilidad a malation, lo cual fue confirmado por pruebas bioquímicas. Los datos encontrados en este estudio, sugieren que una estrategia de manejo de insecticidas es necesaria para implementar y mantener a largo plazo la susceptibilidad, tratando de revertir la resistencia encontrada en Coro estado Falcón.

Los análisis por medio de electroforésis, revelaron diversas combinaciones de bandas, tanto de esterasas alfa como de esterasas beta. No obstante, se encontró que estaba presente una banda correspondiente con la llamada B2 ($R_f=0,2$) y otra banda correspondiente con la llamada A4 ($R_f=0,7$), ambas están reportadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados, en varias especies de mosquitos vectores de enfermedades. Estos datos son el primer reporte de zimogramas de esterasas(α) y (β), en *Ae. aegypti* de Coro, Falcón, y son un aporte valioso, que pone a disposición una herramienta bioquímica, para confirmar resistencia a insecticidas por bioensayos biológicos. Estos resultados concuerdan con los reportados por Rodríguez *et al.*, 2000, quienes encontraron que todas las cepas evaluadas de *Ae. aegypti* de varios países de Latino América que incluyen a Venezuela, presentaban una banda fuertemente teñida de una

esterasa A4, que estuvo asociada con la resistencia a insecticidas organofosforados, usados en los programas de control para esta especie. Así mismo Bisset *et al.*, 2001, reporta la misma banda de esterasa A4, para cepas de *Ae. aegypti*, provenientes de varios estados de Venezuela y una cepa de Santiago de Cuba. También Vargas *et al.*, 2006, identificaron la esterasa B2 en *Ae. aegypti* de Perú asociada con resistencia a organofosforados, encontrada en bioensayos “in vivo”. Finalmente Rodríguez *et al.*, 2007, en ocho países de Latino América incluyendo Venezuela, en geles de poliacrilamida, detectaron la presencia de una banda fuertemente teñida de esterasa A4, asociada con resistencia al organofosforado temefos en larvas de *Ae. aegypti*, y con resistencia en adultos a piretroides.

Sobre la base de los resultados obtenidos, *Ae. aegypti* de Coro, Falcón, muestra resistencia a los organofosforados malatión, fenitrotión y pirimifos metil y susceptibilidad al piretroide lambdacialotrina y al carbamato propoxur, por lo que se recomienda establecer estrategias de control, utilizando el piretroide y/o el carbamato en esquemas de rotación, alternando con insecticidas que posean diferentes mecanismos de detoxificación, aplicando estrategias para el control focal de *Ae. aegypti*.

Conflicto de intereses

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

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a: los árbitros que permitieron mejorar el trabajo, la Dirección de Investigación del Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldón” (IAE), a través de la Directora Encargada Dra. María Naranjo, por su valiosa gestión en el apoyo logístico; al personal del Centro de Estudio de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA) adscrito al IAE, especialmente al personal de Entomología y Laboratorio de Biología de Vectores y Reservorios. Este trabajo fue financiado por el IAE, Ministerio del Poder Popular Para la Salud y Ministerio del Poder Popular Para Ciencia, Tecnología e Innovación, a través del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT); Proyecto Misión Ciencia N° 2008000911-1.

REFERENCIAS

- Abbott W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18**: 265-267.
- Bisset J., Rodríguez M., Fernández D. & Pérez O. (2004). Estado de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en larvas del municipio Playa, colectadas durante la etapa intensiva contra el *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, 2001-2002. *Rev. Cubana Med. Trop.* **56**: 61-6.
- Bisset J., Rodríguez M., San Martín J., Romero J. & Montoya R. (2009). Evaluación de la Resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* del Salvador. *Rev. Panam. Salud Pública.* **26**: 229-234.
- Bisset J., Rodríguez M., Molina D., Díaz C. & Soca A. (2001). Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. *Rev. Cubana Med. Trop.* **53**: 37-43.
- Brogdon W., Beach R., Stewart J. & Castanaza L. (1989). Análisis por ensayo de microplacas de la distribución de la resistencia de *Anopheles albimanus* a organofosforados y carbamatos en Guatemala. *Bol. San. Panam.* **106**: 139-147.
- 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.
- Centro de Control de Enfermedades (CDC). (2010). *Hoja de datos sobre el dengue*. Documento en línea: <http://www.cdc.gov/spanish/enfermedades/dengue/HojaDatos.htm> (Consultado: 2014 Junio 25).
- National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2015). *Evaluating mosquitoes for insecticide resistance: Ensinovia Web*. Disponible en: <http://www.cdc.gov/malaria> (Consultado: 2015 Diciembre 13).
- Figuerola 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**: 39-47.
- Flores A., Salomon J., Fernandez I., Ponce G., Loaiza M., Lozano S., *et al.* (2007). Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L) from Quintana Roo, southern Mexico. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* **22**: 672-677.
- Fox I. & García-Mola I. (1961). Multi-resistant *Aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgin islands. *Science.* **233**: 6.
- García-Segua J., Gavilanes J., Martínez A., Montero F., Oñaderra M. & Vivanco F. (2002). *Técnicas instrumentales de análisis bioquímica*. España: Síntesis, SA.
- Georghiou G. P., Wirth M., Tran H., Saume F. & Knudsen A. B. (1987). Potential for organophosphate resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean area and neighboring countries. *J. Med. Entomol.* **24**: 290-294.
- Gratz N. G. (1991). Emergency Control of *Aedes aegypti* as a disease vector in urban areas. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* **7**: 353-365.
- Ministerio del Poder Popular Para la Salud. (MPPS). (2010). Boletín Epidemiológico Semanal, año 59, semana epidemiológica N° 52. Documento en línea: <http://www.mpps.gob.ve>. (Consultado: 2014, Junio 25).
- Ministerio del Poder Popular Para la Salud. (MPPS). (2012). Boletín Epidemiológico Semanal, año 61, semana epidemiológica N° 52. Documento en línea: <http://www.mpps.gob.ve>. (Consultado: 2014, Junio 25).
- Ministerio del Poder Popular Para la Salud. (MPPS). (2013). Boletín Epidemiológico Semanal, año 62, semana epidemiológica N° 52. Documento en línea: <http://www.mpps.gob.ve>. (Consultado: 2014, Junio 25).
- Molina de Fernández D., Bisset J., Rodríguez M., González J., Salas O., Barazarte H. & Salcedo A. (1995). Estudio de la susceptibilidad a insecticidas organofosforados y piretroides en cepas de *Aedes aegypti* (Linn.) de cinco estados de Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **35**: 85-90.
- Molina de Fernández D., Bastidas D. & Figueroa Acosta L. E. (2013). Malation vs. *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) de diferentes regiones de Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb.* **53**: 46-55.
- OMS (1993). *Técnicas entomológicas de campo para la lucha antipalúdica, parte I*. Guía del alumno. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. pp.:9-77.
- OMS (2013). *Fiebre Amarilla*. Nota informativa N° 100. Documento en línea: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs100/es/> (Consultado: 2014, Junio 26).
- OMS (2014). *Dengue y dengue hemorrágico*. Nota descriptiva N° 117. Documento en línea: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/> (Consultado: 2014, Junio 26).
- OMS (2014). *Chikungunya*. Nota descriptiva N° 327. Documento en línea: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/> (Consultado: 2014, Junio 26).
- 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.
- Reyes M. & Mark L. (2000). Resistencia del mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) a insecticidas en el estado Zulia, Venezuela. *Rev. Científica, FCV-LUZ.* **10**: 441-447.
- Rodríguez M., Bisset J., Fernández D. & Pérez O. (2004). Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. *Rev. Cubana Med. Trop.* **56**: 54-60.
- Rodríguez R. (2002). Estrategias para el control de dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Rev. Cubana Med. Trop.* **54**: 189-201.

- Rodríguez M., Bisset J. & Fernández D. (2007). Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **23**: 420-429.
- Rodríguez M., Bisset J., Molina D. & Soca A. (2000). Malathion resistance in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* after it is in *Aedes aegypti* control programs. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* **16**: 324-330.
- Salvatella A. R. (2005). *Aedes aegypti* (Linneaus, 1972) (Diptera: Culicidae), el vector del dengue y la fiebre amarilla. Documento en línea: <http://www.higiene.edu.uy/dengue.htm>.(Consultado: 2013, Junio 20).
- Robert R. Sokal & F. James Rohlf (1979). *Biometría: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Primera edición española. Ediciones H. Blumes Rosario, 17- Madrid -5., 832p.
- 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.

Recibido el 26/03/2015
Aceptado el 29/12/2015