

**Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”
Departamento de Control de Vectores**



**Evaluación de K-Othrine Polyzone 62,5 SC, para el control de *Aedes(S) aegypti* (Diptera: Culicidae),
Cárdenas, Matanzas Cuba, 2017 - 2019**



**Tesis presentada en opción al grado científico de Máster en
Entomología Médica y Control de Vectores**

Autor: Lic. Julio Luis Duquesne Reyes

Tutores: Ing. Maureen Leyva Silva MSc, DrC

Lic. Domingo Montada Dorta MSc

La Habana 2021

Agradecimientos

A mis Padres que hoy no están presentes y siempre cuando capturaban un mosquito con sus maravillosas manos me preguntaban ¿es hembra o macho?, ¿son de los buenos o de los malos?. Al doctor Sixto Estévez por ser uno de los creadores de este magnífico proyecto. A mis tutores Domingo Montada por ser un padre, hermano, amigo en las buenas y en las malas, por su exigencia, inmensa paciencia, dedicación y constancia, por criticarme todo lo malo y lo bueno, por ser un científico en lo que hace y enseña. A Maureen Leyva; ya que sin sus conocimientos tan sólidos y hermosos no hubieran sido posible la culminación de esta tesis. Un millón de gracias a todos los profesores del IPK en especial a María Carmen Marquetti, Omar Fuentes, Natividad Hernández, Zulema Méndez, María Magdalena, Jorgito, Nell, Luisito, Jorge Anaya, al Profe Bisset, Baly, Fimia, Antonio Vázquez, Aileen, Ariamys a todos mis compañeros de la Maestría Yanet, Yani, Ilario, Reinaldo, Gisel que tantos momentos buenos pasamos sobre todo en las pruebas de la Facultad de Biología.

Una profunda admiración y respeto para la Doctora Misladis y al Doctor René Gato que me abrieron las puertas de su casa como si fuera un miembro más de su familia y compartí con ellos lindos y hermosos momentos, mil gracias los quiero.

Un Agradecimiento especial a mi esposa y a mi hijo Dayron por soportar tantas noches de desvelo, a mis compañeros de trabajo: Yoel, Almera, Johan, Travieso, Coco, Luisito, Darían, Javier Dueñas, Sajay, Griñat, a la doctora Peral, Javier el informático, que sin ellos no soy lo que hoy en día demuestro.

A mi familia linda, mi hermana, Mary, Lourdes, mi sobrina Yenny, Yuleidys, a todos mis más sinceros agradecimientos.

A la Revolución Cubana por darme la posibilidad de ser quien soy. A todos los que han brindado un granito de arena en mi formación, con sus consejos, con amor y cariño.

GRACIAS



“ Creo en el milagro de lo que puede hacer el trabajo, de lo que puede hacer la Ciencia y de lo que pueden hacer los hombres”.

A mis padres, a mi esposa e hijo, hermanos por ser mi inspiración, a todos los que me acompañaron en esta aventura de superación y en especial al Dr. Sixto Estévez por ser el motor impulsor y máximo guía de todo este proyecto, siempre estarás en mi más alta estima.

Resumen

La provincia Matanzas, habitualmente realiza el control intensivo de *Aedes aegypti* utilizando piretroides como adulticidas fundamentalmente, sin embargo, el municipio Cárdenas, presenta áreas de salud con altos Índices Casa (IC) e Índice Breteau (IB). En el siguiente estudio nos trazamos como objetivo; Evaluar la eficacia de K-Othrine Polyzone SC 62.5 (i.a deltametrina), aplicado en sitios de reposo intra y extradomiciliario como tratamiento residual en el área de salud Héroes del Moncada del municipio Cárdenas. Para el estudio se evaluó el estado de la susceptibilidad a deltametrina mediante la metodología de los papeles impregnados a una población de mosquitos del área seleccionada. Posteriormente se escogieron 56 manzanas (1960 viviendas) a las que se aplicó K-Othrine Polyzone 62.5 SC intradomiciliariamente en los sitios de reposo siguiendo metodología de la Organización Mundial de la Salud. Dentro este número de manzanas se seleccionaron 14 manzanas (574 viviendas) para de forma adicional realizar un tratamiento exterior. La residualidad del formulado se evaluó mediante la metodología de los conos durante 15 semanas por ser el tiempo mínimo de perdurabilidad recomendado por el fabricante. La eficacia se determinó mediante los índices casa, Breteau y ovitrampa. Post intervención las superficies con mayor residualidad resultaron; el metal, plástico y concreto. Durante un año las manzanas seleccionadas se mantuvieron con índices inferiores a 0,02 y 0,03 y de las 14 manzanas con tratamiento exterior e interior solamente dos de ellas repitieron positividad transcurrido este periodo de tiempo. Un año y medio después la población de mosquitos colectada se comportó susceptible al ingrediente activo. El tratamiento residual con este producto, añadidos a las actividades de programa de control de vectores, produjeron un impacto positivo en las manzanas seleccionadas constituyendo una buena opción para la disminución de los índices de *Ae. aegypti*.

ABREVIATURAS

ia ingrediente activo

OI: Índice de Ovitrapas

IC: Índice Casa

IB : Índice Breteau

RM: Ramón Martínez

JAE: José Antonio Echeverría

HM: Héroes del Moncada

FAJ: Manuel Piti Fajardo

HA: Humberto Álvarez

OMS: Organización Mundial de Salud

IDV : índice densidad del vector

DH : Densidad de huevos

ÍNDICE

	pág
1.Introducción	1
2.Revisión bibliográfica	5
2.1 <i>Aedes aegypti</i> .Distribución y papel vector	5
2.1.1 El papel de <i>Aedes aegypti</i> como vector de enfermedades	6
2.2 Control del vector	8
2.2.1 Programas de control vectorial	8
2.2.2 Lucha anti vectorial	9
2.3. Control Químico. Generalidades	11
2.3.1. Insecticidas. Tipos	11
2.3.2 Tipos de formulados	12
2.3.3. Tipos de tratamientos	13
2.3.4.Tratamientos residuales	15
2.3.4.1.Tipo de equipamiento	16
2.3.4.2. Antecedentes de aplicación de insecticidas residuales en Cuba	17
2.3.4.3. Deltametrina	18
2.3.4.4.Formulado K-Othrine Polizone 62,5 SC	20
3.Materiales y Métodos	22
Tipo de estudio	22
Descripción del área de estudio	22
Material biológico	23
Cría y mantenimiento de las poblaciones de mosquitos en el insectario	24
Reactivos	25
3.1 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de papeles impregnados	25
3.2 Tamaño y selección del Muestra	26
3.3 Aplicación de la formulación K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas	26

3.4 Evaluación del efecto residual de K-Othrine Polyzone 62.5 SC en el tiempo mediante la metodología estandarizada de los conos.	28
3.5 Evaluación de la eficacia de la formulación K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas	29
3.6 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de botellas y papeles impregnados	30
Consideraciones éticas	31
4.Resultados	32
4.1 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de papeles impregnados	32
4.2 Evaluación del efecto residual de K-Othrine Polyzone 62.5 SC en el tiempo mediante la metodología estandarizada de los conos.	32
4.3 Evaluación de la eficacia de la formulación K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas	34
4.4 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de botellas y papeles impregnados	39
5.Discusión	41
5.1 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de botellas y papeles impregnados, pre y post intervención.	41
5.2 Evaluación del efecto residual de K-Othrine Polyzone 62.5 SC en el tiempo mediante la metodología estandarizada de los conos.	43
5.3 Eficacia de K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas	47
Limitaciones del estudio	49
6.Conclusiones	51
7.Recomendaciones	52
Referencias bibliográficas	53
Anexos	

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Aedes (S) aegypti (Linnaeus, 1762) es un eficaz vector de diversas arbovirosis. Su mayor importancia epidemiológica está ligada a su papel como transmisor de fiebre amarilla, dengue, Zika (Pérez Viguera 1956, PAHO 2016). La incidencia de dengue ha aumentado drásticamente en el mundo, la gran mayoría de los casos son asintomáticos o leves y autogestionados, por lo que el número real de casos de dengue no se informa. Muchos casos también se diagnostican erróneamente como otras enfermedades febriles (WHO 2020).

El incremento de la transmisión se evidencia de manera predominante en zonas urbanas y semiurbanas y se ha convertido en un importante problema de salud pública hasta el punto que la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que se producen 390 millones de infecciones por dengue cada año, de los cuales 96 millones se manifiestan clínicamente (cualquiera que sea la gravedad de la enfermedad) (Bhatt et al. 2013). El año 2016 se caracterizó por ser un año de grandes brotes con 2,38 millones de casos en las Américas, siendo Brasil el país que aportó 1,5 millón de casos (Saxena et al. 2019). En 2017, se informó una reducción significativa en el número de casos de dengue en las Américas, de 2177171 casos en 2016 a 584 263 casos en 2017. Esto representó una reducción del 73%. En 2020, el dengue continuó afectando a varios países, con informes de aumentos en el número de casos en Bangladesh, Brasil, Islas Cook, Ecuador, India, Indonesia, Mauritania, Nepal, Singapur, Sri Lanka, Sudán, Tailandia, Timor-Leste y Yemen (WHO 2020).

No existe una vacuna definitiva para prevenir o minimizar el impacto del Dengue, aunque la OMS aprobó una vacuna tetravalente desarrollada por Sanofi Pasteur: Dengvaxia® (CYD-TDV), en 20 países (Clapham and Wills 2018). Una vez aprobada por la mayoría de las autoridades de órganos regulatorios tanto a nivel local como internacional su aplicación se recomendó en zonas endémicas en sujetos de nueve a 45 años en tres dosis con intervalos de 6 y 12 meses (Arredondo 2017).

En 1981 en Cuba ocurrió la primera epidemia de dengue hemorrágico reportada en las Américas causada por dengue 2 (Guzmán et al. 1988). En el año 1997, se detectó un

brote por dengue 2 localizado en la ciudad de Santiago de Cuba (Kourí et al. 1998), con 3 012 casos confirmados serológicamente, de los cuales 205 se clasificaron como casos de Fiebre Hemorrágica Dengue (FHD) y 12 fallecimientos (Guzmán et al. 1999). A pesar de la alta voluntad política del gobierno, el país no ha estado exento en las últimas décadas de las transmisiones locales, reportándose brotes en 2000 y 2001 por dengue tipo tres y 2006-2010 por dengue tres y cuatro en varias provincias del país (Guzmán 2012, 2016).

El control de las arbovirosis depende exclusivamente de las medidas eficaces de lucha contra el vector transmisor (Bisset et al. 2011). A raíz de lo acontecido en 1981 en Cuba se implementó el programa de Erradicación de *Aedes aegypti*, posteriormente Programa de Control de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* el cual desarrolla toda una serie de medidas enfocadas en la vigilancia y el control del vector (DNVLA 2012).

La aplicación de insecticidas con el objetivo de disminuir las poblaciones de mosquitos siempre trae consigo la generación de individuos resistentes. En Cuba esto no es un fenómeno aislado (Rodríguez et al. 2012, 2016, 2017). Es por eso que se investigan otras alternativas para el control del vector, a corto y mediano plazo como lo son ; la obtención de nuevos aislamientos de *Bacillus thuringensis* (González et al. 2013, 2019a); el estudio de aceites esenciales con actividad insecticida (Leyva et al. 2019, 2020), la introducción de la técnica del insecto estéril (Gato et al. 2021) además de intervenciones con otros productos sintéticos como los inhibidores del crecimiento (Montada et al. 2019), no obstante, la utilización de formulados químicos continúa siendo la medida más utilizada y extendida por excelencia para el control de las poblaciones de este vector.

Los antecedentes en Cuba evidencian que los tratamientos adulticidas se utilizaron de forma rutinaria en Cuba de 1981 a 1986. Primero malation como rociamiento ultrabajo volumen (ULV)(Bisset et al. 1991). Luego desde 1986, el piretroide lambdacialotrina (Bisset et al. 1997) y posteriormente cipermetrina hasta el presente. Para tratamientos peri focales se utilizó el fentión con acción residual. Este tipo de formulado se aplicó durante periodos de altos niveles infestación de mosquito durante los brotes de dengue

en Santiago de Cuba en 1997 y 2006 y en Ciudad de La Habana 2001-2002. Otros productos como bendiocarb también se utilizaron ocasionalmente en los últimos años (Bisset et al. 2011); sin embargo, no se ha empleado deltametrina como tratamiento residual, excepto como tratamiento perifocal (TPF) con K-Othrina 250 WG, (i.a deltametrina) en Camagüey y Santiago de Cuba (Montada et al. 2012, González 2015)

Cárdenas es uno de los municipios más importante de la provincia de Matanzas. Es conocida como la ciudad Bandera por tener la primicia de izarse por primera vez en Cuba el 19 de mayo de 1878 en el lugar que ocupa el hotel La Dominica, nuestra bella e insigne bandera. Posee un importante renglón económico, debido a la presencia del polo turístico más importante del país. En el año 2013 los índices de infestación de *Ae. aegypti* fueron superiores a 0,05 y el índice casa e índice Breteau mayor que 1. En el periodo del 2016-2017 se observó un incremento con marcada tendencia al área de salud del policlínico Héroes del Moncada, ubicado en la cabecera municipal. La situación higiénica sanitaria de algunas áreas en los consejos populares condicionó la presencia del vector por lo cual estos índices no disminuyeron a los valores establecidos para esta especie dentro del programa (Fuente: Estadística Municipal). Esto motivó que se realizaran numerosos tratamientos con el objetivo de reducir estos índices sin resultados satisfactorios. En coordinación con la Dirección Nacional de Vigilancia y Lucha Antivectorial y la Dirección Provincial de Matanzas y Municipal de Higiene y Epidemiología de Cárdenas y el Centro de Control de Mosquitos con sede en Varadero se propuso evaluar el formulado K-Othrine Polyzone 62.5 SC (deltametrina) en el Área de Salud Héroes del Moncada del municipio Cárdenas como parte de un estudio piloto tripartito Cuba – Tailandia –Brasil liderado por la firma comercial BAYER.

Teniendo en cuenta los antecedentes planteados nos formulamos la siguiente

Hipótesis:

El formulado K-Othrine Polyzone 62.5 SC (i.a deltametrina) como tratamiento residual aplicado en el intra y extradomicilio, añadirá eficacia a las acciones del Programa de Control de *Aedes aegypti* en un área de salud con alta infestación de este vector.

Para demostrar esta hipótesis nos propusimos el siguiente;

Objetivo General

Evaluar la eficacia del formulado K-Othrine Polyzone SC 62.5 (i.a deltametrina), aplicado en sitios de reposo intra y extra domiciliario en un área de salud del municipio Cárdenas, Matanzas.

Objetivos Específicos

1. Evaluar el estado de susceptibilidad a deltametrina mediante metodología de papeles impregnados en una población colectada en el área de salud Héroes del Moncada durante la etapa pre-tratamiento.
2. Evaluar el efecto residual de K-Othrine Polyzone 62.5 SC en el tiempo mediante la metodología estandarizada de los conos.
3. Determinar la eficacia de K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas para el control de *Aedes aegypti* en el área de salud estudiada, mediante los Indices ovitrampas, Casa y Breteau.
4. Evaluar el estado de susceptibilidad a deltametrina mediante la metodología de papeles y botellas impregnadas en una población colectada Post-tratamiento en el área de salud estudiada

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Aedes aegypti* Distribución y papel vector

Aedes (S) aegypti (Linnaeus, 1762), es un mosquito cuyo origen se ubica en la región etíope. Su presencia es detectada en la mayor parte de las áreas tropicales o subtropicales (Juliano and Lounibos 2005). Trabajos taxonómicos realizados con anterioridad ubican a esta especie en el género *Stegomyia* por lo que actualmente se conoce como *Stegomyia (Stegomyia) aegypti* (Reineri et al. 2004). En Cuba, al igual que en el resto del planeta se le continúa nombrando *Aedes aegypti* debido a que nomenclatura no se ha generalizado entre el personal implicado dentro de los programas de manejo y control de esta especie, por lo que decidimos continuar utilizando la nomenclatura anterior.

La diseminación de sus adultos, huevos, larvas o pupas en gran parte es favorecido por medios de transporte (barcos, aviones y transportes terrestres) utilizados por el hombre (Zúñiga-Carrasco and Miliar de Jesús 2019). Sus hábitos son netamente antropófilos y domésticos (Harrington et al. 2001), con establecimiento de sus sitios de cría en la vivienda o su peridomicilio (Consoli and Oliveira 1994, Braks et al. 2004). La puesta de huevos ocurre en la superficie de los recipientes entre la altura de la interfase agua-aire, y para esto utiliza todo tipo de depósitos que el hombre le proporciona ya sea para almacenar agua o por descuido; neumáticos, baterías viejas, botellas, floreros, frascos entre otros, ubicándose sus criaderos en agua limpia con bajo contenido orgánico y de sales disueltas (Carrada et al. 1984, Marquetti et al. 2009, 2012).

Aedes aegypti fue introducido en América durante la colonización europea, motivando reiteradas epidemias de fiebre amarilla urbana, que ya se registraban previamente, de forma focal, en la América precolombina mediante otros mosquitos vectores autóctonos y en diversas áreas del continente (OPS 1995). Actualmente se encuentra distribuido en toda la región (Fig.1) y es el principal vector de diversas arbovirosis (PAHO 2020).

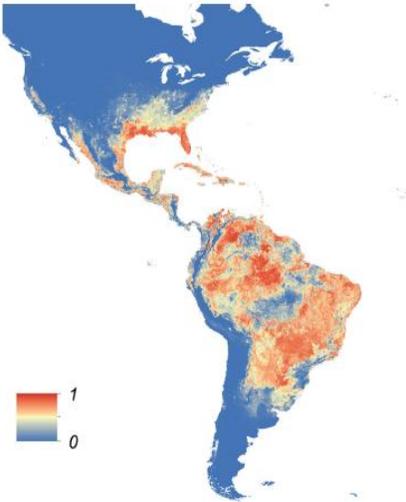


Figura 1 Distribución prevista de *Ae. aegypti* en la región. El mapa muestra la probabilidad de ocurrencia (de 0 azul a 1 rojo) en un espacio resolución de 5 km x 5 km

Tomado de Kramer et al 2015

2.1.1 El papel de *Aedes aegypti* como vector de enfermedades

En 1881, Finlay establece en Cuba, la modalidad vectorial de transmisión de la virosis por parte de *Ae.aegypti*, la que fue demostrada mediante los célebres experimentos del Campamento Lazear (Leonard 1990). ``El Dr. Finlay no tuvo precursores. La idea fue genialmente suya. Antes de él se había planteado muchas veces que los insectos podían inocular diversas clases de virus, que se suponían tenían su origen en los cuerpos que estos obtenían de la materia en descomposición, pero, la idea del Dr. Finlay, fue fundamentalmente distinta. Fue el primero en declarar que un insecto, y señaló precisamente cuál, transmitía del enfermo al sano, el virus específico de la enfermedad''

Aedes aegypti es un efectivo vector de diversas arbovirosis, pero su mayor importancia epidemiológica está ligada a su papel como transmisor de fiebre amarilla, dengue, chikungunya y recientemente Zika (PAHO 2016). Este vector posee una rápida tasa de desarrollo y alta supervivencia, las cuales puede variar en respuesta a muchos factores bióticos y abióticos del ambiente (da Cruz Ferreira et al. 2017, Lega et al. 2017). Entre estos últimos se encuentra la temperatura, la cual puede ejercer una considerable influencia en la capacidad vectorial, ya que impacta en la dinámica de la población del

mosquito, la cinética del ciclo biológico, la respuesta inmunológica frente al virus del dengue, entre otros aspectos (Márquez et al. 2019).

La urbanización incontrolada, el crecimiento poblacional sostenido, unido a las intensas migraciones de áreas endémicas a zonas que no lo son, las viviendas inapropiadas en centros urbanos, el abandono o incumplimiento de programas de control vectorial, la incorrecta eliminación de residuos sólidos y líquidos, el uso creciente de envases no biodegradables en el medio y el inadecuado saneamiento ambiental han resultado en un incremento de las densidades de *Ae. aegypti* y la persistencia de actividad epidémica (Guzmán and Harris 2015). Otro factor lo constituye la globalización (aumento del transporte de pasajeros y mercancías en viajes internacionales), el incremento de los viajes por avión lo que provee de un mecanismo ideal para que los humanos infectados transporten el virus entre los centros poblacionales del trópico, resultando en un frecuente intercambio de los virus del dengue y otros patógenos (Zúñiga-Carrasco and Miliar de Jesús 2019).

La constante dispersión y reinfestación de diversas áreas de las Américas con *Ae. aegypti* originó la reemergencia global del dengue como un importante problema de salud, en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú, Venezuela, México, toda Centroamérica, Antillas y Estados Unidos, entre otros países (Fig. 2) provocando en el año 2019, 3.139.335 casos y 1.538 muertes (WHO 2020).

La fiebre amarilla urbana no se registraba en América desde la década del treinta del siglo pasado, pero todos los anteriores aspectos sociales, económicos y demográficos facilitaron que entre enero de 2017 y noviembre de 2018, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guayana Francesa y Perú informaron casos de esta enfermedad(OPS 2018).

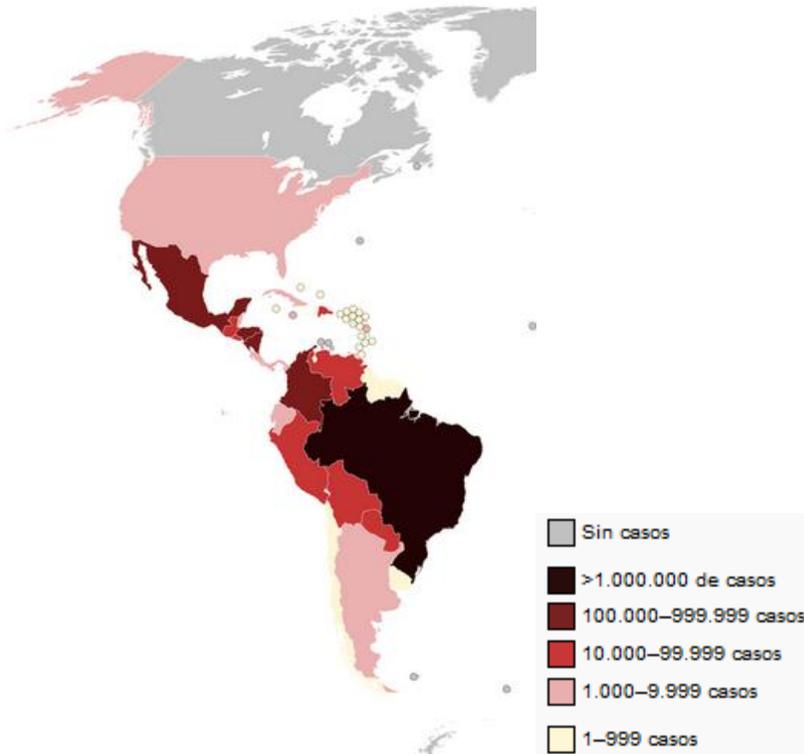


Figura 2. Países de la región con casos de Dengue en el periodo de 2019-2020. Tomado de «WHO Region of the Americas records highest number of dengue cases in history- cases spike in other regions». Fecha de consulta 21 de noviembre de 2020.

Zika, representó otro virus con la más rápida introducción y propagación en la región de las Américas. En Cuba el primer caso confirmado de transmisión local de este virus ocurrió en la semana epidemiológica 11 de 2016. La Oficina Cubana para el Registro Sanitario Internacional (RSI) informó a la Organización Panamericana de la Salud (OPS) de 21 casos de esta enfermedad importados en ese mismo año (PAHO 2016), para el año 2017, este virus se propagó a varios municipios del país (PAHO 2017).

2.2 Control del vector

2.2.1 Programas de control vectorial

Los trabajos de Gorgas (Leonard 1992), en Cuba y Panamá, y los de Cruz (Franco 1976) en Brasil, sentaron las bases para los futuros programas de control del vector. La fiebre amarilla, su control, y lógicamente el de *Ae. aegypti*, constituyeron el tema de la

Primera Convención Sanitaria Internacional de las Repúblicas Americanas realizada en Washington DC en 1902. No es hasta 1947, que la Organización Panamericana de la Salud (OPS) efectuó el lanzamiento formal de la Campaña Continental de Erradicación de *Aedes aegypti* (Salud 1992). En 1958, Uruguay alcanzó el objetivo de erradicación (MSP 2011). El avance de algunos logros continentales llevó al Consejo Directivo de la OPS en 1961, a fijar la meta de completa erradicación de *Ae. aegypti*, en el año 1966. La situación continental, durante las sucesivas décadas en lo social, económico y sanitario, junto a la pérdida de continuidad y prioridad a los programas nacionales de lucha antivectorial, motivaron que no se alcanzara la meta propuesta.

El fracaso de programas de erradicación basado en programas verticales provocó que en 1995, la Organización Mundial de la Salud desarrollara la Estrategia Mundial para la Prevención y Control del Dengue y del Dengue Hemorrágico con cinco componentes: control integrado selectivo del vector con la participación comunitaria e intersectorial, vigilancia activa basada en un sistema robusto de información de salud, preparación para emergencias, desarrollo de capacidades y capacitación, e investigación en control vectorial (WHO 1999)

En Cuba se encuentra implementado desde 1981 el programa de Erradicación de *Aedes aegypti*, posteriormente Programa de Control de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Este programa centra sus acciones tomando como marco de referencia la estrategia de gestión integrada, que tiene como componentes básicos la atención al paciente, la comunicación social, la entomología, el laboratorio y la vigilancia epidemiológica. Considera además los macrofactores del medioambiente que influyen directa o indirectamente en el comportamiento entomo -epidemiológico y hace posible la coordinación de acciones intersectoriales y el fomento del cambio conductual tanto individual como colectivo, en lo relacionado con un mejor ordenamiento ambiental en función de la prevención, favoreciendo el fortalecimiento del control vectorial de forma general (DNVLA 2012).

2.2.2 Lucha anti vectorial

El programa antivectorial en Cuba tiene previsto el manejo y utilización de diferentes estrategias de control. El control físico es uno de ellos y dentro de sus acciones previstas se encuentran; la canalización, zanjeo y chapeo de cursos de aguas superficiales, además de la desecación y drenaje de terrenos anegados (DNVLA 2012), la destrucción de depósitos con la piqueta, el flameo de los depósitos que contengan agua y el cepillado de los depósitos.

El control biológico se considera como la alternativa más importante para sustituir el uso de insecticidas, con el propósito de restaurar y mantener el equilibrio biológico que el hombre ha alterado mediante el uso indiscriminado de agentes químicos. No representan un peligro para las personas por ser especie específico (Rawal 2019) y su utilización reduce notablemente la aparición de poblaciones de mosquitos resistentes (Gómez-Vargas et al. 2018). En nuestro país se realizaron con anterioridad estudios para la utilización de *Macrocyclops albidus* (Copepoda: Cyclopidae) (Suárez et al. 2005), *Gambusia punctata*, *Gambusia puncticulata* y *Poecilia reticulata* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) (Fimia et al. 2009), *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) (González et al. 2013, 2019 a,b) *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae)(García et al. 2014) y más recientemente la técnica del insecto estéril (Gato et al. 2021), sin embargo, estos métodos de control son afectados por factores ambientales tales como: salinidad, temperatura, PH, depredadores, lo que implica que en ocasiones no se alcanza el resultado esperado (DNVLA 2012)

La comunicación social es otras de las herramientas para el control de vectores, constituye la base de las relaciones entre los decisores y la población. La comunicación en la salud es un proceso dinámico que necesita constantemente de retroalimentación para el alcance de los objetivos de trabajo. La comunidad debe involucrarse desde la identificación de los problemas, la explicación, la priorización y la búsqueda de alternativas de solución (Pérez et al. 2016, Castro et al. 2019, Hernández et al. 2019) pero todavía se enfrenta a dificultades como la fluctuación del personal entrenado, la movilización de recursos para la comunicación y la identificación de indicadores adecuados de evaluación

2.3. Control Químico. Generalidades

El arma más empleada para el control de *Ae. aegypti* es la aplicación de insecticidas en la fase adulta, tanto en tratamientos intra como en extra domiciliarios lo cual debe conllevar a una reducción rápida de las poblaciones. Desafortunadamente, dicha reducción suele ser transitoria si no se aplica un tratamiento focal a los criaderos utilizando larvicidas, eliminando todo recipiente que la especie utilice para su oviposición y no sea abatizable (Bisset et al. 2011, DNVLA 2012), además del empoderamiento de la comunidad (Pérez et al. 2016, Castro et al. 2019). No obstante en etapas epidémicas la aplicación de insecticidas es, por así decirlo, la medida más utilizada para disminuir drásticamente el número de mosquitos adultos y por consiguiente la incidencia de las enfermedades (Montada et al. 2012, Montada et al. 2013, Bisset et al. 2016, Rodríguez et al. 2016).

2.3.1. Insecticidas. Tipos

El origen etimológico de la palabra insecticida deriva del latín y significa literalmente matar insectos. Un insecticida es una sustancia tóxica capaz de eliminar insectos en su mayoría peligrosos al ser humano bloqueando algunos procesos metabólicos.

Tipos de insecticidas

Grupo de los Organoclorados: Se caracterizan por presentar átomos de carbono, hidrógeno, cloro y ocasionalmente oxígeno, son sustancias apolares y lipofílicas. Altamente estables, característica que los hace valioso por su acción residual contra insectos y a la vez peligrosos debido a su alto grado de lipofilicidad. Dentro de este grupo de insecticidas se encuentran compuestos tan importantes como el DDT, clordano y dieldrín. Poseen baja toxicidad para mamíferos, sin embargo, sus residuos son de gran persistencia en el ambiente; además, se acumulan en los tejidos grasos de muchos organismos a través del proceso de biomagnificación en la cadena trófica (Ponce et al. 2006).

Grupo de los Organofosforados Este grupo pertenecen al tipo de ésteres sencillos del ácido fosfórico. Presentan dos características básicas, son más tóxicos para vertebrados que los compuestos organoclorados y no son persistentes en el medio

ambiente, principal causa que motivó la sustitución en el uso de los organoclorados por los organofosforados. Malation, diazinon, paration son algunos ejemplos de este grupo.

Grupo de los carbamatos: Este grupo presentan una toxicidad y persistencia intermedia entre los organoclorados (OC) y organofosforados (OF). Uno de los carbamatos más utilizado, es el carbaril y el propoxur (Ponce et al. 2006).

Los insecticidas evolucionaron a través del tiempo. La mayoría actúan sobre el sistema nervioso central de los insectos, utilizando una o más vías para llegar a él: penetrando por la cutícula (por contacto), siendo ingerido y después absorbido por el intestino (por ingestión), o a través de los espiráculos del sistema respiratorio (fumigantes) (IRAC 2019)). Los insecticidas organofosforados y carbamatos actúan como análogos de la acetilcolina (ACh). El modo primario de acción es inhibiendo la acetilcolinesterasa (Ache) en las uniones sinápticas por fosforilación o carbamilación, cerca o en su centro activo (Reiner 1971, IRAC 2019).

Por último surgieron el grupo de los piretroides, que tuvieron su origen en las flores del crisantemo *Chrysanthemum cinerariifolium* (Shallan et al. 2005), son biodegradables, no acumulativos, extremadamente tóxicos para los animales acuáticos y en menor cuantía a las aves y mamíferos, en los que rara vez se observan intoxicaciones agudas. Estas propiedades, unidas a su gran efectividad con pequeñas dosis, lo convierten en los insecticidas más recomendados actualmente para el control del *Ae. aegypti* en zonas urbanas; siendo la única desventaja su elevado costo (Palchick, 2006).

2.3.2 Tipos de formulados

Los plaguicidas rara vez se utilizan en forma pura o de grado técnico. Por lo general, el ingrediente activo (insecticida grado técnico) se mezcla con varios ingredientes "inertes" y cumplen una variedad de funciones para crear una formulación. La función principal es facilitar la pulverización, la seguridad, la eficacia la estabilidad o facilitar la manipulación del producto. El tipo de formulación de plaguicida y en algunos casos, la elección del producto del mismo tipo de formulación, pueden afectar notablemente los resultados obtenidos en el uso práctico (WHO 2007).

Concentrado emulsionable: es una solución de ingrediente activo y tensoactivos en un solvente inmiscible en agua, formando una emulsión estable después de diluir con agua, gasoil o queroseno. Los concentrados emulsionables son fáciles de mezclar con agua para formar una emulsión, instantáneamente, que luego solo requiere un poco de agitación para mantener una formulación adecuada para la aplicación (WHO 2007).

Estas emulsiones dejan pocos depósitos visibles en la superficie tratada; sin embargo, los concentrados emulsionables diluidos pueden tener un olor fuerte y son absorbidos por superficies porosas. Los disolventes y emulsionantes orgánicos pueden facilitar la absorción del ingrediente activo a través de la piel, aumentando así el riesgo de los operadores.

Emulsión aceite en agua: esta formulación consiste en un ingrediente activo disuelto en un solvente inmiscible en agua que, en presencia de surfactantes, se dispersa como gotas finas de una fase oleosa en agua. Una emulsión de aceite en agua es similar a un concentrado emulsionable diluido, pero generalmente es estable durante más tiempo y contiene concentraciones más bajas de solvente y tensoactivos (WHO 2007).

Gránulos: una formulación sólida con un rango definido de tamaño de granos, lista para usar. Los gránulos se preparan impregnando, extruyendo o recubriendo partículas de vehículo inertes gruesas, por lo general, 10 a 100 g del ingrediente activo por kilogramo (1 a 10%). Cuando se usa para controlar las larvas de mosquitos, se obtiene un mejor resultado que con las formulaciones líquidas, y se puede mejorar la persistencia del ingrediente activo. En muchos casos, los gránulos se pueden distribuir a mano utilizando medios de protección adecuados (WHO 2007).

Concentrado en suspensión (concentrado fluido): es una suspensión de ingrediente activo destinada a diluirse con agua antes de su uso. Estas formulaciones son similares a los polvos humectables o gránulos dispersables en agua donde el ingrediente activo se encuentra dispuesto en forma de partículas cristalinas muy pequeñas. El ingrediente activo no penetra en la piel tan fácilmente como lo haría en un concentrado emulsionable comparable y dejan residuos menos visibles que los polvos humectables, ya que las partículas son diminutas (WHO 2007).

2.3.3. Tipos de tratamientos

La aplicación de insecticidas para el control de la adulticia de forma general se basa en el principio de la producción de un gran número de pequeñas gotas del producto a distribuir en un gran volumen de aire en un periodo determinado de tiempo. Estas gotas aplican una dosis letal de insecticida a los insectos cuando impactan. Los métodos tradicionales incluyen la niebla térmica (en la que se produce una nube densa de gotas de insecticida, que brinda una apariencia de nube espesa) y el volumen ultra bajo (Ultra Low Volume, ULV), en el que las gotas se producen mediante una máquina mecánica generadora de aerosol frío (WHO 2007).

Dado que pueden tratarse grandes áreas, este método reduce rápidamente la población de insectos voladores en un área específica. Debido a que no existe actividad residual después de la aplicación, debe repetirse a intervalos de 5-7 días. Este método es particularmente eficaz en situaciones de epidemia, donde se requiere de una rápida reducción del número de mosquitos (WHO 2007).

Para que la aplicación sea eficaz depende de:

1. Los insectos: estos deben volar, a través de la nube de fumigación, aunque en ocasiones reciben el impacto mientras descansan en superficies expuestas. La eficacia del contacto entre las gotas de la fumigación y los insectos, por lo tanto, es fundamental. Esto solo se logra asegurándose que las gotas de la fumigación permanecen suspendidas en el aire durante el periodo de tiempo óptimo conteniendo la dosis correcta de insecticida. Las gotas deben oscilar en un diámetro mediano volumétrico (DMV) de 10 y 25 micras.
2. Si las gotas son demasiado grandes, caen al suelo demasiado rápido limitando el área efectiva de aplicación. Si una de estas grandes gotas impacta en un insecto individual, también se produce un uso excesivo, ya que se administrará una dosis muy alta por individuo.
3. Si las gotas son demasiado pequeñas, pueden no depositarse en el insecto (no tener impacto) debido a la aerodinámica.

Al realizar bioensayos de terreno en Cuba para determinar la eficacia de los tratamientos ULV intradomiciliarios de termonebulización y nebulización en frío con formulaciones de los insecticidas cipermetrina, lambdacialotrina y clorpirifos, los resultados mostraron en todos los casos que los tratamientos térmicos son más eficaces que los de nebulización en frío (Montada et al. 2006). En estudios realizados por Montada et al. (2008) comparó las mortalidades obtenidas entre Terfos 48 EC, Lambdacialotrina 2,5 EC, Icon 2,5 EC y Galgotrin 25 EC y demostró una diferencia altamente significativa entre ellos a favor de los tratamientos de termonebulización, por lo que se demostró la eficacia y la eficiencia de este tipo de tratamiento, siendo Galgotrin 25 EC, más eficiente sin DDVP.

2.3.4. Tratamientos residuales

La aplicación de un insecticida con efecto residual, está desarrollado especialmente para permanecer activo en superficies durante varias semanas inclusive meses, resistir muy bien el lavado, poseer baja toxicidad para el hombre y animales. Su actividad no debe verse afectada por el tipo de superficie: barro, ladrillo, vidrio, madera, cemento, hormigón etc. Estos productos permiten controlar adultos durante largos periodos de tiempo (semanas). Pueden ser aplicados en el exterior en todo aquel lugar que se identifique como potencial criadero natural (pared exterior de tanques, aunque no posea agua, bases de macetas, paredes sombrías). En interiores: debajo de sillones, sillas, mesas, muebles, camas, detrás de sanitarios en los baños, debajo de lavaderos, en cualquier lugar que pueda constituir un sitio de reposo (WHO 2007). Estos productos se pueden aplicar con mochilas manuales comunes o rociadores manuales. Se debe usar una gota gruesa dirigida a las superficies deseada supervisando que quede bien impregnada, cuidando de no asperjar al aire ni contra el viento (WHO 2007).

El tratamiento residual en superficies es empleado extensamente, especialmente para el control de vectores de Chagas (WHO 2000) y de Malaria (WHO 2006a). No obstante se utiliza también para el control de arbovirosis (Paredes-Esquivel et al. 2016). El rociado de los recipientes extradomiciliarios en las paredes cercanas a los domicilios (tratamiento perifocal), techos de las viviendas y refugios de animales domésticos en

un área determinada, se realiza con la finalidad de prevenir la oviposición del mosquito en estos recipientes (Chavasse and Yap 1997) y para evitar el reposo en determinadas superficies (WHO 2006a). Esto debe reducir la transmisión de enfermedades transmitidas por mosquitos tras reducir su densidad.

La aplicación en sitios de reposo de *Ae. aegypti* cumple con los requisitos de acuerdo a la ecología del vector, por cuanto es efectivo cuando se aplica en superficies atractivas donde descansa esta especie de mosquito (González 2015), predominantemente en interiores (Samuel et al. 2017) y por debajo de 1,5 m (Dzul-Manzanilla et al. 2017). Estudios realizados en Australia, indica que en lugares de reposo de *Ae.aegypti* bajo techo como camas, muebles y en las paredes inferiores puede provocar un 86– 96% de reducción de casos de dengue (Vazquez-Prokopec et al. 2017a, Dunbar et al. 2019). Sin embargo la implementación de la impregnación de superficies para el control de *Ae. aegypti* sostiene evidencias limitadas de su eficacia y su escalado en grandes ambientes como las ciudades (Paz-Soldán et al. 2018).

2.3.4.1. Tipo de equipamiento

Existen diferentes tipos de pulverizadores para la aplicación de insecticidas residuales; de compresión manual, con batería recargable y del tipo motorizados (Fig.3). Estos últimos son más pesados, voluminoso, ruidosos y más caros. Estos factores pueden influir en la calidad y aceptabilidad de la implementación de un equipo motorizado. Maniobrar en interiores este tipo de equipo es difícil debido al ruido y el CO₂ en el interior de los locales. Tienen un costo de mantenimiento preventivo y / o correctivo además del costo adicional de combustible. Debido estas limitaciones, el equipo motorizado se encuentra en un desventaja en comparación con la compresión manual y los de batería recargable (Correa-Morales et al. 2019).

Los pulverizadores de batería recargable contribuyen a una distribución del formulado de mayor calidad, logran descargas de 100 litros, siendo suficiente para un día de trabajo la energía de sola batería. Evita la fatiga del operador debido a bombeo frecuente requerido para los rociadores manuales. Este tipo de rociador tiene

desventaja el reemplazo de las baterías lo que agrega costos significativos a programas (Correa-Morales et al. 2019).



Figura 3 Equipamiento para la aplicación de insecticidas residuales A) pulverizador manual B) pulverizadores con baterías recargables C) pulverizadores motorizados D) pulverizador de compresión previa de 5 litros marca Guarany utilizado en el estudio

2.3.4.2. Antecedentes de aplicación de insecticidas residuales en Cuba

La aplicación de insecticidas residuales en Cuba, ha sido escasa. En la década del 60 del siglo XX se utilizó el DDT en la campaña de Erradicación de la malaria en la zona

oriental y en las décadas del 80 y 90 el Baytex 40 WP (ia. fention). En el siglo XXI se utilizó el Ficam 80 WP, ambos en tratamiento perifocal.

(Castex et al. 2008) evaluaron la eficacia de Ficam 80WP (Bendiocarb) en el tratamiento perifocal para el control de *Ae.aegypti* para el cual solo existían antecedentes de su utilización en el control de anofelinos y triatomas (Ansari and Razdan 2004, Maharaj et al. 2004). Los resultados mostraron que este formulado fue efectivo por 3 meses para el control de *Ae. aegypti*. Transcurrido ese tiempo comenzó a evidenciarse un incremento de la positividad en los depósitos tratados (Castex et al. 2008).

En el año 2013 Montada *et al.* evaluaron la formulación Sipertrin 5SC (cipermetrina) la cual según el fabricante presenta fotoestabilidad con una residualidad de 3 a 6 meses. Con dicha formulación se realizaron 2 intervenciones; una donde aplicó a) sitios de reposo+ b) perifocal + c) impregnación de cortinas; otra donde se utilizó la combinación de a)+b) y otra donde se utilizó solo c). Los resultados mostraron que la primera intervención logró 5 meses sin positividad en las manzanas tratadas, seguidos de la segunda intervención la cual fue efectiva durante 4 meses.

Por último González (2015), Montada et al. (2018) evaluaron la formulación K-Othrine 250 WG (deltametrina) la cual mostró una alta efectividad en un período de 3 meses para el control de *Ae. aegypti* en tratamiento residual. Al aplicar deltametrina 250 WG en sitios de reposo y cría mostró un impacto positivo en la reducción de los índices pupales de *Ae. aegypti*. Estos estudios realizados en Cuba tienen en común que fueron intervenciones realizadas fuera de la capital del país y que la residualidad es similar o superior a lo que propone el fabricante.

2.3.4.3. Deltametrina

La deltametrina, fue sintetizada por primera vez en 1974 y comercializada en 1977. Se considera relativamente un repelente seguro de mosquitos y es ampliamente utilizado en países tropicales (Bengoia et al. 2013). Es un piretroide sintético que posee un nivel extremadamente alto de actividad contra una amplia gama de insectos y actúan a dosis muy bajas tanto por contacto directo e ingestión. Su carácter lipófilo (soluble en lípidos -

grasas) hace que alcance el interior de los insectos a través de la cutícula (acción por contacto) o a través del tracto digestivo. Afecta al sistema nervioso, despolarizando la membrana de la neurona con el consiguiente bloqueo de la transmisión de los impulsos nerviosos. Su elevada eficacia se debe a que su molécula está compuesta por un único isómero. Resulta especialmente activo frente a larvas de Lepidópteros, ejerce un buen control frente a Homópteros, Coleópteros Ortópteros y Dípteros (jejenes, moscas y mosquitos) (WHO 2017).

Deltametrina es el insecticida que menos se ha utilizado en Cuba para el control de *Ae. aegypti*. Estudios realizados por Rodríguez et al. (2005) detectaron que las poblaciones estudiadas resultaron resistentes a esta molécula, lo que pudo inferirse como resistencia cruzada debido al uso de otros piretroides en Cuba o al uso sostenido de temefos (Rodríguez et al. 2002). Estudios conducidos por Bisset et al. (2014) en cepas de referencia, al evaluar la cepa SAN-F6 (cepa presionada por 6 generaciones con temefos en el estado de larva) mostró susceptibilidad a deltametrina en el estado adulto. En este caso la resistencia a temefos no evidenció resistencia a deltametrina y esto es debido a que los adultos no expresan los mecanismos de resistencia al igual que en larvas. En contraste los adultos de SANF12 (cepa presionada por 12 generaciones con deltametrina) mostraron resistencia a los piretroides evaluados (deltametrina, cipermetrina y lambdaialotrina) en el estado adulto. Se debe inferir que la utilización sostenida de este piretroide provocará resistencia a otros piretroides.

Estudios realizados por Boyer et al. (2018) evidenciaron resistencia variable a temefos en las poblaciones urbanas y rurales estudiadas. Sin embargo la población urbana con mayor $FR_{50}=33,4$ a temefos evidenció mayor mortalidad en la fase adulta a deltametrina que la población urbana con más bajo FR_{50} (3,8) a temefos con la cual se obtuvo menos del 5% de mortalidad con deltametrina. Esto nos hace pensar que en este caso no es la resistencia a temefos, lo que induce resistencia a deltametrina como los resultados encontrados por (Rodríguez et al. 2003). Estos autores plantean que la resistencia encontrada a este piretroide puede deberse a la utilización muy puntual de cortinas impregnadas con Permanet 2.0 en una de las provincias estudiadas para el

control de la malaria en el año 2008, sin embargo la resistencia a permetrina fue más evidente que a deltametrina y este fue utilizado en los 90' con el mismo fin.

Dos de los principales mecanismos que provocan resistencias en los mosquitos son alteraciones en el sitio diana del insecticida, incluida la resistencia al derribo (*kdr*), mutaciones en el gen del canal de sodio dependiente de voltaje (*vgsc*) e incremento de la actividad metabólica (Brogdon and McAllister 1998, Liu 2015). La insensibilidad al sitio diana con el consecuente aumento de la actividad metabólica son mecanismos clave de resistencia a piretroides en poblaciones de mosquitos a nivel mundial (Contreras-Perera et al. 2020). La resistencia que surge de las mutaciones de *kdr* puede causar resistencia tanto al DDT como a los piretroides, ya que ambos tipos de insecticidas se dirigen a los canales de sodio (Du et al. 2013). Varios autores plantean la existencia de mutaciones asociadas al gen *kdr*, lo que confiere resistencia a piretroides donde la coexistencia de más de una de estas mutaciones provoca un mosquito más fuerte genéticamente lo que conllevaría a una mayor dificultad en el control (Plernsub et al. 2016, Saavedra-Rodriguez et al. 2018, Contreras-Perera et al. 2020, Rodríguez et al. 2020). Estos hallazgos destacan la importancia de monitorear el estado de susceptibilidad de los mosquitos poblaciones antes de seleccionar productos insecticidas para control de vectores, especialmente en áreas donde la resistencia puede ya estar presente y una selección adicional podría rápidamente dar lugar a la fijación de mutaciones *kdr*.

2.3.4.4. Formulado K-Othrine Polizone 62,5 SC

<https://www.vectorcontrol.bayer.com/solutions/products/k-othrine-polyzone>

El formulado K-Othrine Polizone 62,5 SC es el insecticida piretroide especialmente diseñado por Bayer para plagas urbanas y periurbanas. Utiliza como ingrediente activo deltametrina, con el más alto contenido de pureza del mercado. La suspensión concentrada (Floable) es una suspensión estable y homogénea de polvo micronizado del ingrediente activo, en un medio acuoso, obteniéndose así un producto: sin olor, con alta residualidad, no tóxico para plantas ni animales. Contiene un polímero patentado que protege el ingrediente activo de los efectos de las superficies agresivas, el clima, el riego y la abrasión mecánica. Es una suspensión potenciada con un polímero a base

de agua: el cual disminuye el riesgo de lavado del insecticida de las superficies tratadas. Se plantea una actividad residual en superficies interiores de 6 meses y en superficies externas de 3 meses. Su ingrediente activo, está aprobada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para su uso en interiores y exteriores. K-Othrine Polizone 62,5 SC cumple las especificaciones de formulación de la Agencia de protección Ambiental de EEUU (EPA) y de la Comunidad Económica Europea (CEE). Presenta mejores resultados en comparación con formulaciones que no contienen el polímero. No mancha y tiene poco olor y se aplica con un equipo de pulverización manual en una dosis de 25 mg/m².

MATERIALES Y METODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de Estudio

El estudio contó con un diseño cuasi experimental con características longitudinales, las cuales transitaron diferentes etapas:

Una Fase pre-tratamiento año 2017 para la realización de pruebas de susceptibilidad a nivel de laboratorio utilizando papeles impregnados con el ingrediente activo (deltametrina) y posteriormente selección de las manzanas a aplicar el producto.

Una Fase de Tratamiento Noviembre- Diciembre 2017 donde se aplicó la formulación a la totalidad de las manzanas seleccionadas

Una Fase Post-tratamiento desde Enero a Diciembre del 2018 realización de bioensayos recogida y análisis de datos que nos permitieran conocer el impacto de la formulación K-Othrine Polyzone 62.5 SC durante ese tiempo.

Descripción del área de estudio.

La provincia Matanzas está ubicada en la parte Norte de la Región Occidental limita al Norte con la provincia Mayabeque al Este con la provincia de Villa Clara. Dentro de sus municipios se encuentra Cárdenas cabecera provincial. El municipio se encuentra ubicado en los 23° 02' latitud Norte y los 81° 15' longitud Oeste, limita al norte con el Estrecho de La Florida, al este con el Municipio Martí, al Sur con los municipios de Jovellanos y Limonar y al Oeste con el municipio Matanzas (Fig. 4). El municipio Cárdenas se encuentra dividido en 5 áreas de salud: Ramón Martínez, José Antonio Echeverría, Héroes del Moncada, Antonio Piti Fajardo, Humberto Álvarez.

El área de salud ``Héroes del Moncada`` se seleccionó para el estudio teniendo en cuenta que durante los años 2016-2017 informó los mayores índices casa y Breteau dentro del municipio (Fig.5). Este territorio posee una extensión de 52km² con 251 manzanas urbanas y 200 correspondientes al área rural con una población estimada de 42516 habitantes.

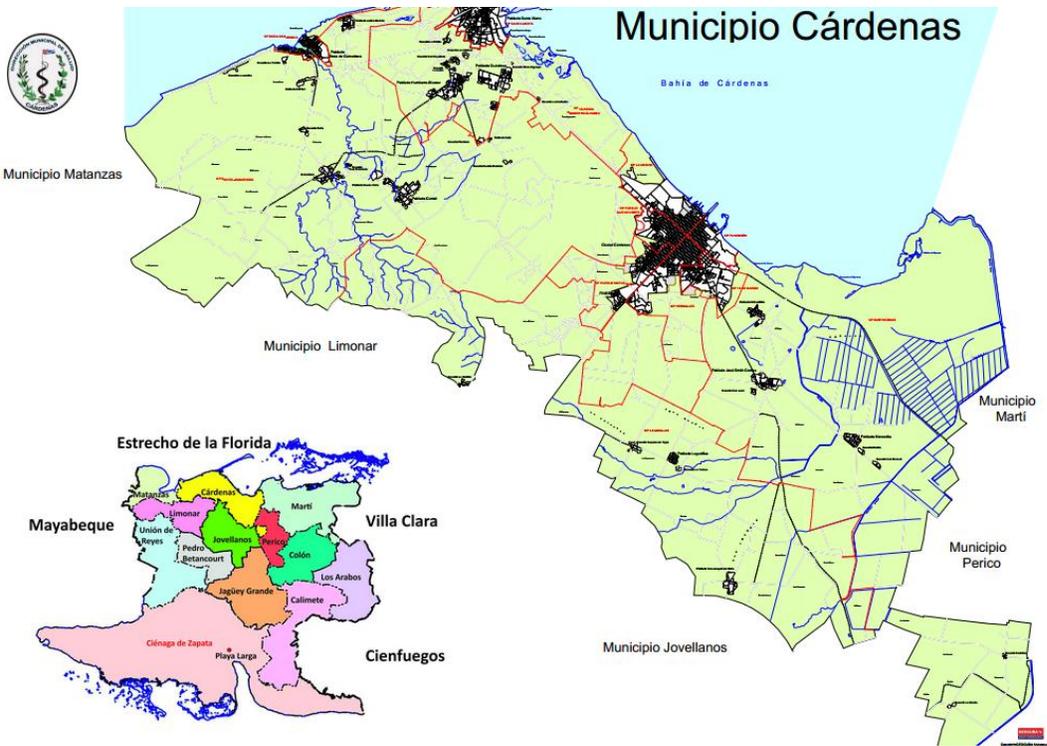


Figura 4 Ubicación geográfica de municipio Cárdenas en la provincia Matanzas, Cuba. Tomado de dirección municipal de salud de Cárdenas

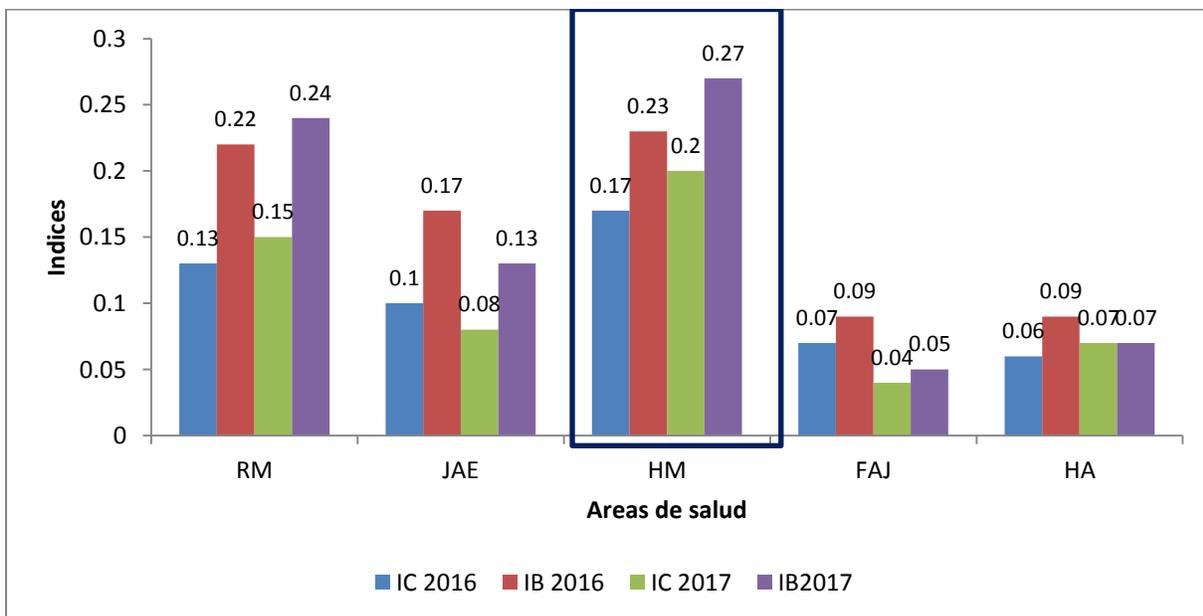


Figura 5. Índices casa (IC) e índice Breteau (IB) de las 5 áreas de salud correspondientes al municipio Cárdenas, Matanzas, Cuba. Ramón Martínez (RM), José Antonio Echeverría (JAM), Héroes del Moncada (HM)- enmarcada en azul-, Antonio Piti Fajardo (FAJ), Humberto Álvarez (HA) en los años 2016-2017.

Material biológico:

Cepa Rockefeller: cepa susceptible a insecticidas de referencia, suministrada por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), San Juan, Puerto Rico, 1996.

Población Cárdenas: la cual fue colectada en el año 2017, en estado de huevo mediante ovitrampas.

Cría y mantenimiento de las poblaciones de mosquitos en el insectario

La población de Cárdenas utilizada se crió en el insectario del Departamento de Control de Vectores del IPK siguiendo la metodología descrita en el Manual de Indicaciones Técnicas del Insectario (Pérez et al. 2004). La temperatura de los locales durante el período de estudio se mantuvo en $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ y la humedad relativa de $75\% \pm 2$ y un fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

Los mosquitos adultos se mantuvieron en jaulas cúbicas de 60 cm, forradas de tela doble para impedir el escape de individuos a través de los orificios. La alimentación en el estado adulto para los machos consistió en; azúcar en granos. Para las hembras se colocó ratones BalB/c de 6 a 10 semanas de edad con un peso entre 18 y 22 gramos procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), Cuba. Los ratones se ubicaron en cepos individuales durante dos horas, dos veces a la semana dentro de las jaulas. Para la recogida de huevos, en cada jaula se colocó un recipiente con agua con una tira de papel en su borde interior que garantizó la posterior recolección de los huevos. Las tiras con huevos se colocaron en bandejas sobre una superficie húmeda durante 24 horas, para garantizar el correcto desarrollo de la embriogénesis. Al retirarse de las bandejas, las tiras de huevos se dejaron secar y se almacenaron durante cortos períodos de tiempo (no menos de 3 meses) para su posterior utilización.

Para garantizar la eclosión de los huevos, las tiras conteniendo los mismos, se colocaron en cubetas plásticas (35 x 25 x 15 cm) con un volumen de 2 L de agua declorinada a 26°C . Las larvas emergidas se alimentaron con harina de pescado 1g/L,

que contiene mayoritariamente aminoácidos esenciales y bajas cantidades de iones calcio, fosfato, carbohidratos y lípidos, producida por CENPALAB.

Reactivos

Los reactivos utilizados de forma general fueron; acetona EMSURE® y Etanol absoluto EMPROVE®

3.1 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de papeles impregnados

Para la determinación de la susceptibilidad ante el ingrediente activo deltametrina; requisito fundamental para definir la aplicación del tratamiento, se utilizaron individuos de la población Cárdenas y la cepa Rockefeller.

Para la realización de los bioensayos se utilizaron papeles de filtro (12x15cm) impregnados por la OMS con deltametrina a 0,05 %. En cada tubo se colocaron 20 hembras de 3 días de edad, sin alimentar, comenzando por el control. Cada concentración contó un control y cuatro réplicas. Se expusieron por un periodo de 1 hora según metodología (WHO 2016). Al final del período de exposición, los mosquitos adultos se transfirieron a tubos de reposo y mantenidos en posición vertical por 24 horas (con almohadillas de algodón empapado en agua en la parte superior). Como criterio de mortalidad se definió los individuos inmóviles en el fondo del tubo después de agitar suavemente. Estos bioensayos se realizaron de forma simultánea con la cepa Rockefeller y la población Cárdenas.

No fue necesario aplicar la fórmula de Abbott para corregir la mortalidad de los bioensayos, pues este indicador fue menor del 5 % en los controles (Abbott 1925). La temperatura no excedió los 25° C y la humedad relativa fue mayor que 50 %. Para el diagnóstico de la susceptibilidad y/o resistencia se realizó según el criterio recomendado por la OMS:

Mosquitos susceptibles: si la mortalidad se encuentra entre 98 a 100 %.

Verificación de la resistencia: si la mortalidad se encuentra entre 80 a 97 %.

Mosquito resistente: si la mortalidad es inferior a 80 %.

3.2 Tamaño y Selección del Muestra

Previo a la selección se realizó una encuesta utilizando ovitrampas se escogieron de forma aleatoria 10 manzanas dentro de las de mayor IC y IB como método comprobatorio de su nivel de infestación. Se utilizó el método de (Hayes and Bennett 1999) para la estimación del tamaño de la muestra en estudio. El área de salud Héroes del Moncada se encuentra ubicada dentro del Consejo popular Versailles (Fig. 6A). Posee 451 manzanas (251 área urbana y 200 área rural) distribuidas en 5 consultorios. De este universo se seleccionaron, las manzanas con mayores índices Casa y Breteau en los últimos meses del año 2017 (algunas de ellas de forma repetitiva), escogiendo de forma aleatoria 56 manzanas dentro del área urbana para el estudio. Así como también se incorporaron 56 manzanas como control (Fig 6B).

3.3 Aplicación de la formulación K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas

Como paso previo se adiestró al personal en la metodología de tratamiento a emplear. Se seleccionaron para la aplicación de tratamiento residual intradomiciliario 56 manzanas como habíamos mencionado anteriormente. De un total de 2113 viviendas, fueron incluidas 1960 en el estudio, previo autorización de los moradores y firma de consentimiento informado (Anexo 1). Se escogieron además 14 con 574 viviendas, a las que se les realizó tratamiento exterior además del interior debido a sus condiciones higiénicas ambientales y por históricamente poseer los mayores índices de infestación.

El tratamiento intradomiciliar se realizó en los principales sitios de reposo de *Ae. aegypti* dentro de la vivienda: debajo de camas, asientos y muebles, detrás de los cuadros y puertas, en los baños; debajo de los lavabos, detrás de la tasa del inodoro. El tratamiento residual extradomicilio se aplicó de forma perifocal a los tanques bajos y a la superficie que rodean los mismos (denominada trampas), así como a las paredes exteriores de las viviendas en su totalidad incluyendo ventanas, puertas además de los marcos.

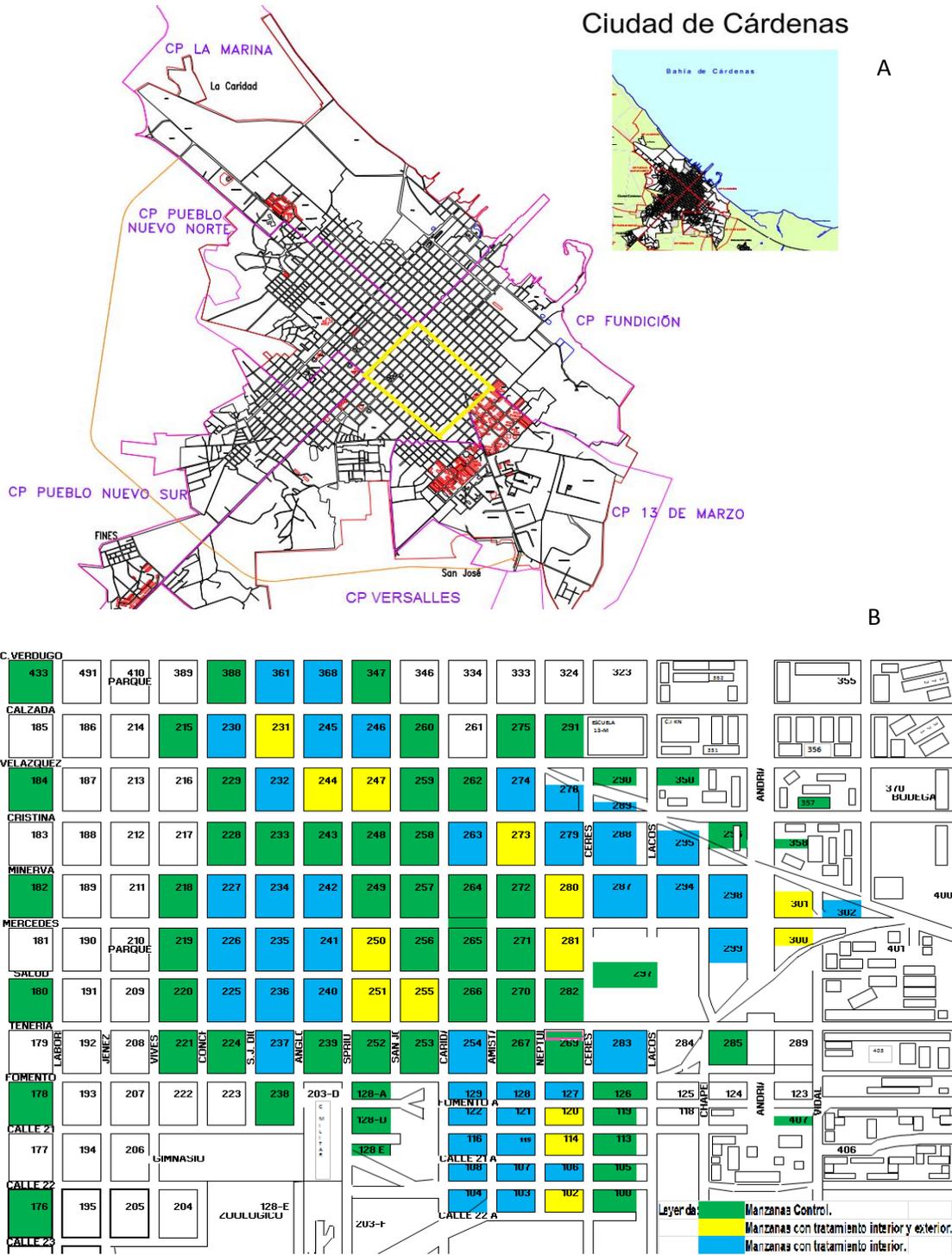


Figura 6. Ubicación geográfica del área seleccionada para la intervención (enmarcada en amarillo) dentro del consejo popular Versalles (A). Manzanas seleccionadas para el estudio; en verde: manzanas control, en azul manzanas con tratamiento interior y en amarillo tratamiento interior + exterior (B)

El formulado K-Othrine PolyZone 62,5 SC se preparó a razón de 10 ml/L de agua, con para una dosis 20–25 mg de i.a./m² para ser distribuido a razón de 30-50 ml/m². La aplicación se realizó con el pulverizador de compresión previa Guarany de 1 galón, en las que se colocó una mezcla de 40 mL de K-Othrine PolyZone 62,5 SC + 3960 ml de agua para un total de 4000 ml de mezcla total. El equipamiento contó con boquillas plana 80-02 la que permite un gasto de mezcla dentro del rango recomendado por OMS de 760 ml/min \pm 15 ml. El rociamiento se realizó en franjas verticales de 75 cm de ancho, con una superposición de 5 cm, desde arriba hacia abajo, manteniendo la punta del aspersor a 45 cm de las superficies a tratar, para asegurar el ancho correcto de la franja según el metodología de la OMS (WHO 2007).

Debemos destacar que durante el periodo de estudio se continuó con las actividades habituales y rutinarias del Programa de Control de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.

3.4 Evaluación del efecto residual de K-Othrine Polyzone 62.5 SC mediante la metodología estandarizada de los conos.

Previo al tratamiento se realizaron bioensayos durante 4 semanas siguiendo la metodología de la OMS en diferentes superficies ubicadas en dos viviendas con el objetivo de descartar presencia de algún agente químico en las espacios a tratar (WHO 2006b).

Posterior al tratamiento se utilizaron 2 viviendas de las manzanas que fueron tratadas intra y extradomiciliar y 2 viviendas control. Se seleccionaron diversas superficies, tales como, azulejo, madera, plástico, metal, mampostería donde se colocaron los conos (Fig.7).

El primer bioensayo se realizó a las 24 horas de impregnadas las superficies y con una frecuencia semanal después de realizado el tratamiento. Se utilizaron lotes de 20 hembras de 3 a 6 días de emergidas, de la población de *Ae. aegypti* Cárdenas, establecida en el insectario del Centro de Control de Mosquitos con sede en Varadero como una excepción, mientras duró la etapa de evaluación, para la cual se adoptaron todas las medidas de seguridad biológica. Se evaluó 4 réplicas por cada tipo de superficie. Las hembras expuestas permanecieron durante una hora en contacto con

las superficies tratadas. Transcurrido este tiempo fueron extraídas utilizando un capturador (exhauster de cristal) comenzando por los controles y posteriormente los conos de las superficies tratadas para evitar contaminarlos. Los mosquitos fueron trasladados a vasos limpios, los cuales se cubrieron con doble tela de malla colocada en su parte superior y atada con una banda elástica. Se anotó el derribo (KN =Knock Down) correspondientes por cada una de las superficies tratadas, incluyendo las que se utilizaron como control que no estuvieron expuestas al insecticida. A cada vaso se le colocó en la parte superior externa un fragmento de algodón previamente humedecido. A las 24 horas se leyó la mortalidad, el ensayo se repitió cada 7 días, durante 15 semanas, el cual se discontinuó cuando el derribo fue inferior a 80%, según criterio de la OMS (WHO 2006a)

Para cada bioensayo semanal se tuvo en cuenta el cambio de lugar en cada tipo de superficies donde se fijarían los conos. No fue necesario aplicar la fórmula de Abbott para corregir la mortalidad de los bioensayos, pues la mortalidad fue menor del 5%. La temperatura no excedió los 25° C y la humedad relativa fue > 50% (Abbott 1925).



Figura 7. Bioensayos de conos realizados *in situ* sobre diferentes tipos de superficies, metal, azulejo, madera.

3.5 Evaluación de la eficacia de la formulación K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas

La eficacia se determinó a través del cálculo de los índices, ovitrampas, casa y Breteau en las manzanas tratadas y control como un indicador de infestación o positividad post-

tratamiento durante un año. El cálculo del índice ovitrampa (IO), índice densidad del vector (IDV) y Densidad de huevos (DH) (de Castro 1998) se realizó mediante las siguientes fórmulas:

$$IO = \frac{\text{Ovitrampas positivas}}{\text{Total de ovitrampas}} \quad IDV = \frac{\text{Total huevos}}{\text{Total de ovitrampas positivas}}$$

$$DH = \frac{\text{Total de huevos}}{\text{total de ovitrampas}}$$

Se colocaron 20 ovitrampas (10 en interior y 10 en exterior de las viviendas) en manzanas seleccionadas de forma aleatoria para comprobar niveles de infestación (Fig. 4), las que se chequearon semanalmente después del tratamiento durante 15 semanas (tiempo óptimo de residualidad para cualquier formulado establecido por Cuba) .El cálculo de los Indices Breteau y casa se realizó según lo establecido por el Programa de Vigilancia y Control de Vectores (DNVLA 2012)

$$IB = \frac{\text{depósitos positivos}}{\text{casas inspeccionadas}} \quad IC = \frac{\text{casas positivas}}{\text{casas inspeccionadas}}$$



Figura 8 Ovitrampas colocadas en el interior y exterior de las viviendas

3.6 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de botellas y papeles impregnados, post-intervención

Transcurridos 1 año y medio se colectó mediante ovitrampas una muestra de la población de *Ae. aegypti* del área de salud evaluada y fue estabilizada nuevamente en

el insectario. Los adultos emergidos se utilizaron para evaluar el estado de susceptibilidad posterior a la intervención. Esta vez se realizó mediante papeles (descrito anteriormente acápite 3.1) y botellas impregnadas con deltametrina.

Los bioensayos utilizando botellas impregnadas se realizaron siguiendo el protocolo del (CDC 2010), modificado por la utilización de botellas de vidrio de 250 ml de capacidad con tapa esmerilada (Rodríguez et al. 2017). Las botellas fueron impregnadas con 1 mL de deltametrina a 10 µg/mL dosis recomendada por (CDC 2010) y 6,5 µg/mL dosis recomendada por (Rodríguez et al. 2017). Las soluciones fueron aplicadas en el interior de cada botella y se rotó hasta la total evaporación del disolvente. El control se impregnó con un 1ml de acetona. Las botellas se cubrieron con papel de aluminio culminada la impregnación y se les colocó la tapa correspondiente transcurridas 24 horas. Se utilizó un control y cuatro réplicas por concentración a evaluar.

Para los bioensayos se colocaron 15 hembras de uno a tres días de edad en cada botella, comenzando por el control. Durante 1 hora los individuos se observaron y confirmó el número de derribados cada 5 minutos. Transcurrido 60 minutos, se consideraron muertos aquellos mosquitos que no pudieron volar cuando se movía la botella con suavidad o los que se mantuvieron inmóviles en el fondo de la botella.

Análisis estadístico

Se exploró la normalidad en la distribución de los datos mediante una prueba de Shapiro-Wilk. Se utilizó la prueba no paramétricas Wilcoxon para muestras relacionadas para la comparación de las variables Índice casa e Índice Breteau, separados por semestres. El nivel de α fue establecido en $p \leq 0,05$. Se utilizó el paquete estadístico SPSS, v21 para Macintosh.

Consideraciones éticas

La aplicación en las viviendas partió de la autorización de los moradores y del principio de voluntariedad, con pleno conocimiento de los objetivos y particularidades del estudio además de la firma del consentimiento informado (Anexo 1). El personal implicado en el tratamiento con el formulado contó con los debidos medios de protección para evitar intoxicaciones o daños por mala manipulación del producto.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de papeles impregnados, fase pre-tratamiento

Al evaluar el estado de susceptibilidad en la población de Cárdenas y al comparar con cepa Rockefeller utilizando papeles impregnados con deltametrina a 0,05 %, se puede observar que antes de culminar la hora de exposición, el 100 % de los individuos resultaron derribados (Fig. 9). A las 24 horas, el total de los individuos expuestos de la población manifestó un 100 % de mortalidad, por lo que la población de Cárdenas por los criterios de la OMS, se comportó susceptible. Este resultado propició como condición necesaria para la continuidad del estudio en el terreno.

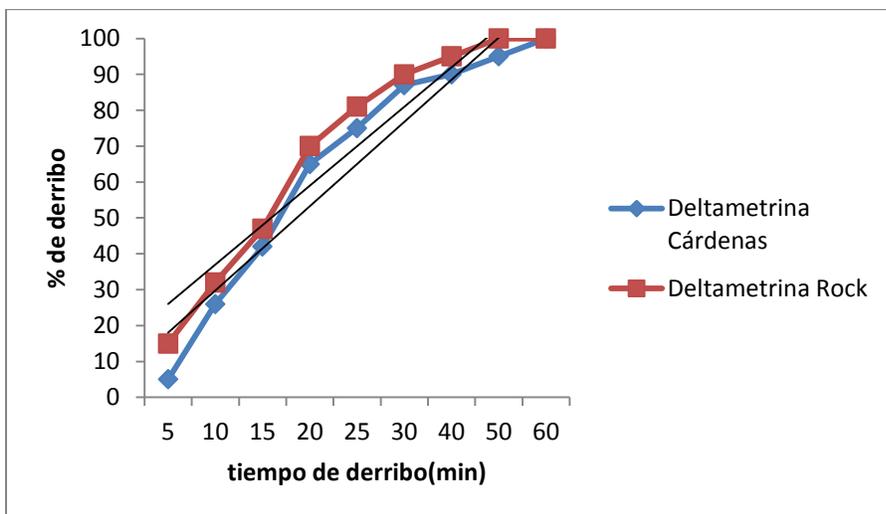


Figura 9 Porcentaje de derribo cada 5 minutos durante una hora de la población Cárdenas y la cepa Rockefeller ante papeles impregnados con deltametrina al 0,05%. Las rectas negras constituyen líneas de tendencia que evidencian el comportamiento lineal de regresión positiva hacia una respuesta homogénea de susceptibilidad.

4.2 Evaluación del efecto residual de K-Othrine Polyzone 62.5 SC mediante la metodología estandarizada de los conos

Posterior a la intervención con K-Othrine Polyzone 62.5 SC se evaluó durante 15 semanas el efecto residual en diferentes superficies tratadas pos-tratamiento. En la

figura 10 se puede observar el alto porcentaje de mortalidad obtenido transcurrido ese tiempo. La residualidad del azulejo seguido del concreto y la madera fluctuó desde las primeras semanas (Fig. 10A), pero se mantuvo alta (> 80 %) hasta la semana 11 para el azulejo, concreto semana 12 y madera semana 13. En cuanto a la mortalidad sin embargo en todas las superficies se mantuvo por encima del 80 % hasta la semana 12. En el plástico y el metal ocurrieron las más altas mortalidades durante las 15 semanas de la evaluación (Fig. 10B). Es importante destacar que de estos materiales se encuentran constituidos la mayoría de los recipientes de almacenamiento de agua para el consumo humano.

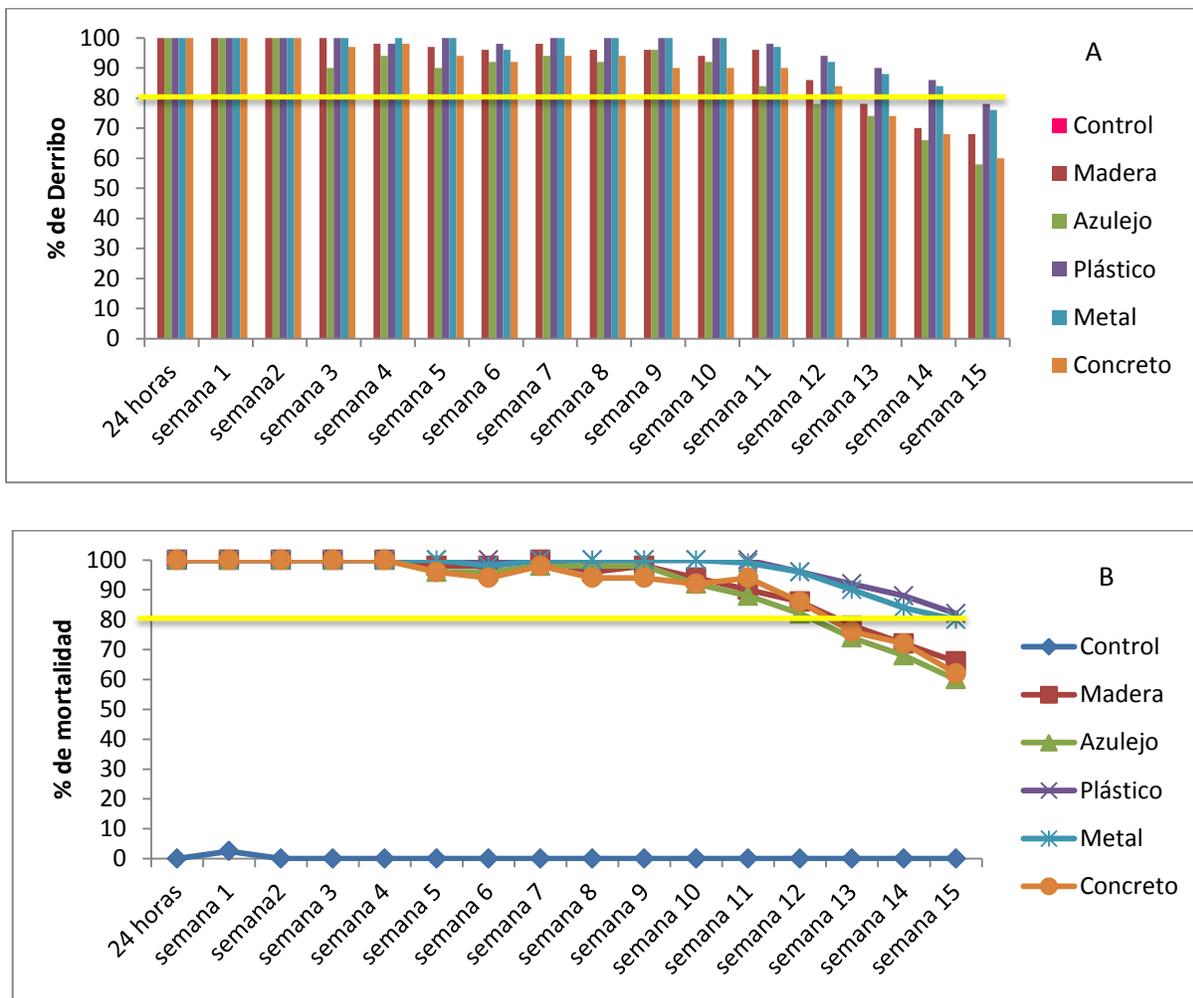


Figura 10 Porcentaje de derribo (A) y de mortalidad (B) obtenido al exponer hembras de la población Cárdenas sobre superficies impregnadas *in situ* con K-Othrine Polyzone 62.5 SC durante 15 semanas post-tratamiento. Línea amarilla en destaca criterio de la OMS para discontinuar estudio (derribo < 80 %)

4.3 Eficacia de K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas para el control de *Aedes aegypti* en el área de salud estudiada

Al evaluar la eficacia de la aplicación mediante el cálculo del índice ovitrampas (IO), primero destacamos que excepto en la semana 7 y 8, en todas las semanas, se encontró positividad la cual fue inferior al 25 % en estos dispositivos de vigilancia en las manzanas expuestas y superior al 60 % en los controles (Fig. 11)

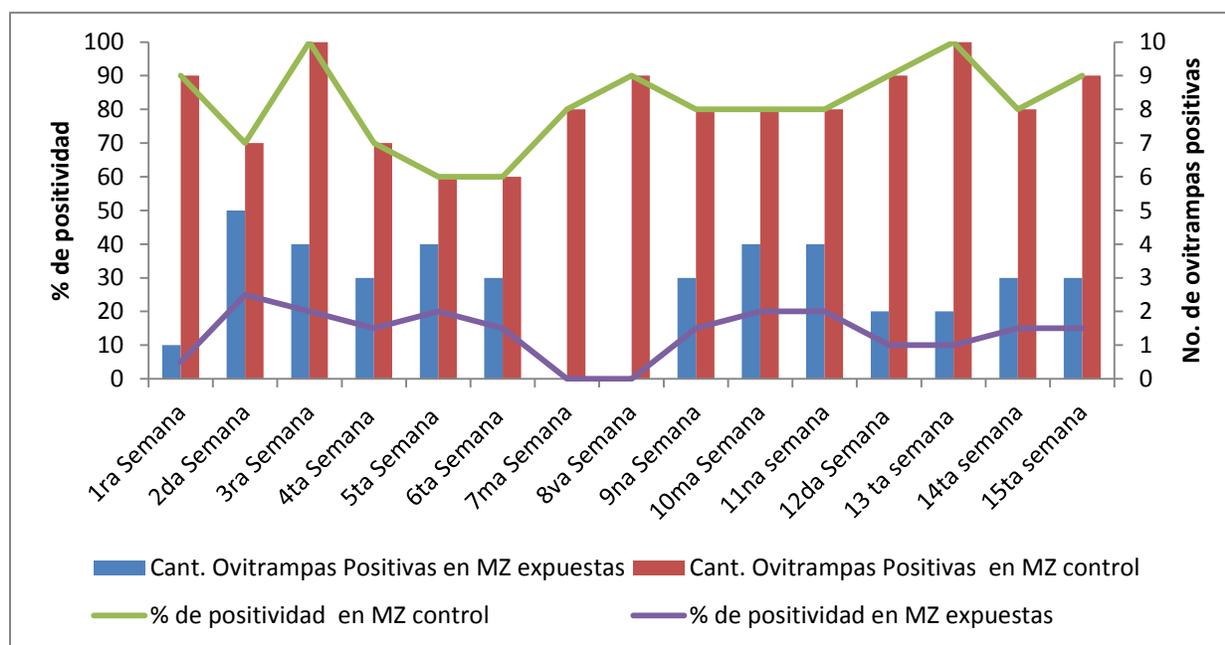


Figura 11 Porcentaje de positividad de las ovitrampas colocadas de forma aleatoria en una muestra de las 56 manzanas donde se aplicó el tratamiento

Los índices ovitrampas (IO) calculados nos muestran que entre el 12 y el 25 % de estos dispositivos fueron visitados por hembras de *Ae. aegypti*. Al comparar el IO en las manzanas con tratamiento interior (TI) con el IO de las manzanas con tratamiento interior y exterior (TIE) encontramos una mayor positividad en el primer grupo (Fig. 12A), destacándose un mayor número de ovitrampas positivas de las cuales, cinco estuvieron localizadas dentro de las viviendas y cuatro en el exterior (Fig. 12B). Las ovitrampas con mayor número de huevos estuvieron limitadas en el exterior de las viviendas con 67 y 63 huevos cada una en el periodo analizado. En cuanto al segundo grupo, es decir en manzanas con tratamiento en el interior y el exterior, se destaca, una

menor cuantía de ovitrampas positivas de las cuales, la de mayor número de huevos (36) se ubicó en el exterior de una vivienda (Fig.12C).

Es importante destacar que de las 12 ovitrampas ubicadas en el primer grupo de tratamiento (TI), dos fueron negativas durante las 15 semanas, una misma ovitrampa resultó positiva en seis ocasiones, y tres ovitrampas en cuatro ocasiones. Mientras que en el segundo grupo (TIE), cuatro ovitrampas de las 8 colocadas de forma aleatoria en esas manzanas resultaron negativas en el periodo analizado. De las 4 restantes una sola resultó positiva en tres ocasiones, siendo su ubicación dentro de la vivienda. De forma general de las 14 ovitrampas que resultaron positivas durante el periodo analizado, el número de dispositivos positivos en exterior como en interior fue equitativo (7:7) independientemente del grupo en que fueron ubicadas.

Al calcular el índice Densidad del vector (IDV) según ovitrampas para las manzanas con TI este osciló entre 1 y 3,5 (las ovitrampas fueron visitadas entre 1 a 3 hembras) siendo este valor más alto en la semana 11 y para las manzanas con TIE fue de 0,5 a 2,5 (Fig 13A). De igual manera el índice Densidad de huevos (IDH) se comportó más elevado en estas manzanas (Fig 13 B), el cual se encuentra relacionado directamente con que el número de huevos fue mayor en las manzanas TI.

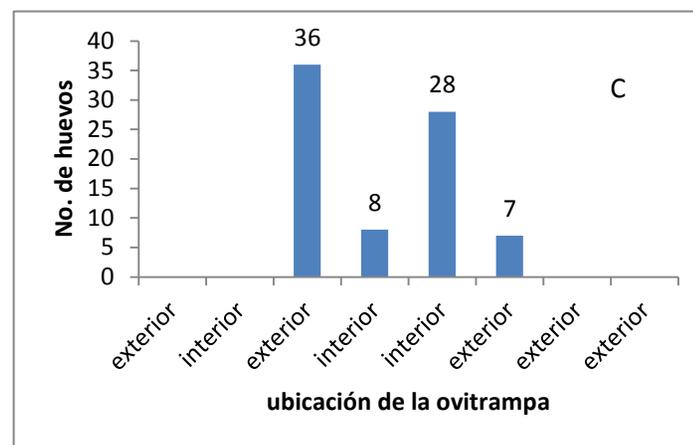
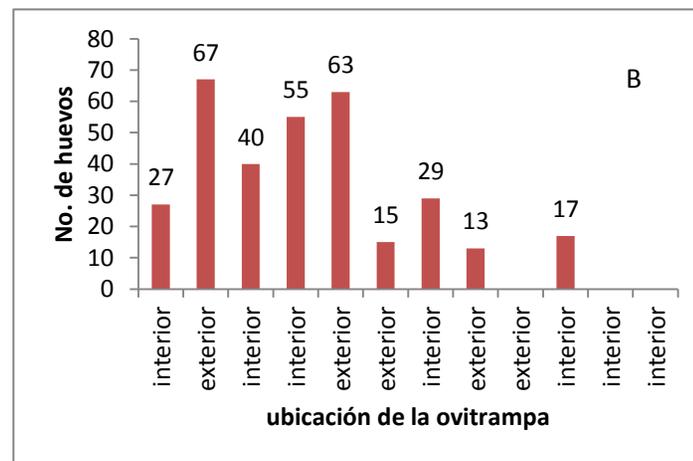
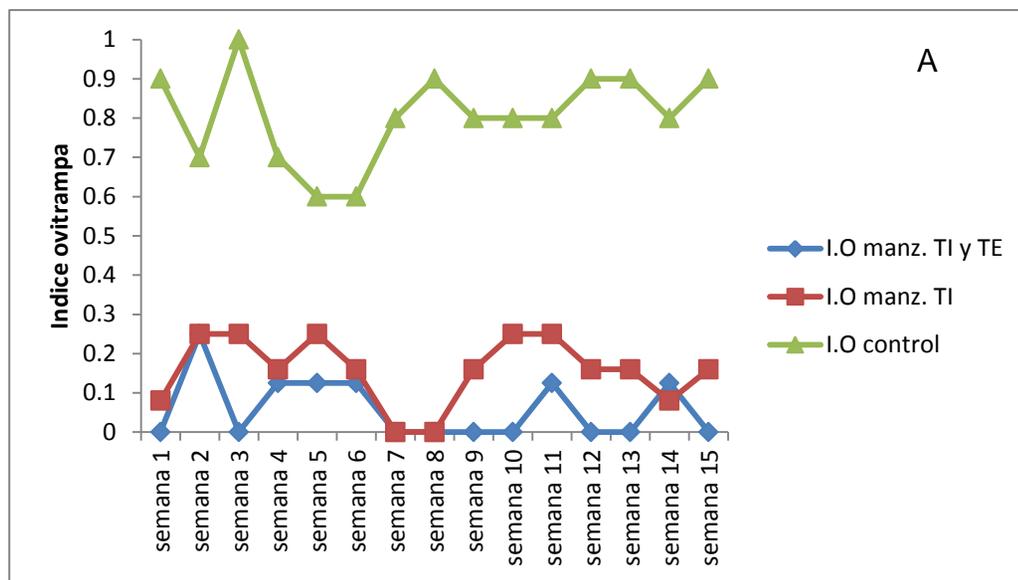


Figura 12 Índice Ovitrapa (A) en las manzanas que recibieron tratamiento interior (rojo), tratamiento en exterior e interior (azul), B-C número de huevos por ovitrampas positivas en las manzanas tratadas

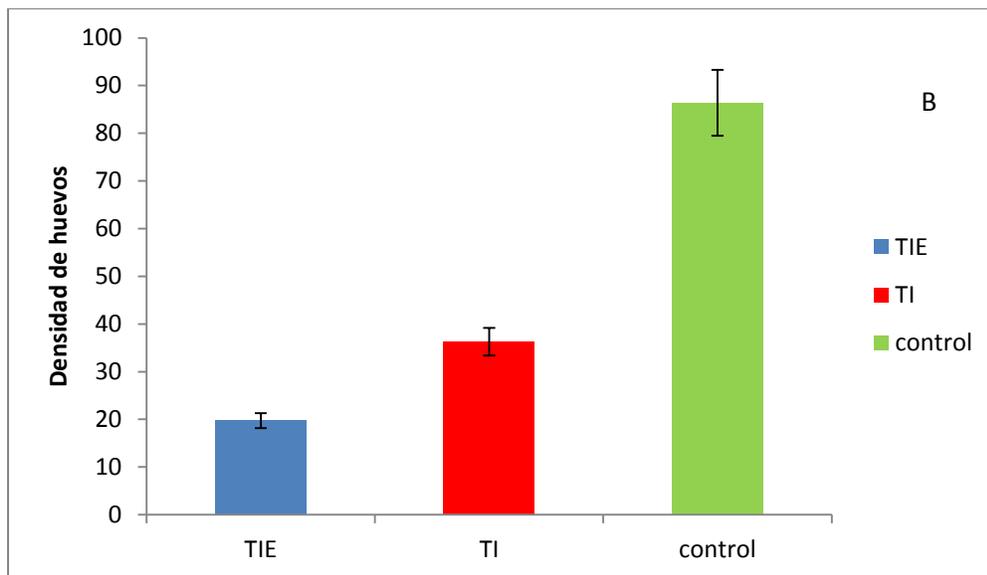
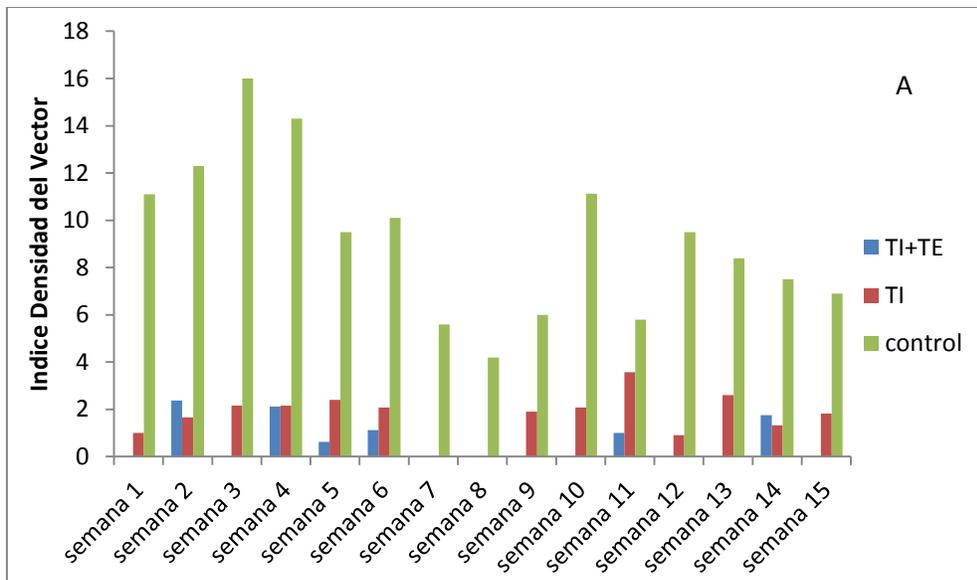


Figura 13 Índices Densidad del vector (A) e Índice Densidad de huevos (B) para las manzanas control, tratamiento interior (TI) y tratamiento exterior + interior (TIE)

Al analizar el impacto de esta intervención utilizando los índices establecidos por el Programa de Control de *Aedes aegypti* podemos plantear que en el periodo pre tratamiento se encontró diferencia significativa ($p=0,042$) entre las manzanas seleccionadas para el tratamiento y las manzanas control. En la etapa post intervención

se evidencia diferencia estadísticamente significativa ($p=0,027$) entre las manzanas tratadas y las manzanas control en ambos índices, haciéndose evidente la disminución de la positividad a este vector en área de estudio (Fig.14). En la figura 15 se muestra el resultado obtenido en las manzanas que fueron aplicadas intra y extradomiciliarmente, en el cual los índices calculados disminuyeron visiblemente y de forma significativa en los semestres analizados (Enero-Julio 2018 $p=0.039$; Julio-Diciembre 2018 $p=0.018$) más que las manzanas control. Ambos índices disminuyeron más en estas manzanas que los obtenidos en las manzanas tratadas solo de forma intradomiciliar.

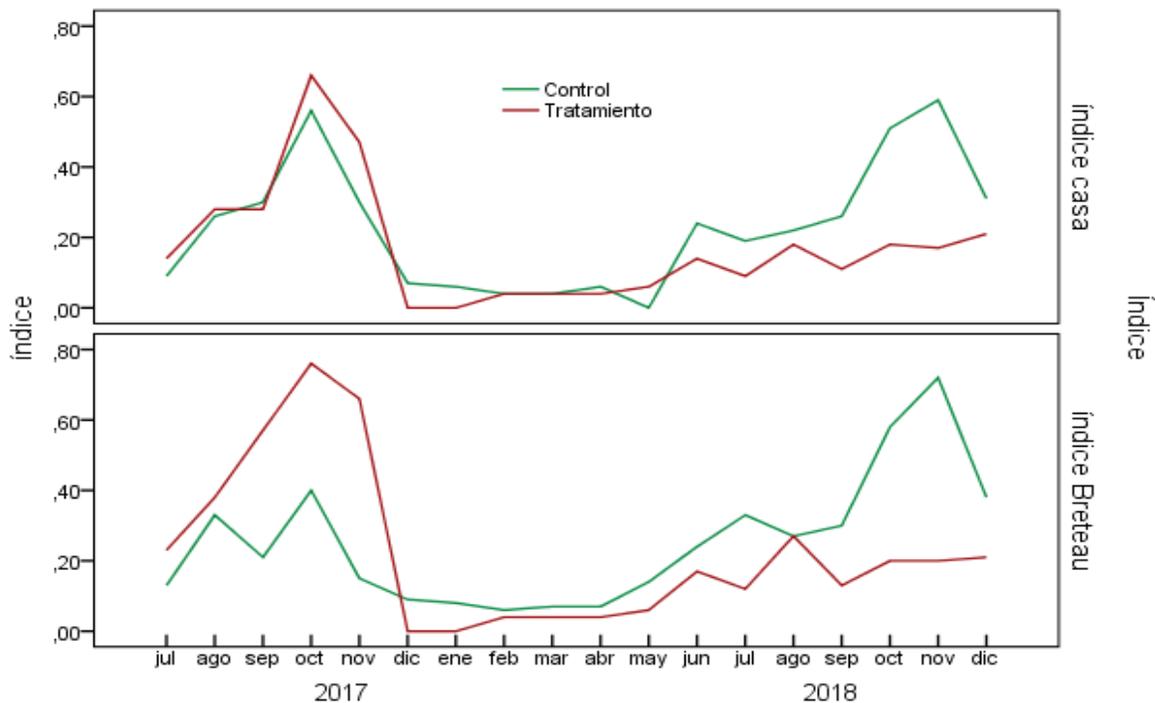


Figura 14 Comportamiento del Índice Casa e Índice Breteau en las 56 Manzanas Tratadas (1260 viviendas) del Policlínico Héroes del Moncada en el período Julio-Octubre 2017 (Pre-tratamiento), Noviembre-Diciembre 2017(Tratamiento) Enero-Diciembre 2018 (Post Tratamiento).

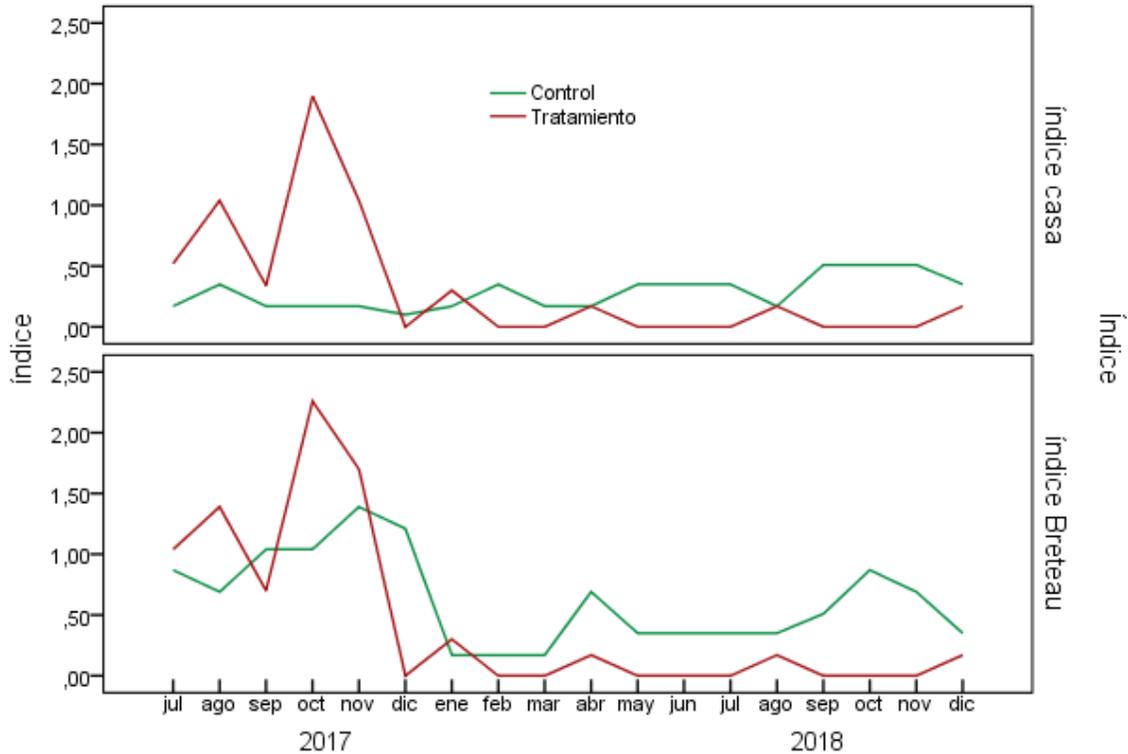


Figura 15. Comportamiento del Índice Casa e Índice Breteau en las manzanas 14 manzanas escogidas (574 viviendas) para tratamiento interior y exterior. Periodo Julio-Octubre 2017 (Pre-tratamiento), Noviembre-Diciembre 2017(Tratamiento) Enero – Diciembre 2018 (Post Tratamiento)

4.4 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de botellas y papeles impregnados (enero 2019)

Al realizar las pruebas de susceptibilidad y /o resistencia transcurrido un año y medio, luego de la aplicación del tratamiento, esta vez mediante dos metodologías, encontramos que la población de mosquitos Cárdenas se mostró susceptible a deltametrina tanto por papeles impregnados como por botellas impregnadas a dos dosis, como lo muestra la figura 16 A,B,C.

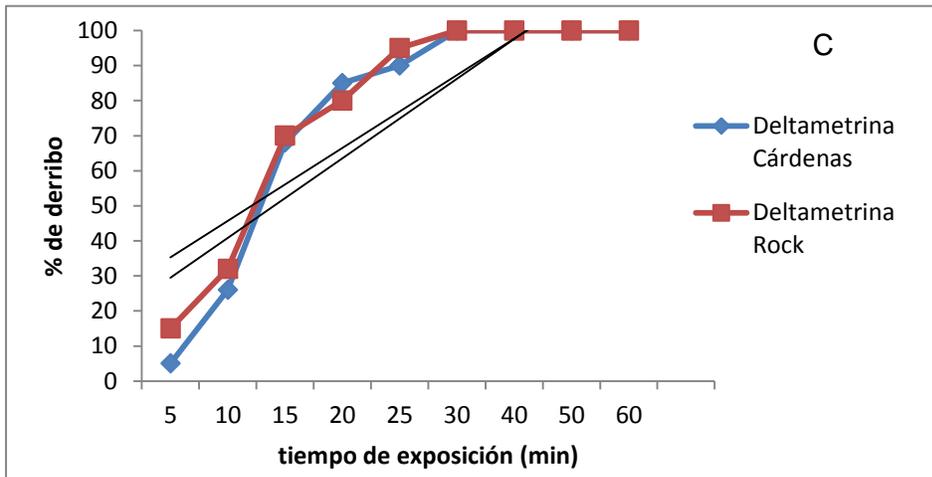
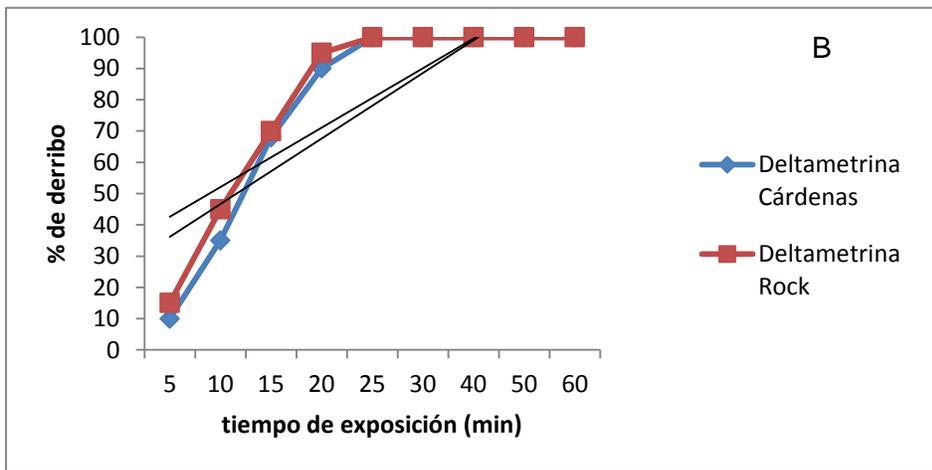
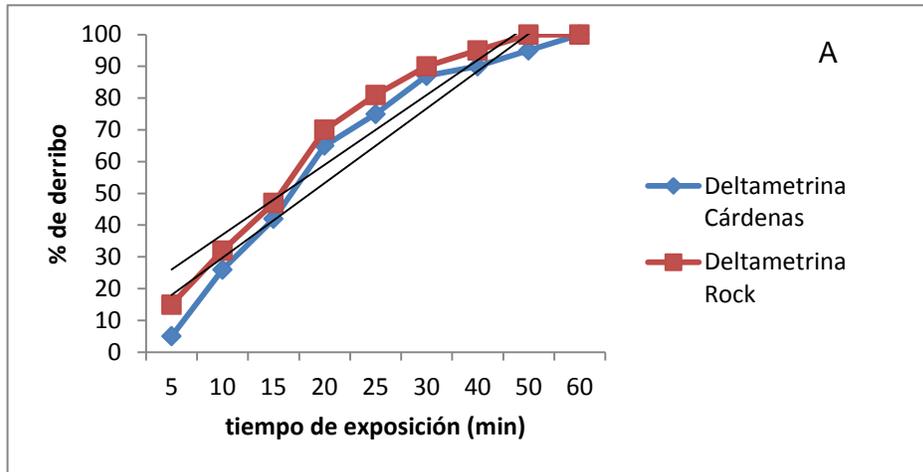


Figura 16. Pruebas de susceptibilidad a deltametrina realizadas con una población de Cárdenas colectada en el año 2019: papeles impregnados 0.05% (A) botellas impregnadas 6µg/mL (B), botellas impregnadas 10 µg/mL (C). Las rectas negras constituyen líneas de tendencia que evidencian el comportamiento lineal de regresión positiva hacia una respuesta homogénea de susceptibilidad

DISCUSSION

5. Discusión

5.1 Estudio de Susceptibilidad y/o Resistencia a deltametrina en condiciones de laboratorio mediante la metodología de botellas y papeles impregnados, pre y post intervención.

La lucha química es un importante componente dentro de las estrategias de control integral que actualmente se ejecutan en Cuba. En nuestro país a partir de 1981 se utilizaron los insecticidas malatión para el control de mosquitos adultos y fention para tratamientos perifocales. Los piretroides comenzaron a aplicarse a partir de 1986 y especialmente cipermetrina en los últimos años. Estudios de laboratorio a principios de siglo, demostraron resistencia cruzada a piretroides y organofosforados inducida por selección con temefos en *Ae. aegypti* (Rodríguez et al. 2002), resistencia cruzada a piretroides inducida por selección con malatión (Rodríguez et al. 2003) y por selección con deltametrina (Rodríguez et al. 2005). No obstante deltametrina es un piretroide que no se ha empleado con regularidad en nuestro país, excepto como tratamiento perifocal (TPF) con K-Othrina 250 WG, (i.a deltametrina) en Camagüey y Santiago de Cuba (Montada et al. 2012, González 2015), por lo que no existe una aplicación sostenida de este insecticida dentro de las políticas de control en nuestro Programa Nacional de Vectores.

Teniendo en cuenta este antecedente inferimos que el estado de susceptibilidad a este insecticida de la población Cárdenas antes de la intervención y transcurrido año y medio post-tratamiento es atribuible a esta condición. Estudios similares realizados por Montada et al. (2018) estimaron que la causa probable de susceptibilidad a deltametrina en la población de Santiago de Cuba, pudo manifestarse, además de la nula aplicación de este insecticida es en esa localidad, por la heterogeneidad de los individuos utilizados para el bioensayo. Esta condición favorece la respuesta susceptible ante un insecticida, lo que pudiese ser también causa probable en nuestro estudio. Otro aspecto es que a pesar de la utilización sostenida de temefos para el control larval de *Ae. aegypti* en la provincia, este no generó resistencia a deltametrina (Bisset et al. 2014) en esta población .

No obstante son diversos los estudios que plantean, gran variabilidad en cuanto al estado de susceptibilidad ante este piretroide en poblaciones de *Ae. aegypti*. (Pinto

2017) al evaluar mediante botellas impregnadas este insecticida en una población de Cundinamarca, Colombia, encontró susceptibilidad a este insecticida. Trabajos realizados por Marcombe et al. (2019) por ejemplo, encontraron susceptibilidad a deltametrina en las poblaciones adultas de *Ae. aegypti*, sin embargo en larvas encontraron resistencia este piretroide. Los autores plantearon que ese resultado contradictorio puede deberse a la utilización de la concentración discriminatoria de 0,05% recomendada por la OMS, la cual subestima el fenotipo de resistencia a la deltametrina. Otra explicación inferimos pudiese ser que los mecanismos de acción metabólica no se expresan de igual forma en larvas que en adultos (French et al. 2013).

La resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* se asocia principalmente con la sobreexpresión de determinadas enzimas (resistencia metabólica) y/o mutaciones en la secuencia de la proteína diana que induce insensibilidad al insecticida (resistencia en el sitio de acción). El sitio de destino principal de los mecanismos de resistencia conocidos en *Ae. aegypti* implican sustituciones de aminoácidos en el canal de sodio dependiente de voltaje (VGSC) que causa una resistencia a los insecticidas DDT / piretroides conocidos como resistencia al derribo (kdr) (Stenhouse et al. 2013, Hirata et al. 2014, Haddi et al. 2017).

Goindin et al. (2017) en las evaluaciones realizadas a poblaciones de *Ae. aegypti* en Islas Guadalupe encontraron resistencia a deltametrina la cual atribuye a la utilización de este piretroide a partir de los años 90'. Khan and Akram (2019) evaluó 12 poblaciones de Paquistán con botellas impregnadas encontrando que por los factores de resistencia calculados, cuatro regiones resultaron susceptibles. La resistencia encontrada en el resto de las poblaciones no fue atribuible a los mecanismos de acción metabólica sino a la posible incidencia de mutaciones asociados a genes kdr. Estos resultados coinciden con los estudios descritos por (Vazquez-Prokopec et al. 2017b) en las poblaciones estudiadas en Mérida donde obtuvo menos del 80 % de derribo al exponer a adultos a las botellas impregnadas con deltametrina a la dosis diagnóstico, situación que justificó con la presencia de la mutación 1534C y 1016I en más del 98% y 71% respectivamente de la población testada, lo que le confiere gran resistencia a piretroides. Demok et al. (2019) por su parte encontró resistencia en *Ae. aegypti* y

susceptibilidad en *Ae. albopictus* a deltametrina. Este resultado se justifica con la presencia de tres mutaciones del canal sodio (V1016G, F1534C y S989P) en las poblaciones de *Ae. aegypti* estudiadas, sin embargo en *Ae. albopictus* solo se encontró F1534C, la que no confiere por si sola resistencia a piretroides.

Estudios realizados por Grossman et al. (2018) plantean que la susceptibilidad fenotípica en *Ae. aegypti* a un insecticida se puede restaurar en una población de campo altamente resistente en solo 10 generaciones si no se realiza presión de selección con el mismo. No obstante es importante señalar que las mutaciones kdr son recesivas, incluso, cuando la resistencia desaparece, pueden continuar presentes en los individuos heterocigóticos, la que podría reaparecer ante una nueva selección con insecticidas. Estudios posteriores deben realizarse con la población Cárdenas para corroborar la presencia o no de mutaciones de este tipo, teniendo en cuenta el informe realizado por (Rodríguez et al. 2020) en poblaciones de un municipio de la Habana.

Las intervenciones basadas en la aplicación de insecticidas pueden puede malograrse cuando el estado de susceptibilidad y/o resistencia no se tiene en cuenta. Teniendo en cuenta este aspecto es de fundamental importancia la susceptibilidad al insecticida que se aplicará en la intervención, esto redundará en la aprobación o el fracaso de la misma (Vazquez-Prokopec et al. 2017b). La susceptibilidad encontrada en nuestro estudio permitió continuar con la experimentación proyectada. La evaluación posterior a la intervención, la cual corroboró susceptibilidad a deltametrina, se justifica debido a que no se realizaron nuevas aplicaciones de esta formulación en el área estudiada y de esta manera no ocurrió presión de selección con este insecticida sobre esta población de mosquitos.

5.2 Evaluación del efecto residual de K-Othrine Polyzone 62.5 SC en el tiempo mediante la metodología estandarizada de los conos.

Las aplicaciones de tratamientos residuales han sido generalizados en América para el control de triatomíneos (Palomino et al. 2007, Mougaboure-Cueto and Picollo 2015). En otras áreas del planeta se utilizan para el control de la Malaria (Dengela et al. 2018) y la Filaria (Ibrahim 2017), destacándose un interés creciente en la implementación y

generalización de esta metodología para el control de las arbovirosis (Ab Hamid et al. 2020).

Los adultos de *Ae. aegypti* normalmente descansan en los interiores de las viviendas (endofilia), donde se alimentan con frecuencia y casi exclusivamente de sangre humana (antropofilia) (Stoddard et al. 2013, Dzul-Manzanilla et al. 2017). Esto explica por qué las fumigaciones espaciales en los exteriores de los locales tienen poca eficacia contra este vector (Esu et al. 2010, Vythilingam and Wan-Yusoff 2017). La aplicación de insecticidas en interiores pueden ejercer un impacto más directo sobre mosquitos adultos en reposo (Samuel et al. 2017). Esta se emplea particularmente durante las epidemias debido a que de forma rápida, se logra el derribo de adultos que presumiblemente se encuentran volando. Suele suceder que se requieran hasta tres aplicaciones para lograr la máxima eficacia aunque la perdurabilidad sea reducida (Dunbar et al. 2019).

La aplicación de insecticidas residuales en interiores puede proporcionar protección a más largo plazo después de una sola aplicación; sin embargo, el tiempo empleado puede incrementarse, debido a que es necesario retirar todos los muebles y las pertenencias del morador de la vivienda (Dunbar et al. 2019). Esta razón hace el trabajo más intenso y con menor aceptación de la comunidad (Paz-Soldán et al. 2018) lo que obstaculiza su generalización para el control de vectores específicamente sobre *Ae. aegypti*. La eficacia de una intervención de acción residual depende de varios factores; a) la susceptibilidad de los mosquitos vectores a los insecticidas rociados, b) del tipo de formulación, la calidad del rociamiento, cobertura de rociado, c) naturaleza de la superficie y d) la cooperación de los moradores para no eliminar el rociado de las superficies a través del lavado o pintura (Bowman et al. 2016, Ibrahim 2017, Sreehari et al. 2018). En nuestro estudio como se destacó en el epígrafe anterior se partió de la susceptibilidad de la población de mosquitos al insecticida a utilizar. En cuanto a la formulación; el formulado K-Othrine Polizone 62,5 SC, con escasos resultados prácticos publicados en la literatura, es una suspensión potenciada con un polímero que, según su fabricante, protege el ingrediente activo de los efectos de las superficies agresivas, el clima, la abrasión mecánica y disminuye el riesgo de lavado del

insecticida de las superficies tratadas, por lo que la formulación resultaba prometedora. Por otra parte el estudio partió del 92,75% de las viviendas previstas por lo que un gran número de la población involucrada apoyó y permitió la intervención dentro de sus viviendas. El fracaso de esta intervención podría deberse entre otros factores al no cumplimiento de las expectativas enunciadas por el fabricante sobre su perdurabilidad.

Habitualmente este tipo de intervenciones es evaluada mediante el ensayos de conos (WHO 2006b) para determinar la residualidad en las diferentes tipos de superficie y de esta forma la eficacia (Dzib Florez 2019) aunque existen otras metodologías (Dunbar et al. 2019). Estos bioensayos según algunos autores deberían realizarse idealmente sobre superficies impregnadas en habitaciones humanas reales, debido a que los bioensayos bajo condiciones controladas, pueden evidenciar un efecto residual más prolongado (Galardo 2009). En nuestro estudio, se obtuvo mediante la metodología de los conos en superficies tratadas de dos viviendas, un alto porcentaje de mortalidad en los mosquitos expuestos, a las superficies metálicas y plásticas durante 11 semanas, seguido del concreto, donde de la semana 4 a la 12 se evidenció más del 95% de mortalidad. Dzib Florez (2019) en ensayos realizados con *Ae. aegypti*, en condiciones controladas con sprays domésticos que contenían piretroides obtuvo una perdurabilidad entre 2 y 3 semanas. Las superficies de madera y concreto evaluados con estos spray proporcionaron el mayor tiempo de residualidad, resultados que coinciden parcialmente con los nuestros.

El mayor número de artículos sobre residualidad de insecticidas se encuentran descritos sobre vectores de Malaria. Dengela et al. (2018) en revisión realizada sobre la aplicación de insecticidas residuales para el control de la Malaria en África, destaca que utilizando la metodología de los conos en países como Ghana, Nigeria, Mozambique y Rwanda informaron residualidad de deltametrina en superficies de cemento y madera de 4 a 5 meses. Un estudio de campo en Sudáfrica reveló una eficacia residual de 2 a 3 meses de K-Othrine 250 WG (deltametrina) en superficies de barro y cemento, mientras que la K-Othrine Polizone SC-PE (deltametrina) evidenció una eficacia residual prolongada hasta 12 meses en ambas superficies (Brooke et al. 2008). Esta misma formulación se utilizó en un estudio de semicampo en la Florida, Estados Unidos

demostrando la presencia de este principio activo en paneles de metal y cemento por un año y 6 meses en madera para *Anopheles gambiae* (Dunford et al. 2018). En Tanzania, el resultado de la evaluación en el laboratorio de estas formulaciones mostraron presencia del principio activo de 5,2 y 10,1 meses en superficies de barro y hormigón, respectivamente y en madera contrachapada se evidenció hasta 16 meses después del rociamiento (Oxborough et al. 2014). Evaluaciones realizadas en Camerún demostraron que K-Othrine 250 WG (deltametrina) rociada sobre superficies de concreto mostró un efecto residual hasta 6 meses seguido de superficies de barro y madera con 5 y 4 meses, respectivamente (Etang et al. 2011). Un estudio realizado en Nigeria sobre *Culex quinquefasciatus* utilizando K-Othrine 250 WG, mostró una residualidad de 120 días en superficies de cemento, madera y barro (Ibrahim 2017).

En la mayoría de los estudios las tasas de mortalidad en los grupos expuestos se establecen como satisfactorios cuando este indicador se comporta mayor o igual al 80%, de acuerdo con los criterios de (WHO 2006b). En el caso del estudio realizado por Ibrahim (2017) las tasas de derribo y de mortalidad a las 24 horas fueron similares en los intervalos de tiempo evaluados. En bioensayos realizados por Corrêa et al. (2019) utilizando deltametrina en dos tipos de superficies, las tasas de mortalidad de *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *marajoara* se mantuvieron por encima del 80% para los 8 meses del experimento en las superficies de madera y cemento pintados, siendo la mortalidad superior para madera que para cemento. En nuestro estudio, los valores de derribo y mortalidad a las 24 horas se mantuvieron similares hasta la semana 11. A partir de la semana 12 la mortalidad continuó superior al 80 % en la mayoría de las superficies exceptuando el metal y el plástico que se mantuvieron en este indicador hasta que se discontinuó el ensayo en la semana 15. Estos resultados difieren de los estudios realizados por Ab Hamid et al. (2019) en las paredes de cemento los que mostraron hasta la semana 16 una alta mortalidad.

Los factores que pueden haber influenciado, dentro de nuestro estudio en la baja perdurabilidad de algunas superficies, pueden ser desde la textura lisa y poco adherente en el azulejo, hasta la porosidad del concreto (las cuales no se definieron en el estudio si las paredes que se muestrearon se encontraban con o sin pintura, pulidas

o sin pulir). Algunos autores plantean que la superficie rugosa y porosa de las paredes de concreto son altamente alcalinas, tienden a absorber el insecticida, degradar más rápidamente el principio activo y reducir el efecto residual (Camilleri 1984, Santos et al. 2007, Rohani et al. 2017), a lo cual se incorpora el efecto de las temperaturas y las precipitaciones en las paredes exteriores de las viviendas. Estudios realizados por Rohani et al. (2020) para el control de los vectores de malaria exponen que K-Othrine PolyZone logró un control eficaz de los mosquitos tanto en interiores sobre superficies agresivas difíciles, como en condiciones exteriores bajo la influencia de la precipitación por lo que consideraron una intervención eficaz. No obstante las residualidades obtenidas en las superficies tratadas correspondieron con los parámetros y expectativas establecidos por el fabricante.

5.3 Eficacia de K-Othrine Polyzone 62.5 SC como tratamiento residual en el interior y exterior de las viviendas

La evaluación de intervenciones de control puede realizarse a través de algunos métodos de vigilancia, como los índices; ovitrampa (Mateus-Niño, 2019), Breteau, casa (González 2015, Chavez Iñiguez 2017, Pinto 2017), ante la dificultad de sostener determinadas metodologías evaluativas por tiempos prolongados. Estos índices se utilizan habitualmente para determinar los cambios en la distribución geográfica de una población, las estimaciones relativas de su abundancia a lo largo del tiempo (casa, recipiente y Breteau) o la densidad relativa de adultos; por medio de trampas para este propósito u ovitrampas (Barrera 2016).

Las ovitrampas o trampas de oviposición son recipientes donde las hembras de los mosquitos depositan sus huevos. El índice de ovitrampas positivas (IO), es un indicador de la sensibilidad del método debido a que se detecta la presencia del vector en menor tiempo que con los índices larvarios tradicionales (Alarcón et al. 2014). El índice densidad vectorial (IDV), determinado a través del total de huevos entre el total de ovitrampas colocadas nos permite realizar un estimado de la abundancia de mosquitos vectores en las zonas de muestreo. El índice de densidad de huevos (IDH) es una medida que permite relacionar la alimentación efectiva de los mosquitos ya que la oviposición solo se garantiza con una dieta sanguínea, y por lo tanto, un IDH alto indica

una activa interacción con hospederos humanos. Sin embargo, como todos los índices, se configuran como un abordaje exploratorio sugerente de las posibles condiciones reales que condicionan la presencia de *Ae. aegypti* (Mateus Niño 2019).

Todos los índices calculados en este estudio mediante la utilización de las ovitrampas nos muestran el impacto de la intervención durante el periodo analizado. No es lógica la eliminación total de los individuos al utilizar cualquier método de control, incluyendo el control químico. La aplicación de insecticidas opta por disminuir los niveles de infestación de vectores a límites permisibles, pero una aplicación de insecticidas residuales, no elimina inmediatamente el adulto como se lograría con una aplicación espacial. Este tipo de intervención presupone alejar los mosquitos de su fuente de ingesta logrando la muerte por intoxicación del individuo si este entra en contacto con el insecticida en sitios de reposo pos-hematofágico.

En nuestro estudio los valores de estos índices se comportaron relativamente bajos al comparar con otras investigaciones (Alarcón et al. 2014, Richards et al. 2017, Ab Hamid et al. 2019). Estudios descritos para *Ae. albopictus* por Richards et al. (2017) al comparar Termiticida Bifen y K Othrine Polyzone como aereosoles de barreras, encontraron que las ovitrampas fueron positivas todas las semanas oscilando el número de huevos entre 10 y hasta más de 100. Ab Hamid et al. (2019) al evaluar K-Othrine Polyzone encontró una reducción de las poblaciones de mosquitos debido a la baja positividad de las ovitrampas tanto en interiores como en el exterior al comparar con los controles, no obstante los IO fueron menores que 70 pero mayores que 40.

Los índices IDV e IDH en algunos estudios se asocian con los casos de dengue (Alarcón et al. 2014). En Brasil, demostraron que la densidad de huevos no era un indicador muy eficiente para determinar el riesgo de presentación de casos de la enfermedad, pero que si podría tener un grado de sensibilización alto para determinar la presencia de adultos de *Aedes* spp, aún, en lugares de baja infestación (Dibo et al. 2008). En nuestro estudio, podemos plantear que existió presencia de mosquitos post intervención por los índices calculados, aunque la densidad vectorial y de huevos fue baja evidenciando que la incidencia del vector fue escasa durante el período analizado.

Los índices Casa y Breteau calculados después de la intervención durante un año y medio, fueron bajos al comparar con las manzanas control. Durante las 15 semanas (Enero-Marzo) que se mantuvieron colocadas las ovitrampas, estos índices se comportaron más bajos, inclusive en algunos casos, que el índice ovitrampa. Nuestros resultados resultan similares a lo argumentado por otros autores. Alarcón et al. (2014) por ejemplo, pudieron observar que la utilización de los índices ovitrampas mostró ser más sensible que los habituales índices Breteau, casa y recipiente, a pesar que estos indicadores disminuyeron al comparar con las viviendas control. Los autores plantean que esto minimiza el riesgo epidemiológico y que estos índices no son los más adecuados para determinar el riesgo de infestación, ya que consideran el mismo nivel de riesgo un recipiente con alta que con baja densidad de estadios inmaduros. Otros autores sin embargo lo utilizan satisfactoriamente. Pinto (2017) encontró reducción de los Índices casa y Breteau, el índice Ovitampa y la captura en reposo de adultos postratamiento al evaluar la utilización de Aqua K-Othrine® EW 20 (deltametrina) para el control de *Ae. aegypti*. Paredes-Esquivel et al. (2016) argumenta en su estudio que los índices de infestación previos a la intervención fueron moderados (IB =14,3, IC=8,9), los cuales son significativamente más elevados que los de nuestro estudio, los que disminuyeron y permanecieron bajos 16 semanas después de la pulverización con deltametrina.

Puede que existan diferencias en los criterios evaluativos post intervención en la literatura, como también, es posible que se necesite implementar otros métodos cuantitativos que nos permitan evaluar todo el universo entomológico de un área pre y post intervención. Pero podemos afirmar que la aplicación de K-Othrine PolyZone 62,5 SC favoreció la disminución de la positividad el área de salud Héroes del Moncada.

Limitaciones del estudio.

Como todo estudio experimental de terreno existieron limitaciones tales como;

- i) La evaluación de la residualidad utilizando la metodología de los conos y las ovitrampas no se extendió por más de las 15 semanas. Esto nos hubiese

permitido comparar, por mayor extensión de tiempo, la residualidad en las superficies.

- ii) No se incluyó en el diseño experimental la captura de adultos post intervención, lo cual nos hubiese confirmado la presencia del vector y la coexistencia de más de una especie de mosquito.
- iii) No se evaluó el estado de susceptibilidad a otros insecticidas en la población seleccionada, lo que podría brindarnos una detallada caracterización de su estado de resistencia.
- iv) No se realizó un análisis de costos, lo que pudiera de alguna forma, confirmarnos que la intervención fue costo-eficaz.

No obstante con el sesgo que pudiese tener la recolección de los datos y sus limitaciones pensamos que la aplicación de K-Othrine Polyzone 62,5 SC fue efectiva, logrando reducir, mediante varios indicadores establecidos por el programa, la población de mosquitos en el área tratada. Las estrategias tradicionales de control de *Ae. aegypti* se encuentran dirigidas a controlar estadios inmaduros y prevenir así los brotes de dengue. Es esencial seleccionar estrategias que se dirijan también al control del adulto. La utilización de este tipo de intervención dentro de “puntos calientes” podría ofrecer protección adicional a áreas que consistentemente reportan altas tasas de transmisión de arbovirosis (Bisanzio et al. 2018, Hladish et al. 2020). Un insecticida de acción residual que brinde protección por más de 5 meses podría proteger de forma proactiva a los hogar durante toda una temporada de transmisión con una sola aplicación (Dunbar et al. 2019).

CONCLUSIONES

Conclusiones

1. La población Cárdenas resultó susceptible al insecticida deltametrina, lo que permitió realizar la intervención con el formulado K-Othrine Polyzone 62.5 SC en el área de salud Héroes del Moncada.
2. La mayor residualidad de K-Othrine Polyzone 62.5 SC se encontró en las superficies de metal y plástico (materiales de los cuales están constituido la mayoría de los recipientes de cría), seguido del concreto (paredes) y la madera (muebles) por lo que las superficies de cría y reposo fueran protegidas, durante el tiempo establecido por el fabricante.
3. De Enero 2018 a Diciembre de 2018 las manzanas tratadas con K-Othrine Polyzone 62.5 SC se mantuvieron con índices casa y Breteau por debajo de los indicadores establecidos, logrando que el área de salud Héroes del Moncada disminuyera su focalidad dentro del municipio Cárdenas.
4. La población Cárdenas mantuvo el estado de susceptibilidad un año y medio post-intervención, por lo que esta única aplicación, sin necesidad de ciclos sucesivos de K-Othrine Polyzone 62.5 SC no generó resistencia a deltametrina.

RECOMENDACIONES

Recomendaciones

1. Monitorear el estado de susceptibilidad de las poblaciones de mosquitos donde se pretenda aplicar esta o cualquier tipo de intervención de control químico, y realizar estudios sobre la implicación de enzimas metabólicas y mutaciones genéticas implicadas en la resistencia a insecticidas.
2. Realizar los estudios de residualidad utilizando la metodología de los conos en mayor número de superficies y prolongarlos por las semanas que sean necesarias los estudios sin limitarse al tiempo establecido por el fabricante.
3. Teniendo en cuenta la sensibilidad demostrada de las ovitrampas, realizar los estudios necesarios para incorporar las mismas como sistema de vigilancia en las áreas con alta incidencia del vector
4. Evaluar el costo efectividad del tratamiento peri focal con Kohtrine Polyzone 62.5 SC en términos de impactos económicos sobre las acciones rutinarias de fumigación tanto intra como extra domiciliar y a su vez en la incidencia del Dengue y otras arbovirosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Referencias bibliográficas

- Ab Hamid, N., N. Mohd Noor, S. Saadatian-Elahi, M. Isa, N. Rodzay, R. Ruslan, and O. e. a. Balqis.** 2019. Residual spray for the control of *Aedes* vectors in dengue outbreak residential areas. *Advances in Entomology*; 07: 105-123.
- Ab Hamid, N., S. N. Mohd Noor, J. Susubi, N. R. Isa, R. Md Rodzay, A. M. Bachtiar Effendi, A. A. Hafisool, F. A. Azman, S. F. Abdullah, M. K. Kamarul Zaman, N. Wasi Ahmad, and H. L. Lee.** 2020. Semi-field evaluation of the bio-efficacy of two different deltamethrin formulations against *Aedes* species in an outdoor residual spraying study. *Heliyon*; 6: e03230.
- Abbott, W. S.** 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*; 18: 265-267.
- Alarcón, E. P., A. M. Segura, G. Rúa-Urbe, and G. Parra-Henao.** 2014. Evaluación de ovitrampas para vigilancia y control de *Aedes aegypti* en dos centros urbanos del Urabá antioqueño. *Biomédica*;34: 409-424.
- Ansari, M. A., and R. K. Razdan.** 2004. Impact of residual spraying of bendiocarb against the malaria vector *Anopheles culicifacies* in selected villages of the Ghaziabad Distric, Uttar Pradesh, India. *Journal American Mosquito Control Association*; 20: 418-423.
- Arredondo, G. J. L.** 2017. Primera vacuna contra el dengue. *Revista Latin Infect Pediatric*; 30: 4-5.
- Barrera, R.** Recomendaciones para la vigilancia de *Aedes aegypti*. *Biomédica* 2016; 36: 454-462
- Bengoa, M., R. Eritja, and J. Lucientes.** 2013. Laboratory tests of the residual effect of deltamethrin on vegetation against *Aedes albopictus*. *Journal American Mosquito Control Association*; 29: 284-288.
- Bhatt, S., P. W. Gething, O. J. Brady, J. P. Messina, A. W. Farlow, C. L. Moyes, and J. M. Drake.** 2013. The global distribution and burden of dengue. *Nature*; 496: 504-507.
- Bisanzio, D., F. Dzul-Manzanilla, H. Gomez-Dantes, N. Pavia-Ruz, T. J. Hladish, and A. Lenhart.** 2018. Spatio temporal coherence of dengue, chikungunya and Zika outbreaks in Merida, Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases*; 12.
- Bisset, J. A., M. M. Rodríguez, A. Soca, N. Pasteur, and M. Raymond.** 1997. Cross-Resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides in the southern house mosquito (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Journal of Medical Entomology*; 34: 244-246.
- Bisset, J. A., M. M. Rodríguez, J. Hemingway, C. Diaz, J. Small, and E. Ortiz** 1991. Malathion and pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from Cuba: efficacy of pirimiphos-methyl in the presence of at least three resistance mechanisms *Medical and Veterinary Entomology*; 5: 223-228
- Bisset, J. A., M. M. Rodríguez, D. Hurtado, H. Hernández, V. Valdéz, and I. Fuentes.** 2016. Resistencia a insecticidas y sus mecanismos bioquímicos en *Aedes aegypti* del municipio Boyeros en los años 2010 y 2012. *Revista Cubana Medicina Tropical*; 68(3).

- Bisset, J. A., M. M. Rodríguez, M. Moya, Y. Ricardo, D. Montada, R. Gato, and O. Pérez.** 2011. Efectividad de formulaciones de insecticidas para el control de adultos de *Aedes aegypti* en La Habana, Cuba. *Revista Cubana Medicina Tropical* 63.
- Bisset, J. A., M. M. Rodríguez, L. French, D. W. Severson, G. Gutiérrez, D. Hurtado, and I. Fuentes.** 2014. Insecticide resistance and metabolic mechanisms involved in larval and adult stages of *Aedes aegypti* insecticide-resistant reference strains from Cuba. *Journal American Mosquito Control Association* 30: 298-304.
- Bowman, L. R., S. Donegan, and P. J. McCall.** 2016. Is dengue vector control efficient in effectiveness or evidence?: Systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10.
- Boyer, S., S. Lopes, D. Prasetyo, J. Hustedt, A. S. Sarady, D. Doum, S. Yean, B. Peng, S. Bunleng, R. Leang, D. Fontenille, and J. Hii.** 2018 Resistance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations to deltamethrin, permethrin, and temephos in Cambodia. *Asia Pacific Journal Public Health* 30: 158-166.
- Braks, M., H. Rio, P. Lounibos, P. Lourenc, O. Oliveira, and A. Juliano.** 2004. Interspecific competition between two invasive species of container mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in Brazil. *Annual Entomol Society American* 97.
- Brogdon, W. G., and J. C. McAllister.** 1998. Insecticide resistance and vector control. *Emergent Infect Disease* 4: 605-613.
- Brooke, B., O. Wood, L. Koekemoer, A. Mabuza, F. Mbokasi, and M. Coetzee.** 2008. Small scale field testing and evaluation of the efficacy and residual action of a new polymer-enhanced suspension concentrate deltamethrin formulation for malaria vector control in Mpumalanga Province, South Africa. *Commun Disease Surv Bulletin* 12: 108-114.
- Camilleri, P.** 1984. Alkaline hydrolysis of some pyrethroid insecticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32 1122-1124.
- Carrada, T., L. Vazquez, and I. Lopez.** 1984. Ecology of dengue and *Aedes aegypti* *Salud Publica Mexicana* 26: 63-76.
- Castex, M., D. Montada, I. González, S. Estévez, O. San Blas, and R. González.** 2008. Efectividad del tratamiento perifocal con Ficam (Bendiocarb) 80 WP en el control de *Aedes aegypti* en Santa Clara, Cuba. *Revista Cubana Medicina Tropical* 60: 92-94.
- Castro, M. A., C. D. Pérez, V. L. Sánchez, R. I. Toledo, P. Lefèvre, and P. Van der Stuyft.** 2019. Sostenibilidad de una estrategia cubana de empoderamiento comunitario para la prevención del dengue desde la perspectiva de sus actores claves. *Revista Cubana Medicina Tropical* 71.
- CDC.** 2010. Guideline for evaluating insecticide resistance in rectors using the CDC Bottle Bioassay. In: BROGDON, G. & CHAN, B. H. (eds.)Centers for Disease Control and Prevention.
- Clapham, H., and B. Wills.** 2018. Implementing a dengue vaccination programme-who,where and how? . *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 112: 367-368.

- Consoli, R., and R. Oliveira.** 1994. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro. Fiocruz 228.
- Contreras-Perera, Y., G. Ponce-García, K. Villanueva-Segura, B. Lopez-Monroy, I. P. Rodríguez-Sánchez, A. Lenhart, P. Manrique-Saide, and A. E. Flores.** 2020. Impact of deltamethrin selection on kdr mutations and insecticide detoxifying enzymes in *Aedes aegypti* from Mexico. *Parasite Vectors* 13: 224.
- Correa-Morales, F., M. W. Dunbar, F. Dzul-Manzanilla, A. Medinabarreiro, E. Morales-Ríos, W. Bibiano-Marín, and A. Che-Mendoza, et al.** 2019. Evaluation and comparison of spray equipment for indoor residual spraying. *Journal of the American Mosquito Control Association* 35: 107-112.
- Corrêa, A. P. S. A., A. K. R. Galardo, and L. A. Lima.** 2019. Efficacy of insecticides used in indoor residual spraying for malaria control: an experimental trial on various surfaces in a “test house”. *Malaria Journal* 18.
- Chavasse, D. C., and H. H. Yap.** 1997. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. Geneva:WHO/CTD/WHOPES/97. 2: p.129.
- Chavez Iñiguez, M. B.** 2017. Efectividad del control biológico de larvas y pupas del vector *Aedes aegypti* con peces en viviendas de Xochitepec, Morelos. Titulación para obtener el título de Maestra en Salud Pública. Instituto Nacional de Salud Pública, Escuela de Salud Pública de México.
- da Cruz Ferreira, D. A., C. M. Degener, C. de Almeida, M. M. Bendati, L. O. Fetzer, and C. P. Teixeira.** 2017. Meteorological variables and mosquito monitoring are good predictors for infestation trends of *Aedes aegypti*, the vector of engue, chikungunya and Zika. *Parasite Vectors* 10: 78.
- de Castro, A. G.** 1998. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (Stegomyia) aegypti* e *Aedes (Stegomyia) albopictus* em Programa de Vigilância Entomológica. *Informe Epidemiológico do Sus* 7: 49-57.
- Demok, S., N. Endersby-Harshman, R. Vinit, L. Timinao, L. J. Robinson, and M. Susapuet.** 2019. Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes in Papua New Guinea. *Parasites Vectors* 12: 333.
- Dengela, D., A. Seyoum, B. Lucas, B. Johns, K. George, A. Belemvire, A. Caranci, L. C. Norris, and C. M. Fornadel.** 2018. Multi-country assessment of residual bio-efficacy of insecticides used for indoor residual spraying in malaria control on different surface types: results from program monitoring in 17 PMI/USAID supported IRS countries. *Parasites Vectors* 11.
- Dibo, M. R., A. P. Chierotti, M. S. Ferrari, A. L. Mendonça, and N. F. Chiaravalloti.** 2008. Study of the relationship between *Aedes (Stegomyia) aegypti* egg and adult densities, dengue fever and climate in Mirassol, state of São Paulo, Brazil *Memorias Instituto Oswaldo Cruz* 103: 554-560.
- DNVLA.** 2012. Manual de Normas y Procedimientos técnicos. Para la Vigilancia y lucha antivectorial. Editorial Ciencias Médicas La Habana, Cuba.
- Du, Y., Y. Nomura, G. Satar, Z. Hu, R. Nauen, and S. Y. He.** 2013. Molecular evidence for dual pyrethroid-receptor sites on a mosquito sodium channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 11785-11790.
- Dunbar, M. W., F. Correa-Morales, F. Dzul-Manzanilla, A. Median-Barreiro, W. Bibiano-Marín, E. Morales-Ríos, J. Vadillo-Sánchez, B. López-Monroy, S. A. Ritchie, A. Lenhart, P. Manrique-Saide, and G. M. Vazquez-Prokopec.** 2019.

- Efficacy of novel indoor residual spraying methods targeting pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* within experimental houses. PLoS Neglected Tropical Disease 13.
- Dunford, J. C., A. S. Estep, C. M. Waits, A. G. Richardson, D. F. Hoel, K. Horn, T. W. Walker, J. S. Bliersch, J. D. Kerce, and R. A. Wirtz.** 2018. Evaluation of the long-term efficacy of K-Othrine® PolyZone on three surfaces against laboratory reared *Anopheles gambiae* in semi-field conditions. Malaria Journal 17.
- Dzib Florez, S. A.** 2019. Evaluación de la aplicación de insecticidas comerciales residuales, para el control de *Aedes aegypti* en Yucatán. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas.
- Dzul-Manzanilla, F., J. Ibarra-López, W. B. Marín, A. Martini-Jaimes, J. T. Leyva, F. Correa-Morales, H. Huerta, P. Manrique-Saide, and G. M. Vazquez-Prokopec.** 2017. Indoor resting behavior of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Acapulco, Mexico. Journal Medical Entomol 54: 501-504.
- Esu, E., A. Lenhart, L. Smith, and O. Horstick.** 2010. Effectiveness of peridomestic space spraying with insecticide on dengue transmission; systematic review. Tropical Medical Int Health 15: 619-631.
- Etang, J., P. Nwane, and J. A. Mbida.** 2011. Variations of insecticide residual bio-efficacy on different types of walls: results from a community-based trial in south Cameroon. Malaria Journal 10.
- Fimia, R., J. C. Castillo, O. Cepero, E. Corona, and R. González.** 2009. Eficacia del control de larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae) con peces larvívoros. Revista Cubana Medicina Tropical 61.
- Franco, O.** 1976. História da febre amarela no Brasil. Ministério da Saúde. Rio de Janeiro: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública.
- French, L., M. M. Rodríguez, J. A. Bisset, L. Y. Ricardo, G. Gutiérrez, and I. Fuentes.** 2013. Actividad incrementada de las enzimas citocromo P450 monooxigenasas en cepas cubanas de *Aedes aegypti* de referencia, resistentes a insecticidas. Revista Cubana Medicina Tropical 65: 328-338.
- Galardo, A. K. R., Galardo, C.D.** 2009. Relatório técnico sobre o Estudo da Eficácia de Redes Impregnadas com Inseticidas e do uso de Fendona® em borrifações domiciliares para o controle de *Anopheles* sp. em bioensaios de campo e laboratório no estado do Amapá-Brasil. Macapá. Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá.
- García, I., Z. Menéndez, N. Hernández, I. García, J. Anaya, A. Companioni, A. González, and R. Gato.** 2014. Susceptibilidad de larvas de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) a *Strelkovimermis spiculatus* (Nematoda: Mermithidae) en condiciones de laboratorio. Revista Cubana Medicina Tropical 66: 453-457.
- Gato, R., Z. Menéndez, E. Prieto, R. Argiles, M. Rodríguez, W. Baldoquín, D. Pérez, Y. Hernández, J. Anaya, I. Fuentes, C. Lorenzo, K. González, Y. Campo, M. Gómez, and J. Bouyer.** 2021. Sterile insect technique: successful suppression of *Aedes aegypti* field population in Cuba. Insect 12: 469.
- Goindin, D., C. Delannay, A. Gelasse, C. Ramdini, T. Gaude, F. Faucon, J. P. David, J. Gustave, A. Vega-Rua, and F. Fouque.** 2017. Levels of insecticide resistance to deltamethrin, malathion, and temephos, and associated mechanisms in *Aedes aegypti* mosquitoes from the Guadeloupe and Saint Martin islands (French West Indies). Infect Disease Poverty 6: 38.

- Gómez-Vargas, W., K. Valencia-Jiménez, G. Correa-Londoño, and F. Jaramillo-Yepes.** 2018. Nuevas tabletas larvicidas de *Bacillus thuringiensis* var. israelensis: evaluación del efecto larvicida sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Colombia. *Biomédica* 38: 95-105.
- González, A., C. E. Castañet, A. Companioni, and A. Menéndez.** 2019a. Effect of chlorine and temperature on larvicidal activity of Cuban *Bacillus thuringiensis* isolates. *Journal Arthropod-Borne Disease* 13: 39-49.
- González, A., G. Rodríguez, R. Y. Bruzón, M. Díaz, A. Companioni, and Z. Menéndez.** 2013. Isolation and characterization of entomopathogenic bacteria from soil samples from the western region of Cuba. *Journal Vector Ecology* 38: 46-52.
- González, A., A. Companioni, Z. Menéndez, J. Anaya, I. García, C. Lorenzo, C. Castañet, and R. Gato.** 2019b. Evaluación de la eficacia larvicida de Rapidall NP3 (*Bacillus thuringiensis*) contra *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae). *Revista Cubana Medicina Tropical* 71.
- González, K.** 2015. Estrategias antivectoriales con deltametrina en Santiago de Cuba para el control de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Costo-efectividad. Tesis presentada en opción al grado científico de Máster en Entomología Médica y Control de Vectores, IPK, La Habana, Cuba.
- Grossman, M. K., V. Uc-Puc, J. Rodríguez, D. J. Cutler, L. T. Morran, P. ManriqueSaide, and G. M. Vazquez-Prokopec.** 2018. Restoration of pyrethroid susceptibility in a highly resistant *Aedes aegypti* population. *Biology Letter* 14: 20180022.
- Guzmán, M. G.** 2012. Treinta años después de la epidemia cubana de dengue hemorrágico en 1981. *Revista Cubana Medicina Tropical* 64.
- Guzmán, M. G.** 2016. Dengue. Ed. Ciencias Médicas. La Habana.
- Guzmán, M. G., and E. Harris.** 2015. Dengue. *Lancet* 385: 453-465.
- Guzmán, M. G., G. Kourí, and E. Martínez.** 1988. Fiebre hemorrágica del dengue con síndrome de choque en niños cubanos. *Bulletin of Sanitary Panamerican* 104: 235-243.
- Guzmán, M. G., M. Álvarez, R. Rodríguez, D. Rosario, S. Vázquez, and L. Valdés.** 1999. Fatal dengue haemorrhagic fever in Cuba, 1997. *International Journal Infect Disease* 3: 130-135.
- Haddi, K., H. V. Tome, Y. Du, W. R. Valbon, Y. Nomura, and G. F. Martins.** 2017. Detection of a new pyrethroid resistance mutation (V410L) in the sodium channel of *Aedes aegypti*: a potential challenge for mosquito control. *Scientific Reports* 7: 46549.
- Harrington, L., J. Edman, and T. Scott.** 2001. Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? *Journal Medical Entomol* 38: 411-422.
- Hayes, R. J., and S. Bennett.** 1999. Simple sample size calculation for cluster-randomized trials. *International Journal Epidemiol* 28: 319-326.
- Hernández, Y., D. Pérez, M. Castro, L. Fonte, L. Lloyd, A. Pérez, R. Portal, Y. Torres, and R. Ochoa, et al.** 2019. Fortalecimiento de capacidades e investigaciones en comunicación para la prevención y el control de enfermedades infecciosas. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* 9.

- Hirata, K., O. Komagata, K. Itokawa, A. Yamamoto, T. Tomita, and S. Kasai.** 2014. A single crossing-over event in voltage-sensitive Na⁺ channel genes may cause critical failure of dengue mosquito control by insecticides. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8: e3085.
- Hladish, T. J., C. A. B. Pearson, P. Rojas, H. Gomez-Dantes, M. E. Halloran, and G. M. Vazquez-Prokopec, et al.** 2020. Effectiveness of indoor residual spraying for reducing dengue transmission. *PNAS* 117: 3319-3325.
- Ibrahim, K. T., Popoola, K.O., Akure, K.O.** 2017. Laboratory evaluation of residual efficacy of Actellic 300 CS (Pirimiphos-Methyl) and K-Othrine WG 250 (Deltamethrin) on different indoor surfaces. *International Journal of Insect Science* 9: 1-7
- IRAC.** 2019. Comité de acción contra la resistencia a insecticidas Folleto de clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas. 6^a edición de IRAC Internacional.
- Juliano, S., and L. Lounibos.** 2005. Ecology of invasive mosquitoes: Effects on resident species and on human health. *Ecol Letter* 8: 558-574.
- Khan, H. A. A., and W. Akram.** 2019. Resistance status to deltamethrin, permethrin, and temephos along with preliminary resistance mechanism in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Punjab, Pakistan. *Journal of Medical Entomology* 56: 1304-1311.
- Kourí, G., M. G. Guzmán, L. Valdés, I. Carbonell, D. Rosario, and S. Vázquez.** 1998. Reemergence of dengue in Cuba: a 1997 epidemic in Santiago de Cuba. *Emergy Infect Disease* 1: 89-92.
- Lega, J., H. E. Brown, and R. Barrera.** 2017. *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) :Abundance model improved with relative humidity and precipitation-driven egg hatching. *Journal Medical Entomol* 54: 1375-1384.
- Leonard, J.** 1990. La vida de Carlos Finlay y la derrota de la bandera amarilla. *Bulletin Oficine Sanitary Panamerican* 108: 229-244.
- Leonard, J.** 1992. William Gorgas, soldado de la salud pública. *Bulletin Oficine Sanitary Panamerican* 112: 223-243.
- Leyva, M., O. Pino, M. C. Marquetti, J. A. Payroll, R. Scull, G. Morejón, and D. Montada.** 2019. Ovicidal activity and repellent of essential oils on the oviposition of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Integrate Journal Veterinary Bioscience* 3 1-6
- Leyva, M., M. C. Marquetti, D. Montada, J. A. Payroll, R. Scull, G. Morejón, and O. Pino.** 2020. Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Piper aduncum* Subsp. *ossanum* y *Ocimum basilicum* sobre *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* y *Culex quinquefasciatus*. *Novitates Caribaea* 16: 122-132.
- Liu, N.** 2015. Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions. *Annual Review Entomol* 60: 537-559.
- Maharaj, R., S. Casimiro, S. D. Mthembu, and B. L. Sharp.** 2004. The residual life of Bendiocarb: A Field-Based Evaluation from Mozambique. *Journal Medical Entomol* 41: 130-132.
- Marcombe, S., B. Fustec, J. Cattel, S. Chonephetsarath, P. Thammavong, and N. Phommavanh.** 2019. Distribution of insecticide resistance and mechanisms

- involved in the arbovirus vector *Aedes aegypti* in Laos and implication for vector control. *PLoS Neglected Tropical Disease* 13: e0007852.
- Marquetti, M., Y. Saint, C. Fuster, and L. Somarriba.** 2012. The first report of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* in Haiti. *Memorias Institute Oswaldo Cruz* 107: 279-281.
- Marquetti, M. C., M. Leyva, J. A. Bisset, and S. García.** 2009. Recipientes asociados a la infestación por *Aedes aegypti* en el municipio La Lisa. *Revista Cubana Medicina Tropical* 61: 232-238.
- Márquez, Y., K. J. Monroy, E. G. Martínez Montenegro, V. H. Peña García, and A. L. Monroy Díaz.** 2019. Influencia de la temperatura ambiental en el mosquito *Aedes* spp y la transmisión del virus del dengue. *Revista CES Medica* 33: 42-50.
- Mateus Niño, M. F.** 2019. Evaluación de ovitrampas para la colecta de *Aedes* spp en el área metropolitana de Bucaramanga. Tesis para optar por el título de Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia - MVZ
- Montada, D., M. Castex, M. Leyva, and C. A. Fuster.** 2019. Persistence and efficacy of Sumilarv 0.5 G (Pyriproxifen) an insect growth regulator in laboratory and field conditions for *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* control in Cuba. *Journal Pesticides and Biofertilizers*
- Montada, D., J. Zaldivar, D. Figueredo, S. Suárez, and M. Leyva.** 2006. Eficacia de los tratamientos intradomiciliarios con los insecticidas cipermetrina, lambda-dialotrina y clorpirifos en una cepa de *Aedes aegypti* *Revista Cubana Medicina Tropical* 58.
- Montada, D., I. Calderón, D. Figueredo, E. Soto, and M. Leyva.** 2008. Eficiencia del Galgotrin 25 EC, Terfos 48 EC, Lambda-dialotrina 2,5 EC e Icon 2,5 EC en el control del mosquito *Aedes aegypti* en el municipio Santiago de Cuba, Cuba *Revista Cubana Medicina Tropical* 60: 55-61.
- Montada, D., L. Diéguez, J. J. Llambias, M. Bofill, A. Codina, and S. Estévez.** 2012. Tratamiento con K-Othrine WG250 (deltametrina) en un área con alta infestación de *Aedes aegypti*. *Revista Cubana Medicina Tropical* 64: 330-334.
- Montada, D., J. A. Bisset, D. Lazcano, M. Castex, M. Leyva, O. San Blas, and I. González.** 2013. Efectividad del Sipertrin en el control de *Aedes aegypti* en Santa Clara, Villa Clara *Revista Cubana Medicina Tropical* 65.
- Montada, D., M. E. Toledo, M. Castex, M. Leyva, K. Gonzalez, V. Vanlerbeghe, and P. Van der.** 2018. The use of deltamethrin as a control strategy against *Aedes aegypti* (Culicidae) in Santiago de Cuba City. *Journal of Pesticides and Biofertilizers* 1: 10002.
- Mougaboure-Cueto, G., and M. I. Picollo.** 2015. Insecticide resistance in vector Chagas disease: evolution, mechanisms and management. *Acta Tropica* 149: 70-85.
- MSP.** 2011. Guía para la Vigilancia de *Aedes aegypti*. OPS/HCP/HCT/AA.URU.01/02.
- OPS.** 1995. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: su prevención y control. . Publicación Científica N° 548.
- OPS.** 2018 Actualización Epidemiológica: Fiebre amarilla, 7 de diciembre de 2018. OPS/OMS. .
- Oxborough, R. M., J. Kitau, and R. Jones.** 2014. Long-lasting control of *Anopheles arabiensis* by a single spray application of micro-encapsulated pirimiphos-methyl (Actellic® 300 CS). *Malaria Journal* 13: 37-42.

- PAHO.** 2016. Zika - Epidemiological Report Cuba. . Pan American Health Organization / World Health Organization. Washington, D.C.: PAHO/WHO; 2016.
- PAHO.** 2017. Zika - Epidemiological Report Cuba. September 2017. Washington, D.C. PAHO/WHO.
- PAHO.** 2020. PLISA- Health Information Platform for the Americas. .
- Palomino, M., W. León, P. Valencia, F. Cárdenas, and J. Ancca.** 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. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 24: 136-143.
- Paredes-Esquivel, C., A. Lenhart, R. del Río, M. M. Leza, M. Estrugo, E. Chalco, W. Casanova, and M. Á. Miranda.** 2016 The impact of indoor residual spraying of deltamethrin on dengue vector populations in the Peruvian Amazon. *Acta Tropica* 154: 139-144.
- Paz-Soldán, V. A., K. M. Bauer, G. C. Hunter, R. Castillo-Neyra, V. D. Arriola, D. Rivera-Lanas, G. H. Rodriguez, A. M. ToledoVizcarra, L. M. Mollesaca Riveros, M. Z. Levy, and A. M. Buttenheim.** 2018. To spray or not to spray? Understanding participation in an indoor residual spray campaign in Arequipa, Peru. *Glob Public Health* 13: 65-82.
- Pérez, D., M. Castro, A. M. Álvarez, L. Sánchez, M. E. Toledo, and D. Matos.** 2016. Traslación a la práctica de estrategias de empoderamiento en la prevención del dengue: facilitadores y barreras. *Revista Panamericana Salud Publica* 39: 93-100.
- Pérez, O., J. A. Bisset, M. Leyva, J. Rodríguez, O. Fuentes, and I. García.** 2004. Manual de Indicaciones Técnicas para Insectarios. Editorial Ciencias Médicas. Cuba.: 53pp.
- Pérez Viguera, I.** 1956. Los ixódidos y culícidos de Cuba. Su historia natural y médica. Universidad de la Habana: 579.pp.
- Pinto, N. A.** 2017. Eficacia de aqua K-Othrine® EW 20 para control de *Aedes aegypti* en San Joaquin, Cundinamarca - Colombia. *Icosan*: 46-52.
- Plernsub, S., J. Saingamsook, J. Yanola, N. Lumjuan, P. Tippawangkosol, and K. Sukontason.** 2016. Additive effect of knockdown resistance mutations, S989P, V1016G and F1534C, in a heterozygous genotype conferring pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* in Thailand. *Parasite Vectors* 9: 417.
- Ponce, G., P. C. Cantú, A. Flores, M. Badii, R. Zapata, B. López, and I. Fernández** 2006. Modo de acción de los insecticidas *Revista Salud Pública y Nutrición* 7.
- Rawal, D.** 2019. A review on different strategies used for biological control of mosquitoes. *International Journal Mosquito Research* 6: 41-43.
- Reiner, E.** 1971. Spontaneous reactivation of phosphorylated and carbamylated cholinesterases. *Bulletin Entomol Research* 44: 109-112.
- Reineri, J., R. Harboch, and I. Kitching.** 2004. Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae) based on morphological character of all life stages. *Zoo J Linn Soc* 142: 289-368.
- Richards, S. L., J. K. Volkan, J. A. G. Balanay, and K. Vandock.** 2017. Evaluation of Bifenthrin and deltamethrin barrier sprays for mosquito Control in eastern north Carolina. *Journal Medical Entomol* 54: 1659-1665.

- Rodríguez, M. M., J. A. Bisset, M. Ruíz, and A. Soca.** 2002. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Journal Medical Entomol* 39: 882-888.
- Rodríguez, M. M., J. A. Bisset, C. Díaz, and A. Soca.** 2003. Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malatión. *Revista Cubana Medicina Tropical* 55: 105-111.
- Rodríguez, M. M., J. A. Bisset, Y. De Armas, and F. Ramos.** 2005. Pyrethroid insecticide-resistant strain of *Aedes aegypti* from Cuba induced by deltamethrin selection. *Journal American Mosquito Control Association* 21: 437-445.
- Rodríguez, M. M., A. Crespo, J. A. Bisset, D. Hurtado, and I. Fuentes.** 2017. Diagnostic doses of insecticides for adult *Aedes aegypti* to assess insecticide resistance in Cuba. *Journal American Mosquito Control Association* 33: 142-144
- Rodríguez, M. M., J. A. Bisset, H. Hernández, Y. Ricardo, L. French, and O. Perez.** 2012. Caracterización parcial de la actividad de esterasas en una cepa de *Aedes aegypti* resistente a temefos. *Revista Cubana Medicina Tropical* 64: 175-181.
- Rodríguez, M. M., A. Ruiz, L. Piedra, G. Gutierrez, J. Rey, M. Cruz, and J. A. Bisset.** 2020 Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Boyeros municipality, Cuba and associated mechanisms. *Acta Tropica* 212: 105680.
- Rodríguez, M. M., J. A. Bisset, D. Hurtado, D. Montada, M. Leyva, M. Castex, H. Hernández, and I. Fuentes.** 2016. Estudio sobre la susceptibilidad a insecticidas en *Aedes aegypti* del Área de Salud Raúl Sánchez, Pinar del Río. *Revista Cubana Medicina Tropical* 68.
- Rohani, A., I. Zamree, W. M. A. Wan Najdah, A. H. Azahari, A. Matusop, and M. N. Zurainee.** 2017. Impact of indoor residual-sprayed deltamethrin on different surfaces in a malaria endemic area in Balai Ringin, Sarawak. *Advances in Entomology* 2: 151-160.
- Saavedra-Rodríguez, K., F. V. Maloof, C. L. Campbell, J. Garcia-Rejon, A. Lenhart, and P. Penilla.** 2018. Parallel evolution of vgsc mutations at domains IS6, IIS6 and IIIS6 in pyrethroid resistant *Aedes aegypti* from Mexico. *Science Report* 8: 6747.
- Salud, O. O. P. d. I.** 1992. La batalla contra *Aedes aegypti*. *Bulletin Oficina Sanitar Panamericana* 113: 462-465.
- Samuel, M., D. Maoz, P. Manrique, T. Ward, S. Runge-Ranzinger, and J. Toledo.** 2017. Community effectiveness of indoor spraying as a dengue vector control method: A systematic review. *PLoS Neglected Tropical Disease* 11: e0005837.
- Santos, R. L. C., A. D. S. Fayal, A. E. F. Aguiar, D. B. R. Vieira, and M. M. Pova.** 2007. Evaluation of the residual effect of pyrethroids on Anopheles in the Brazilian Amazon. *Revista Saude Publica* 41: 276-283.
- Saxena, S. K., S. Kumar, V. K. Maurya, and M. L. B. Bhatt.** 2019. Current Topics in Neglected Tropical Diseases. Chapter :The global distribution and burden of dengue and japanese encephalitis co-infection in acute encephalitis syndrome Intechopen

- Shallan, E. A. S., D. Canyonb, M. W. F. Younesc, H. Abdel-Wahaba, and A. Mansoura.** 2005. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environ Int.* 3: 1149-1166. .
- Sreehari, U., K., S. N. Raghavendra, S. Tiwari, S. K. Sreedharan, and N. Valecha.** 2018. Small-scale (Phase II) evaluation of the efficacy and residual activity of SumiShield® 50 WG (clothianidin 50%, w/w) for indoor residual spraying in comparison to deltamethrin, bendiocarb and pirimiphos-methyl for malaria vector control in Karnataka state, India. *Journal Vector Borne Disease* 55: 122-129.
- Stenhouse, S. A., S. Plernsub, J. Yanola, N. Lumjuan, A. Dantrakool, and W. Choochote.** 2013. Detection of the V1016G mutation in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) by allele-specific PCR assay, and its distribution and effect on deltamethrin resistance in Thailand. *Parasites Vectors* 6: 253.
- Stoddard, S. T., B. M. Forshey, A. C. Morrison, V. A. Paz-Soldan, G. M. Vazquez-Prokopec, and H. Astete.** 2013. House-to-house human movement drives dengue virus transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 994-999.
- Suárez, S., J. Rodríguez, Z. Menéndez, D. Montada, I. García, and M. C. Marquetti.** 2005. *Macrocyclus albidus* (Copepoda: Cyclopidae): una nueva alternativa para el control de larvas de mosquitos en Cuba. *Revista Cubana Medicina Tropical* 57.
- Vazquez-Prokopec, G. M., B. L. Montgomery, P. Horne, J. A. Clennon, and S. A. Ritchie.** 2017a. Combining contact tracing with targeted indoor residual spraying significantly reduces dengue transmission. *Science Adv* 3.
- Vazquez-Prokopec, G. M., A. Medina-Barreiro, A. Che-Mendoza, F. Dzul-Manzanilla, F. CorreaMorales, and G. Guillermo-May.** 2017b. Deltamethrin resistance in *Aedes aegypti* results in treatment failure in Merida, Mexico. *PLoS Neglected Tropical Disease* 11: e0005656.
- Vythilingam, I., and W. S. Wan-Yusoff.** 2017. Dengue vector control in Malaysia: are we moving in the right direction? . *Tropical Biomedicine* 34: 746-758.
- WHO.** 1999. Strengthening Implementation of the Global Strategy for Dengue Fever/Dengue Hemorrhagic Fever Prevention and Control, Report of the Informal Consultation.
- WHO.** 2000. Manual para el rociado residual intradomiciliario:Aplicación del rociado residual para el control de vectores. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000.3 Rev.1: 53 pp.
- WHO.** 2006a. Indoor residual spraying: Use of indoor residual spraying for scaling up global malaria control and elimination. WHO/HTM/MAL/2006.1112.
- WHO.** 2006b. Evaluación de los depósitos de insecticidas en las paredes OMS / CDS / NTD / WHOPES / GCDPP / 2006.3.
- WHO.** 2007. Manual for indoor residual spraying: application of residual sprays for vector control. . Geneva: World Health Organization Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- WHO.** 2016 Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations interim guidance for entomologists. WHO/ZIKV/VC/16.1.
- WHO.** 2017. Specifications and evaluations for public health pesticides: deltamethrin.
- WHO.** 2020. Dengue and severe dengue. .

Zúñiga-Carrasco, I. R., and R. Miliar de Jesús. 2019. Aereopuertos y aviones hábitat para una diversidad de agentes patógenos. *Revista Enferm Infeccion Pediatric* 31: 1432-1440.

ANEXOS

Consentimiento informado

El Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” Habana, en coordinación con la Dirección Nacional de Vigilancia y Lucha Antivectorial y la Dirección Provincial de Matanzas y Municipal de Higiene y Epidemiología de Cárdenas y el Centro de Control de Mosquitos con sede en Varadero se propuso evaluar el formulado K-Othrine Polyzone 62.5 SC (deltametrina) en el Área de Salud Héroes del Moncada del municipio Cárdenas como parte de un estudio piloto liderada por BAYER .

Este documento tiene 2 partes:

- Hoja informativa (con información mínima necesaria sobre el estudio).
- Certificado de consentimiento (donde usted firmará, en caso que acceda a participar en el estudio).

Parte I: Hoja informativa

Introducción

Estamos realizando una intervención relacionada con la evaluación del formulado K-Othrine Polyzone 62.5 SC (deltametrina) como una alternativa para el control de mosquitos. Por este medio le estamos brindando información e invitándolo a participar en la investigación. Este documento puede contener palabras que usted no comprenda. Por favor, tome su tiempo para realizar las preguntas que necesite relacionadas con el estudio. Deseamos que acceda a participar solo si comprende todo sobre el mismo.

Propósito y descripción de la investigación

El propósito de esta investigación es evaluar la actividad residual del formulado K-Othrine Polyzone 62.5 SC (deltametrina) sobre diferentes superficies. Si el formulado presenta actividad residual, las hembras de *Ae aegypti* evitarán poner sus huevos en los recipientes de agua que tratemos exteriormente, así como también evitarán picarlo si usted está sentado en mueble que este aplicado con este producto. También se pretende que no repose en las paredes, debajo y detrás de muebles, para realizar el reposo posthematofágico.

Voluntariedad

Usted ha sido seleccionado a participar en el estudio. No obstante, su participación en el mismo es totalmente voluntaria. Es su elección participar o no. Y si decide hacerlo, puede retirarse cuando así lo desee sin perjuicio para usted.

Procedimiento

El estudio se realizará partiendo del principio de voluntariedad y siguiendo metodología estandarizada de la Organización Mundial de la Salud (OMS 2006). El tratamiento intradomiciliario se realizará en los principales sitios de reposo de *Ae. aegypti* dentro de la vivienda: debajo de camas, asientos y muebles, detrás de los cuadros y puertas, en los baños; debajo de los lavabos, detrás de la tasa del inodoro. El tratamiento residual extradomiciliario se aplicará de forma perifocal a los tanques bajos y a la superficie que

rodean los mismos (denominada trampas), así como a las superficies exteriores de las viviendas en su totalidad, incluyendo ventanas y puertas, además de los marcos

Privacidad y confidencialidad de la información

La información que usted brinde será totalmente confidencial. Solo los investigadores involucrados en el estudio tendrán acceso a ella. A usted se le asignará un número como participante y no se utilizará su nombre en ningún momento. La información que usted ofrezca no se reportará de manera individual sino, de conjunto con la que brinden otros participantes del estudio.

Beneficios

Su participación en el mismo tendrá el beneficio directo para usted de la disminución del número de mosquitos si resulta efectiva la intervención. Los resultados de la investigación beneficiarían las investigaciones relacionadas con la temática del control del vector y como consiguiente la prevención de enfermedades.

Posibles riesgos

Los riesgos por participar en el estudio son mínimos debido a que la formulación cumple las especificaciones de formulación de la Agencia de protección Ambiental de EEUU (EPA) y de la Comunidad Económica Europea (CEE). Presenta mejores resultados en comparación con otras formulaciones. No mancha y tiene poco olor. Usted tiene todo el derecho a retirarse del estudio si es alérgico a algún insecticida.

Uso de los resultados de la investigación

Los resultados que se obtengan del presente estudio serán compartidos con usted y su comunidad antes de hacerse públicos. Está prevista la publicación de los resultados de investigación en revistas médicas, libros u otros materiales con fines científicos; así como la utilización de la información con fines educativos.

¿Tiene alguna duda o pregunta hasta aquí?

Contactos en caso que le surjan otras dudas o preguntas

Si usted desea hacer alguna otra pregunta posteriormente, puede contactar al Lic Julio Luis Duquesne Reyes en el Centro de Control de Mosquitos con sede en Varadero o al Lic Domingo Montada Vicedirección de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí

Parte II

Acta de consentimiento

Yo _____ vecino de _____
entre _____ y _____ Rpto _____
Policlínico _____ Municipio Cárdenas , estoy de acuerdo en
participar en el protocolo de evaluación del formulado K-Othrine Polyzone 62.5 SC
(deltametrina) con el cual trataran el interior y el exterior de mi vivienda, con el objetivo
de conocer el efecto residual de esta formulación para el control de *Aedes aegypti* .

Y como prueba de mi consentimiento firmo la presente acta

Nombre y apellidos