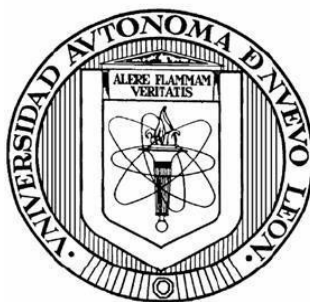


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



INSECTICIDAS ALTERNATIVOS PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti* (L.)

RESISTENTE A INSECTICIDAS CONVENCIONALES.

POR

DANIELA CERDA APRESA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA Y VETERINARIA

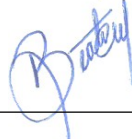
INSECTICIDAS ALTERNATIVOS PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti*
(L.) RESISTENTE A INSECTICIDAS CONVENCIONALES.

Comité de Tesis



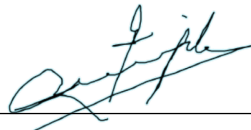
Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez

Presidenta



Dra. Beatriz López Monroy

Secretaria



Dra. Ma. Guadalupe Rojas Verde

Vocal



Dr. Jesús A. Dávila Barboza

Vocal



Dr. Humberto Quiróz Martínez

Vocal



Dra. Katiushka Arevalo Niño

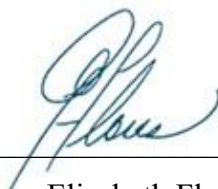
Subdirectora de Posgrado



**SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO**

INSECTICIDAS ALTERNATIVOS PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti*
(L.) RESISTENTE A INSECTICIDAS CONVENCIONALES.

Dirección de Tesis



Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez

Directora



Dra. Victoria Pando Robles

Directora externa

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Adriana Flores por todo el apoyo que me brindo - y sigue brindando – en todos estos años. Gracias por escucharme, aconsejarme, enseñarme como ver la vida diferente para ser mejor cada día, por tenerme paciencia y jalarme las orejas cuando más lo necesitaba, por impulsarme y motivarme de manera personal y profesional. Le agradezco por darme la oportunidad de ser su alumna y aprender en todo aspecto para lograr una mejor versión de mí, la quiero mucho.

Al Dr. Gustavo Ponce por sus consejos, risas, por cada plática que teníamos que me ayudaba a seguir adelante, por siempre creer en mí y compartir su experiencia. Un abrazo hasta el cielo Doc.

A todos los maestros con los que tuve la fortuna de aprender más sobre la entomología médica, en especial a mi comité: Dra. Beatriz López, Dr. Jesús Dávila, Dr. Humberto Quiroz y Dra. Guadalupe Rojas Verde.

A Selene, muchas gracias por siempre darme el apoyo cuando más lo necesita, por tu amistad y cariño, por escucharme en todo momento, por tus consejos, te quiero mucho.

A Mizael, gracias por brindarme tu amistad, por escucharme cada que me derrumbaba, por siempre darme palabras de ánimo, por ser la persona que eres, te quiero mucho bombón.

A Janeth, que en su momento me ayudaba a seguir adelante y motivarme a nunca tirar la toalla y creer en mí más de lo que yo creía en mí, gracias por todos los momentos y acompañarme en gran parte de este proceso.

A mis amigos, Fernanda, Hanny, Susy, Ana, Arturo, Daniel, por siempre estar ahí para mí, por siempre escucharme, por darme su apoyo incondicional en todo momento, por nunca dejar de creer en mí, son y serán siempre mi familia, los quiero mucho.

A mi familia, les agradezco por siempre apoyarme en cada etapa de mi vida, los quiero mucho.

Agradezco el apoyo brindado por CONAHCYT tanto por el financiamiento de este proyecto, así como por haberme proporcionado una beca para los estudios de Doctorado en Entomología Médica y Veterinaria (CVU: 961418) en el período de enero de 2021 a diciembre de 2024.

DEDICATORIA

Para Abigail, por siempre creer que era capaz de esto y más. Te amo y extraño, un abrazo hasta el cielo siempre.

ÍNDICE

RESUMEN.....	ii
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1. Control de vectores	5
2.2 Control de vectores en México	5
2.2.1. Control físico en <i>Ae. aegypti</i>	6
2.2.2. Control químico en <i>Ae. aegypti</i>	6
2.3. Resistencia a insecticidas	8
2.3.1 Resistencia metabólica	9
2.3.2 Resistencia por modificaciones de sitio blanco	10
2.4. Insecticidas alternativos para el control de <i>Ae. aegypti</i> resistente a insecticidas convencionales	11
2.4.1. Ácido tetrónico y derivados	12
2.4.2. Neonicotinoides.....	13
2.4.3. Oxiadiazinas.....	15
2.4.4. Diamidas antranílicas	17
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. HIPÓTESIS	20
5. OBJETIVOS	21
5.1 Objetivo general	21
5.3 Objetivos específicos	21
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	22
6.1. Material biológico	22
6.2. Insecticidas	22
6.3. Susceptibilidad de <i>Ae. aegypti</i> a insecticidas convencionales	23
6.3.1 Bioensayos con temefos	23
6.3.2. Bioensayos con piretroides	24
6.4. Caracterización de mecanismos asociados a la resistencia a temefos y piretroides	25
6.4.1. Determinación de enzimas detoxificantes en larvas y adultos.....	25
6.4.2. Determinación de mutaciones kdr.....	28
6.4.2.1. Extracción de ADN	28

6.5. Efectos de espiromesifeno en componentes bioquímicos en larvas y adultos y efectos esterilizantes en adultos	30
6.5.1. Bioensayos concentración-respuesta con espiromesifeno en larvas	30
6.5.2. Efectos de exposición a dosis subletales de espiromesifeno en larvas	31
6.5.2.1. Exposición a CL ₅₀ de espiromesifeno	31
6.5.3. Evaluación de propiedades esterilizantes de espiromesifeno en hembras	32
6.5.4. Determinación de componentes bioquímicos en adultos.....	34
6.5.4. Análisis de resultados.....	34
6.6. Susceptibilidad en hembras a indoxacarb, tiametoxam y clorantraniliprol	35
6.6.1 Bioensayos	35
6.6.2. Análisis de resultados.....	36
7. RESULTADOS.....	37
7.1. Susceptibilidad a insecticidas convencionales	37
7.1.1. Susceptibilidad a temefos.....	37
7.1.2. Susceptibilidad a permetrina y deltametrina	37
7.2. Caracterización de mecanismos de resistencia	38
7.2.1. Enzimas detoxificantes.....	38
7.2.1.1 Actividad de enzimas detoxificantes en larvas	38
7.2.2. Mutaciones kdr.....	41
7.2.2.1. Frecuencias alélicas y genotípicas en las poblaciones de campo.....	41
7.3 Evaluación del espiromesifeno en larvas y en adultos.....	43
7.3.1. Parámetros concentración-respuesta y cálculo de razón de resistencia (RR) en larvas	43
7.3.2. Efectos de la exposición a la CL ₅₀ de espiromesifeno en el peso y volumen corporal de larvas	43
7.3.3. Efecto de espiromesifeno en la composición química de las larvas	47
7.3.4. Efectos de espiromesifeno en los biomarcadores de estrés oxidativo en larvas	49
7.4. Susceptibilidad en hembras a indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam	54
7.4.1. Indoxacarb.....	54
7.4.2. Clorantraniliprol.....	55
7.4.3. Tiametoxam.....	56
8. DISCUSIÓN	57
9. CONCLUSIONES	71
10. PERSPECTIVAS	72
11. BIBLIOGRAFÍA	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Insecticidas evaluados en el presente estudio	23
Tabla 2. Primers utilizados para la detección de las mutaciones V410L, V1016I y F1534C	28
Tabla 3. Frecuencia e intensidad de resistencia a dosis diagnóstico de temefos en poblaciones larvarias de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Nuevo León.	37
Tabla 4. Mortalidad de hembras de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a dosis diagnóstico de permetrina (43 µg/botella) y deltametrina (15 µg/botella) del estado de Nuevo León.	37
Tabla 5. Actividad enzimática promedio ($\pm$ DE) de larvas de <i>Ae. aegypti</i> de la cepa susceptible New Orleans y poblaciones del estado de Nuevo León.....	40
Tabla 6. Actividad enzimática promedio ($\pm$ DE) de hembras de <i>Ae. aegypti</i> de la cepa susceptible New Orleans y poblaciones del estado de Nuevo León.	40
Tabla 7. Frecuencias genotípicas y alélicas de las mutaciones kdr V410L, V1016I y F1534C en poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> de Nuevo León.....	41
Tabla 8. Concentraciones letales (CL ₅₀ y CL ₉₀) en mg/L y valores de razón de resistencia (RR) en larvas de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a espiromesifeno.	43
Tabla 9. Efectos de la exposición a la CL ₅₀ de espiromesifeno en el contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas (µg/mg de larva) en larvas de cuarto estadio de <i>Ae. aegypti</i> a lo largo del tiempo (media $\pm$ error estándar de la media).....	48
Tabla 10. Efecto de espiromesifeno en la mortalidad, oviposición, fecundidad y fertilidad de <i>Ae. aegypti</i> en una cepa susceptible y tres poblaciones de Nuevo León.....	53
Tabla 11. Efectos de la exposición a la CL ₅₀ y la CL ₉₉ de espiromesifeno en el contenido de carbohidratos y lípidos (µg) en hembras de <i>Ae. aegypti</i> de una cepa susceptible y tres poblaciones de Nuevo León	54

Tabla 12. Concentraciones letales (CL ₅₀ y CL ₉₀) en µg/botella y valores de razón de resistencia (RR) en hembras de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a indoxacarb.....	55
Tabla 13. Concentraciones letales (CL ₅₀ y CL ₉₀) en mg/botella y valores de razón de resistencia (RR) en hembras de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a clorantraniliprol.	55
Tabla 14. Concentraciones letales (CL ₅₀ y CL ₉₀) en mg/botella y valores de razón de resistencia (RR) en hembras de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a tiametoxam.	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frecuencia de genotipos multilocus en poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Nuevo León.	42
Figura 2. Efecto de la exposición a la CL ₅₀ de espiromesifeno en peso corporal (mg) de larvas de cuarto estadio de <i>Ae. aegypti</i> a lo largo del tiempo.	45
Figura 3. Efecto de la exposición a la CL ₅₀ de espiromesifeno en el volumen corporal (mm ³) de larvas de cuarto estadio de <i>Ae. aegypti</i> a lo largo del tiempo	45
Figura 4. Efectos de espiromesifeno (CL ₅₀) en morfología en larvas 4to estadio temprano de <i>Ae. aegypti</i>	46
Figura 5. Variación temporal de malondialdehído (MDA) en larvas de cuarto estadio de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a la CL ₅₀ de espiromesifeno.	49
Figura 6. Variación temporal de la actividad de la catalasa (CAT) en larvas de cuarto estadio de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a la CL ₅₀ de espiromesifeno	50
Figura 7. Fecundidad (media ± error estándar de la media) de hembras de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a la CL ₅₀ y la CL ₉₉ de espiromesifeno	52
Figura 8. Tasa de eclosión de huevos (media ± error estándar de la media) de hembras de <i>Ae. aegypti</i> expuestas a la CL ₅₀ y la CL ₉₉ de espiromesifeno.	52

LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

CL₅₀: Concentración letal para el 50% de la población expuesta

CL₉₀: Concentración letal para el 90% de la población expuesta

RR: Razón de resistencia (resistance ratio)

GST: Glutación S-transferasas (enzimas detoxificantes)

AChEI: Acetilcolinesterasa insensible (enzima detoxificante)

OFM: Oxidasas de función mixta (enzimas detoxificantes)

DDT: Diclorodifeniltricloroetano (insecticida organoclorado)

IRS: Rociado residual intradomiciliario

ULV: Ultra Bajo Volumen (aplicación de insecticidas)

WHO: World Health Organization (Organización Mundial de la Salud)

CENAPRECE: Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades

IRAC: Insecticide Resistance Action Committee

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

µg: Microgramo

mg: Miligramo

MDA: Malondialdehído

RESUMEN

El control de mosquitos ha dependido predominantemente de insecticidas químicos neurotóxicos, que actúan sobre el sistema nervioso de los insectos, provocando parálisis y muerte. Desde la década de 1950, los programas de control vectorial en México han empleado diversas clases de insecticidas químicos para la prevención de enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti*. Sin embargo, su efectividad ha disminuido debido a la creciente resistencia en las poblaciones objetivo, un fenómeno global exacerbado por la presión continua de los insecticidas. En este contexto, se evaluó la susceptibilidad y mecanismos de resistencia en poblaciones de campo de *Ae. aegypti* de Nuevo León frente a insecticidas convencionales (temefos, permetrina y deltametrina) y alternativos (espiromesifeno, indoxacarb, clorantulaniliprol y tiametoxam). Los resultados confirmaron una alta frecuencia e intensidad de resistencia a temefos, así como resistencia a piretroides en hembras adultas. Se detectaron niveles elevados de actividad enzimática de glutatión S-transferasas (GST) y Acetil colinesterasa insensible (AChEI) en larvas, junto con altas frecuencias de las mutaciones *kdr* (V410L, V1016I y F1534C), lo que evidencia la co-ocurrencia de mecanismos metabólicos y de sitio blanco en estas poblaciones. El espiromesifeno demostró alta eficacia en larvas y adultos, no solo en términos de mortalidad, sino también por su efecto en la reducción de la fecundidad, fertilidad y reservas energéticas (carbohidratos, lípidos y proteínas), respaldando su potencial como herramienta de control alternativo. En las pruebas de susceptibilidad en hembras adultas, indoxacarb, clorantulaniliprol y tiametoxam presentaron razones de resistencia (RR_{50} y RR_{90}) menores a 5 indicando susceptibilidad en todas las poblaciones. Estos hallazgos confirman la efectividad de insecticidas alternativos y sugieren su viabilidad para integrarse en programas de rotación y manejo de resistencia, especialmente en áreas donde la eficacia de los insecticidas convencionales está comprometida. Sin embargo, su implementación debe acompañarse de monitoreo constante y estudios en condiciones de campo para garantizar la sostenibilidad de estas estrategias y evitar la selección de resistencia. En conjunto, los resultados de este trabajo proporcionan información valiosa para fundamentar decisiones en los programas de control de vectores, fortaleciendo el manejo integrado de *Ae. aegypti*.

ABSTRACT

The control of mosquitoes has predominantly relied on neurotoxic chemical insecticides, which act on the nervous system of insects, causing paralysis and death. Since the 1950s, vector control programs in Mexico have utilized various classes of chemical insecticides to prevent diseases transmitted by *Aedes aegypti* (L). However, its effectiveness has declined due to the increasing resistance in target populations, a global phenomenon exacerbated by continuous insecticide pressure. In this context, this study evaluated the susceptibility and resistance mechanisms in field populations of *Ae. aegypti* from Nuevo León to conventional insecticides (temephos, permethrin, and deltamethrin) and alternative insecticides (spiromesifen, indoxacarb, chlorantraniliprole, and thiamethoxam). The results confirmed a high frequency and intensity of resistance to temephos, as well as confirmed resistance to pyrethroids in adult females. Elevated activity levels of glutathione S-transferases (GST) and insensitive acetylcholinesterase (AChEI) were detected in larvae, along with high frequencies of *kdr* mutations (V410L, V1016I, and F1534C), evidencing the co-occurrence of metabolic and target-site resistance mechanisms in these populations. Spiromesifen demonstrated high efficacy in larvae and adults, not only in terms of mortality but also by reducing fecundity, fertility, and energy reserves (carbohydrates, lipids, and proteins), supporting its potential as an alternative control tool. In adult female susceptibility tests, indoxacarb, chlorantraniliprole, and thiamethoxam showed resistance ratios (RR_{50} and RR_{90}) below 5, indicating susceptibility in all populations. These findings confirm the effectiveness of alternative insecticides and suggest their viability for integration into rotation and resistance management programs, especially in areas where the efficacy of conventional insecticides is compromised. However, their implementation must be accompanied by continuous monitoring and field studies to ensure the sustainability of these strategies and prevent the selection of resistance. Altogether, the findings of this study provide valuable information to support decision-making in vector control programs, strengthening the integrated management of *Ae. aegypti*.

1. INTRODUCCIÓN

El control de vectores representa uno de los retos más importantes para la salud pública, dado que son capaces de ocasionar epidemias de gran magnitud. Entre los vectores más relevantes se encuentra *Aedes aegypti* (L.), el principal transmisor de dengue, chikungunya y virus del Zika. Este mosquito está ampliamente distribuido en zonas tropicales, subtropicales y templadas (WHO 2024).

Se estima que alrededor de 2.5 mil millones de personas viven en áreas con riesgo de transmisión de estas enfermedades transmitidas por mosquitos (WHO 2024). Los hábitos de *Ae. aegypti* son principalmente antropófilos y domésticos, favoreciendo su reproducción en criaderos ubicados dentro y alrededor de viviendas humanas. Estos criaderos incluyen depósitos de agua en objetos como neumáticos, baterías viejas, botellas, floreros y otros recipientes, que proporcionan las condiciones óptimas de temperatura y alimento para la puesta de huevos. Las hembras hematófagas de esta especie suelen alimentarse al amanecer y al anochecer, tanto dentro como fuera de las viviendas, mostrando una marcada preferencia por el hombre (Facchinelli et al. 2023).

El control de *Ae. aegypti* es particularmente difícil debido a su rápido ciclo de vida, que puede completarse en aproximadamente 10 días bajo condiciones óptimas (Clements 1992). En ausencia de vacunas eficaces o tratamientos curativos para las enfermedades que transmite, el control vectorial es la única estrategia disponible para reducir la transmisión y prevenir brotes epidémicos (WHO 2024). Desde la década de 1950, se han utilizado insecticidas sintéticos, incluidos carbamatos, reguladores de crecimiento, organofosforados y piretroides, para controlar este vector (Elliot 1976; WHO 2006). Los organofosforados y piretroides destacan por su alta eficacia insecticida y baja toxicidad para mamíferos, pero su uso sostenido ha resultado en la evolución de resistencia en las poblaciones de *Ae. aegypti* (Moyes et al. 2017).

La resistencia a insecticidas surge principalmente por la exposición repetida a un mismo tipo de insecticida o a moléculas con modos de acción similares. Los mecanismos responsables de la resistencia incluyen la sobreexpresión de enzimas desintoxicantes (resistencia metabólica) y mutaciones en los sitios blanco, que reducen la sensibilidad al insecticida (resistencia al sitio blanco) (Hemingway y Ranson 2000; Liu 2015). En el caso

de *Ae. aegypti*, las mutaciones aminoacídicas en el canal de sodio dependiente de voltaje (VGSC) han sido asociadas con la resistencia a piretroides, un fenómeno conocido como resistencia al derribo (kdr), lo cual afecta significativamente la eficacia de estos insecticidas (Martins et al. 2009; Marcombe et al. 2011; Estep et al. 2025).

Se han reportado trece mutaciones kdr en poblaciones de *Ae. aegypti* a nivel mundial, afectando diez posiciones específicas dentro de cinco regiones del VGSC (IIS4-5, IIS5-6, IIS-6, IIS6 y IVS5). Estas incluyen: G923V, L982W, I1011M, V1016G, I1011V, V1016I, D1763Y, S989P, F1534C, T1520I, V410L, A1007G y F1534L (Bregues et al. 2003; Saavedra-Rodríguez et al. 2007; Chang et al. 2009; Srisawat et al. 2010; Yanola et al. 2010; Kushwah et al. 2015, 2019; Haddi et al. 2017; Lien et al. 2018).

De estas mutaciones, solo cinco (V410L, S989P, I1011M, V1016G y F1534C) han sido analizadas funcionalmente in vitro utilizando un sistema de expresión en ovocitos de *Xenopus*, y se ha comprobado que confieren resistencia kdr en *Ae. aegypti*. En México, tres de estas mutaciones han sido reportadas en diversas poblaciones de *Ae. aegypti* (Saavedra-Rodríguez et al. 2007; Ponce-García et al. 2009; Siller et al. 2011; Aponte et al. 2013; Vera-Maloof et al. 2015; Saavedra et al. 2018; Lopez-Monroy et al. 2018; Villanueva-Segura et al. 2020; Contreras-Perera et al. 2020).

Además de la resistencia kdr, se han reportado otros mecanismos de resistencia asociados a insecticidas piretroides. Entre estos destacan los mecanismos de resistencia metabólica, principalmente la actividad enzimática de alfa-esterasas, beta-esterasas, monooxigenasas del citocromo P450 (CyP450) monooxigenasas y glutatión-S-transferasas (GSTs) (Flores et al. 2005; Flores et al. 2006; Saavedra et al. 2008; Flores et al. 2009; Lopez-Solís et al. 2020; Contreras-Perera et al. 2020; Solís-Santoyo et al. 2023). Por otro lado, también se ha identificado la sobretranscripción de genes relacionados con la resistencia metabólica, como los involucrados en la detoxificación de insecticidas (Saavedra et al. 2012; Saavedra et al. 2019).

En México, además de los piretroides, se han reportado poblaciones de *Ae. aegypti* resistentes a larvicidas como el temefos y a los adulticidas malatión, clorpirifós y bendiocarb (Lopez et al. 2014; López-Zerón et al. 2023; López-Solís et al. 2020; Solís-Santoyo et al. 2021).

Dada la creciente problemática de resistencia a los insecticidas convencionales, es crucial investigar alternativas que permitan sustituir o complementar su uso en el control de vectores. En México, además de los piretroides, se encuentran autorizados para el control de *Aedes aegypti* insecticidas como organofosforados, carbamatos, neonicotinoides (por ejemplo, imidacloprid) y fipronil, un insecticida del grupo de los fenilpirazoles (CENAPRECE 2025).

El desarrollo de insecticidas específicamente diseñados para el control de vectores es limitado debido a los altos costos asociados con la investigación, desarrollo y regulación de nuevos ingredientes activos, así como al reducido tamaño del mercado en comparación con los plaguicidas agrícolas. Mientras que el mercado global de plaguicidas agrícolas genera ingresos significativos, con un valor estimado de más de 64 mil millones de dólares en 2024, el mercado de insecticidas para control de vectores representa solo una fracción de este valor, alcanzando hasta 500 millones de dólares a nivel de ingrediente activo. Esta disparidad económica desincentiva a las empresas a invertir en el desarrollo de productos exclusivos para el manejo vectorial, favoreciendo en su lugar el desarrollo de insecticidas destinados a la protección de cultivos (Fortune Business Insights 2023; Mordor Intelligence 2023; Grand View Research 2023).

Como respuesta, la reutilización de insecticidas desarrollados originalmente para usos agrícolas ha emergido como una estrategia viable para el manejo de resistencia en vectores (Hoppé et al. 2016). Entre estas alternativas se encuentran el espiromesifeno, el clorantropilprol, el indoxacarb y el tiametoxam, que destacan por sus modos de acción novedosos y su ausencia de resistencia cruzada con los insecticidas convencionales.

El espiromesifeno, clasificado en el Grupo 23 por el Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas (IRAC), es un insecticida derivado del ácido tetronico que actúa inhibiendo la síntesis de lípidos al bloquear la enzima acetil-CoA carboxilasa, afectando procesos metabólicos esenciales de los insectos (Sparks y Nauen 2015; Bielza et al. 2019). Este compuesto es especialmente efectivo contra las etapas inmaduras de los insectos, donde reduce el desarrollo y la supervivencia larval. Además, el espiromesifeno interfiere con el metabolismo de carbohidratos y lípidos, lo que impacta procesos clave como la reproducción y la maduración de oocitos (Kissoum y Soltani 2016; Kaczmarek y Bogus 2021).

El clorantraniliprol, clasificado como una diamida antranílica, pertenece al Grupo 28 de la IRAC. Este grupo incluye insecticidas que actúan como moduladores de los receptores de rianodina, causando la liberación de calcio en las células musculares de los insectos. Este proceso interrumpe las funciones normales del músculo, lo que lleva a parálisis y muerte. El clorantraniliprol destaca por su alta especificidad hacia los insectos objetivo y su baja toxicidad para mamíferos, características que lo hacen una herramienta segura y efectiva para el manejo de plagas (Plata-Rueda et al. 2019).

El indoxacarb, clasificado en el Grupo 22A de la IRAC, es una oxadiazina que actúa bloqueando los canales de sodio dependientes de voltaje en las células nerviosas de los insectos. Este bloqueo interrumpe la transmisión de impulsos nerviosos, causando parálisis y eventual muerte de los insectos tratados. Su modo de acción único lo convierte en una opción para manejar poblaciones de insectos que han desarrollado resistencia a otros grupos químicos (Oxborough et al. 2015).

Finalmente, el tiametoxam, un neonicotinoide de segunda generación, pertenece al Grupo 4A de la IRAC. Este grupo incluye insecticidas que actúan como moduladores competitivos de los receptores nicotínicos de acetilcolina en el sistema nervioso central de los insectos. A diferencia del imidacloprid, otro insecticida del mismo grupo, el tiametoxam es bioactivado dentro del insecto para formar el compuesto activo clotianidin, lo que amplía su espectro de acción y reduce la probabilidad de resistencia cruzada. Además, esta característica metabólica lo hace altamente eficaz contra plagas resistentes (Uragayala et al. 2015).

El uso de estos insecticidas no convencionales para el control de mosquitos, representa una estrategia viable para abordar el problema de la resistencia en *Ae. aegypti*. Su integración en programas de manejo de resistencia no solo prolonga la eficacia de los insecticidas actuales, sino que también minimiza el riesgo de resistencia cruzada mediante la rotación de diferentes modos de acción.

2. ANTECEDENTES

2.1. Control de vectores

El control de vectores ha sido la principal herramienta para la prevención, control, así como la eliminación de múltiples enfermedades transmitidas por vectores como dengue, Zika, Chikungunya transmitidas por el mosquito *Ae. aegypti* (Matthews et al. 2018)

La Organización Mundial de la Salud (WHO 2012) promueve en su manual de Manejo Integrado de Vectores, un enfoque estratégico que consiste en la toma de decisiones con la finalidad de optimizar el uso de recursos en el control de vectores con el objetivo de tener una mejora en la eficacia, costo-beneficio, así como ser sostenible a lo largo del tiempo. Este programa se centra en diferentes enfoques como es el control físico o ambiental, control biológico y control químico mediante actividades que van desde la reducción de criaderos, educación, vigilancia epidemiológica y entomológica y el uso de insecticidas (Wong et al. 2023).

Actualmente, el control de vectores, como *Ae. aegypti*, consiste en reducir o eliminar los criaderos de larvas además del uso de insecticidas o repelentes, control mecánico como trampas con o sin insecticidas para adultos, métodos biológicos tales como organismos entomopatógenos, enemigos naturales, insecticidas naturales e insecticidas químicos (Weeratunga et al. 2017).

El uso de insecticidas es una de las estrategias de mayor uso debido a su eficacia y acción relativamente rápida, un ejemplo de ello fue la introducción del DDT en 1947 para la erradicación de *Ae. aegypti*, sin embargo, debido a la aparición de resistencia al DDT por parte del vector, este fue retirado en 1972 (Chavéz et al. 2005). Las estrategias de control de vectores enfrentan ciertas limitantes como lo son el desarrollo de resistencia y el limitado número de insecticidas específicos para el control de vectores (Wilson et al. 2020).

2.2 Control de vectores en México

Las enfermedades transmitidas por vectores en México representan un grave problema de salud pública, las más representativas debido a su morbilidad son dengue,

zika y Chikungunya. El principal vector es el mosquito *Ae. aegypti* que está ampliamente distribuido en el territorio mexicano. Al no existir vacunas ni tratamientos específicos y efectivos contra las enfermedades transmitidas por dicho vector, el control de vectores es la principal medida para disminuir las poblaciones de mosquitos *Ae. aegypti* (Ahmad et al. 2017). En ese sentido, la CENAPRECE (Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades) ha planteado diversas estrategias para un manejo integrado del vector como la participación social además del control físico o ambiental y químico.

2.2.1. Control físico en *Ae. aegypti*

En relación con el control físico, se busca informar a los habitantes sobre las arbovirosis además de eliminar los sitios potenciales de criaderos dentro y alrededor de las viviendas mediante la modificación ambiental que busca prevenir o minimizar la propagación del vector y el contacto huésped-vector realizando actividades como: destrucción, modificación, eliminación o reciclaje de recipientes no esenciales que permiten el desarrollo de criaderos (Rodríguez 2002). Otra de las tareas del control ambiental es realizar modificaciones temporales que consisten en el manejo de recipientes como vaciar y limpiar recipientes como floreros, limpieza de canaletas, neumáticos almacenados, plantas ornamentales, lo cual, ha sido efectivo para disminuir los sitios de ovoposición y, por ende, la densidad de mosquitos adultos (Bellini et al. 2014).

Además, se han implementado ciertas iniciativas como el programa “Recicla por tu bienestar”, en Mérida, Yucatán con la finalidad de fomentar el reciclaje, la eliminación de criaderos de mosquito e incentivar la participación social para crear consciencia. Como resultado, se obtuvo un impacto significativo durante la campaña al obtener una reducción de recipientes de riesgo y un mayor control sobre criaderos de *Ae. aegypti* en Mérida, Yucatán, por lo cual, este tipo de control también es muy importante dentro del manejo integrado de vectores (Barrera-Pérez et al. 2015).

2.2.2. Control químico en *Ae. aegypti*

Una de las estrategias más utilizadas para el control de vectores es el control químico al ser efectivo y de rápida implementación. Existen cuatro clases de insecticidas que son ampliamente utilizados para el control de *Ae. aegypti* en México: organoclorados,

organofosforados, carbamatos y piretroides (Ranson et al. 2009). Los insecticidas organoclorados son compuestos lipofílicos con rangos de degradación lentos, son conocidos por su toxicidad, persistencia en el medio ambiente además de ser bioacumulables, esta última característica fue una de las principales razones por la cual fueron reemplazados por insecticidas organofosforados. Un ejemplo de ello fue la introducción del DDT como parte de las campañas contra el paludismo (1954 – 1984), sin embargo, se suspendió su uso debido a que tienen alta persistencia en el ambiente, fácil entrada a la cadena alimenticia, además de aparición de resistencia (Fernández et al. 2020). Posteriormente, la restricción y prohibición de insecticidas organoclorados originó la introducción de insecticidas organofosforados, sustancias sintéticas derivadas de la molécula del ácido fosfórico, que tienen como característica tener baja toxicidad y menor probabilidad de acumularse en tejidos a comparación de insecticidas organoclorados (Yu et al. 2015). El insecticida temefos, es un organofosforado, ampliamente utilizado como larvicida mientras que el malatión como adulticida en aplicación ultra bajo volumen (ULV), además de los insecticidas metil-pirimifós y clorpirifós-etil en aplicación de rociado residual en interiores (IRS) (Manjarres y Olivero 2013).

Los carbamatos son sustancias químicas derivadas del ácido carbámico que tienen como característica poder degradarse por exposición al sol, no se bioacumulan, son moléculas liposolubles y la mayoría de ellos suelen ser de baja toxicidad. Los insecticidas de esta clase recomendados para el control de vectores en México son el bendiocarb y propoxur, los cuales se aplican en forma de IRS (CENAPRECE 2025).

La clase de insecticidas más comúnmente utilizada para el control de *Ae. aegypti* son los piretroides, insecticidas orgánicos sintéticos derivados de las piretrinas, obtenidas a partir de extractos de flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Han sido utilizados en todo el mundo desde la década de 1980 gracias a su alta efectividad y baja toxicidad en comparación con insecticidas organofosforados y carbamatos (Palmquist et al. 2012).

La introducción de piretroides en México fue en los años 90s, cuando se prohibió el uso del DDT, fueron incorporados como adulticidas. De acuerdo con la NOM-032-SSA-2002 (Secretaría de Salud 2003) las formulaciones de permetrina, bioaletrina, así como butóxido de piperonilo (BOP) fueron utilizados por más de 10 años en aplicación de ultra bajo volumen (UBV) mientras que deltametrina se aplicaba en IRS (Marcombe et al.

2018). Sin embargo, el uso de permetrina fue suspendido en el 2011 mientras que el insecticida deltametrina seguía aprobado para uso de IRS. Otro tipo de piretroides fueron autorizados en México como alfa-cipermetrina, fenotrina, bifentrina, praletrina y transflutrina en aplicación UBV, así como IRS. Además, el uso de deltametrina como UBV fue aprobado en el 2016 (Solis-Santoyo et al. 2021). Debido al uso de piretroides en México por más de 20 años ha favorecido la aparición de resistencia en poblaciones de mosquitos complicando los métodos de control del vector. Posteriormente, el uso de organofosforados se reintegró con el uso de malatión y clorpirifos como adulticidas, mientras que se recomendó el uso de carbamatos solo para aplicación de rociado residual en interiores (Contreras-Perera et al. 2020).

2.3. Resistencia a insecticidas

El uso de insecticidas como herramienta para el control de vectores ha sido ampliamente adoptado durante las últimas décadas, dado su rápido efecto en la mortalidad de artrópodos de importancia médica como *Ae. aegypti*. Sin embargo, la emergencia de resistencia en las poblaciones de mosquitos ha comprometido la eficacia de estas estrategias (Hemingway et al. 2000). La resistencia a insecticidas es un fenómeno complejo que involucra tanto factores genéticos y fisiológicos como aspectos conductuales y ecológicos, y su aparición suele estar influida por la presión de selección derivada del uso intensivo y frecuente de compuestos químicos (Moyes et al. 2017; Karunaratne et al. 2018). De hecho, el uso extensivo de insecticidas sintéticos ha llevado a la resistencia en más de 450 especies de artrópodos a nivel mundial (Sparks y Nauen, 2015). Los primeros reportes de resistencia a insecticidas surgieron con el DDT durante la campaña mundial de erradicación de la malaria en la década de 1950 (WHO 2012). Hasta la fecha, se han descrito cuatro mecanismos principales que confieren resistencia a insecticidas: cambios en el comportamiento, alteraciones en la penetración cuticular, resistencia metabólica y modificaciones en el sitio blanco. Entre estos, la resistencia metabólica y las alteraciones en el sitio blanco son los mecanismos más frecuentes (Hemingway et al. 2002; Liu, 2015).

En el caso específico de México, la resistencia en poblaciones de *Ae. aegypti* ha sido ampliamente documentada, especialmente frente a piretroides (Saavedra-Rodriguez et al.,

2007; Ponce-García et al., 2009; Siller et al., 2011; Aponte et al., 2013; Vera-Maloof et al., 2015; Saavedra et al., 2015, 2018, 2019; Lopez-Monroy et al., 2018; Villanueva-Segura et al., 2020; Contreras-Perera et al., 2020). Asimismo, se ha observado resistencia a otros insecticidas utilizados en programas de control vectorial, incluyendo el larvicida organofosforado temefos y adulticidas como malatión, clorpirifos y bendiocarb (Lopez-Monroy et al., 2014; Lopez-Solís et al., 2020; Solís-Santoyo et al., 2021; López-Zerón et al., 2023; Davila-Barboza et al. 2024).

2.3.1 Resistencia metabólica

La resistencia metabólica es uno de los principales mecanismos adaptativos que los insectos utilizan para contrarrestar la acción de los insecticidas. Este mecanismo involucra principalmente tres familias de enzimas detoxificantes: esterasas, glutatión S-transferasas (GSTs) y monooxigenasas del citocromo P450 (también llamadas oxidasas de función mixta, MFO). Estas enzimas permiten incrementar la velocidad del metabolismo de los insecticidas, presentan mayor afinidad por los compuestos o son sobreexpresadas en poblaciones expuestas a presión de selección, contribuyendo a la resistencia contra carbamatos, organoclorados, organofosforados y piretroides (Schechtman et al., 2020).

Las esterasas están particularmente relacionadas con la detoxificación de organofosforados, aunque también participan en la resistencia cruzada con piretroides y carbamatos. Las GSTs actúan directamente metabolizando insecticidas o bien como mecanismos de protección frente al estrés oxidativo inducido por estos (Hemingway et al. 2004; Li et al. 2007)

En México, la resistencia metabólica en *Ae. aegypti* ha sido ampliamente documentada, vinculándose con un aumento en la expresión y actividad de estas enzimas. Por ejemplo, estudios identificaron la participación de las α -esterasas en la resistencia a la permetrina en poblaciones de Baja California (Flores et al., 2005). Niveles elevados de GSTs y oxidasas de función mixta (MFOs) también se han asociado con la resistencia a insecticidas piretroides en diversas poblaciones (Flores et al., 2006; Flores et al., 2009; Saavedra-Rodríguez et al., 2008; López-Solís et al., 2020; Contreras-Perera et al., 2020). Además, se ha observado una variación regional en la actividad enzimática, con perfiles de resistencia metabólica distintos en el norte y sur del país, reflejando las presiones

locales de selección (Aponte et al., 2013). Por ejemplo, en Tapachula, Chiapas, se confirmó que poblaciones expuestas a presión de selección presentaron resistencia alta a piretroides y de baja a moderada a organofosforados y carbamatos, asociada con niveles elevados de esterasas, CyP450 y GSTs (López-Solís et al., 2020). De manera complementaria, Saavedra-Rodríguez et al. (2008), a través del análisis de loci de rasgos cuantitativos (QTL), identificaron la participación de un marcador de esterasa (CCEunk7o) en el desarrollo de la resistencia, en conjunto con mutaciones en el canal de sodio dependiente de voltaje (VGSC).

2.3.2 Resistencia por modificaciones de sitio blanco

La resistencia en el sitio blanco de acción de los insecticidas está asociada a mutaciones en el canal de sodio dependiente de voltaje (VGSC) que causa resistencia al derribo o *kdr*, mutaciones en los receptores GABA así como en el gen acetilcolinesterasa (Ace-1) (Feyereisen et al. 2015).

La sustitución de aminoácidos en el canal de sodio dependiente de voltaje (VGSC), una proteína transmembranal compuesta por cuatro dominios homólogos (I–IV) encargada de transmitir los potenciales de acción a lo largo de la membrana celular, constituye uno de los principales mecanismos implicados en la resistencia a piretroides (Du et al., 2016). Este mecanismo, conocido como resistencia al derribo (*kdr*), fue identificado por primera vez en *Musca domestica*, donde se observó la sustitución de leucina por fenilalanina en la posición 1014 (L1014F) del VGSC (Williamson et al., 1996).

En *Ae. aegypti*, se han identificado trece variantes de secuencia que afectan diez posiciones distintas a lo largo de cinco regiones del VGSC: IIS4-5, IIS5-6, IIS-6, IIIS6 y IVS5. Estas mutaciones se localizan en las posiciones 410 (V→L), 923 (G→I), 982 (L→W), 989 (S→P), 1007 (A→G), 1011 (I→M o V), 1016 (V→G o I), 1520 (T→I), 1534 (F→C o L) y 1763 (D→Y) (Haddi et al., 2017; Moyes et al., 2017; Granada et al., 2018; Lien et al., 2018; Kushwah et al., 2015). Aunque todas estas mutaciones han sido ampliamente documentadas, solo algunas, S989P, I1011M, V1016G, F1534C y V410L, han sido confirmadas funcionalmente como causantes de la insensibilidad a piretroides y DDT mediante estudios de expresión heteróloga y ensayos electrofisiológicos (Du et al.,

2013; Haddi et al., 2017; Saavedra-Rodríguez et al., 2018). Además, estas mutaciones suelen presentar patrones de distribución geográfica específicos; por ejemplo, V1016G ha sido reportada en Asia, pero no en América, con la excepción de un único hallazgo en Panamá (Fernando et al., 2018; Murcia et al., 2019).

En México, las mutaciones en el gen VGSC han sido objeto de diversas investigaciones que han permitido trazar la evolución de la resistencia a piretroides en *Ae. aegypti*. La primera detección de la mutación V1016I se realizó en poblaciones resistentes a permetrina de Isla Mujeres, Quintana Roo (Saavedra-Rodriguez et al., 2007). A partir de ese hallazgo inicial, Ponce et al. (2009) evidenciaron un incremento notable en la frecuencia del alelo I1016, que pasó de apenas 0.04 % entre 1996 y 2000, a 33.2 % en el periodo 2007–2009. Más adelante, Siller et al. (2011) confirmaron la distribución de este alelo en otras poblaciones de *Ae. aegypti* del país. Posteriormente, Vera-Maloof et al. (2015) demostraron que la evolución secuencial de las mutaciones I1016 y C1534 era esencial para el desarrollo de resistencia a piretroides. En un estudio más reciente, Saavedra-Rodríguez et al. (2018) identificaron la presencia de la mutación V410L en poblaciones recolectadas entre 2002 y 2016 en distintas regiones del país, resultado que fue respaldado por Villanueva-Segura et al. (2020), quienes reportaron una alta frecuencia de este alelo en 25 poblaciones del este y sur de México.

2.4. Insecticidas alternativos para el control de *Ae. aegypti* resistente a insecticidas convencionales

Dado que la resistencia a insecticidas convencionales, particularmente a piretroides, ha reducido la eficacia de las estrategias de control, se ha incrementado el interés en el uso de insecticidas alternativos que ofrezcan nuevas opciones de manejo para poblaciones resistentes de *Ae. aegypti*.

Actualmente, solo 13 insecticidas, pertenecientes a cuatro clases químicas y dos modos de acción principales, están aprobados por el programa de Precalificación de la OMS para Productos de Control de Vectores (PQ Vector Control), el cual reemplazó al antiguo esquema WHOPES (WHO 2019). Sin embargo, la aparición de resistencia a estos insecticidas empleados en salud pública resalta la necesidad de identificar nuevas moléculas con modos de acción distintos, que puedan incorporarse en programas de

rotación y manejo de resistencia para preservar la eficacia de las intervenciones (Hemingway et al., 2016). En este contexto, la evaluación de insecticidas comerciales utilizados en la agricultura surge como una estrategia viable y rentable para identificar nuevas alternativas para el control de vectores (Hoppé et al., 2016; Sparks y Nauen, 2015).

2.4.1. Ácido tetrónico y derivados

Este tipo de compuesto ha sido introducido en los últimos años en varios países debido a su eficacia para el control de plagas agrícolas en programas de manejo de resistencia. Tienen alta selectividad, actividad residual y representan un riesgo mínimo hacia mamíferos, polinizadores y ácaros depredadores además de contar con un modo de acción innovador (Nauen et al. 2002; Bretschneider et al. 2003). El espiromesifeno, es un insecticida/acaricida derivado del ácido tetrónico espirocíclico, fue sintetizado en 1994 y comercialmente conocido como Oberon®, y se utiliza para el control de moscas blancas y ácaros, tiene un impacto moderado a bajo, con una vida media de degradación en el suelo de aproximadamente 5 días además de baja solubilidad en agua (Nauen et al. 2002). El modo de acción del espiromesifeno es bloquear la síntesis de triglicéridos y ácidos grasos libres al inhibir la enzima acetil-CoA-carboxilasa, que cataliza la carboxilación de acetil-CoA a malonil-CoA, el cual, es el primer paso en la biosíntesis de ácidos grasos (Bielza et al. 2019). Lo anterior, es importante debido a que los lípidos tienen funciones muy importantes en el metabolismo de los insectos, particularmente en mosquitos es esencial para diferentes procesos fisiológicos al ser utilizados como reserva energética durante la diapausa además de proporcionar la energía necesaria para la maduración oocitaria y desarrollo embrionario (Dunning et al. 2014). Adicionalmente, el espiromesifeno tiene un efecto sobre el contenido de carbohidratos y glucógeno, que son importantes al tener un papel fundamental en la fisiología de los insectos como el vuelo, muda y reproducción (Kissoum y Soltani 2016). Insectos que son expuestos a este tipo de insecticida exhiben una reducción en la alimentación y efecto en el crecimiento donde se ha demostrado que afecta las etapas inmaduras de diferentes plagas agrícolas tanto en estadios larvarios como ninfas evitando que maduren a su etapa adulta (Nauen et al. 2005a). Bouabida et al. (2017a, 2017b) realizaron estudios en diferentes especies de mosquito: *Culex pipiens* y *Culiseta longiareolata*, utilizando CL₅₀ y CL₉₀ de

espiromesifeno mostrando reducciones de ambas especies en el volumen corporal, peso, así como en el contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas, además evaluaron los niveles de dos biomarcadores de estrés oxidativo: malonaldehído (MDA), producto de peroxidación lipídica, así como la actividad catalasa (CAT) y ambas especies tuvieron un incremento en la tasa de MDA y actividad CAT, lo que establece un proceso de desintoxicación como forma de defensa del insecto hacia la exposición al insecticida. En distintas plagas agrícolas, la exposición a espiromesifeno afecta la fecundidad y fertilidad, lo que concuerda con lo realizado por Marcic et al. (2010) donde evaluaron la reducción de la fecundidad, fertilidad y crecimiento de la población de *Tetranychus urticae*, plaga agrícola de cultivos como tomate, maíz, cítricos, etc., expuestas a diferentes concentraciones de espiromesifeno (1.8, 18 y 180 mg/L) demostrando que en los tres bioensayos realizados hubo una reducción en la fertilidad y fecundidad así como una disminución en el tamaño de la población.

Estudios realizados en *Drosophila melanogaster* por Kissoum y Soltani (2020) confirmaron el efecto del espiromesifeno en la inhibición del desarrollo, ovarios además de reducir en número de oocitos a dosis de LC₁₀ y LC₂₅ (21.45 y 39.53 µg/ml, respectivamente) aplicado de manera tópica en pupas además al analizar el contenido de carbohidratos y glucógeno confirmó la reducción en los niveles ováricos de los individuos expuestos a dichas concentraciones. Debido a los efectos biológicos del espiromesifeno en estadios larvarios pudiera proponerse como candidato para ser utilizado en poblaciones de *Ae. aegypti* resistentes a temefos.

2.4.2. Neonicotinoides

Este tipo de moléculas ha sido una herramienta importante para el control de plagas agrícolas, especialmente insectos chupadores. Se caracterizan por su baja toxicidad hacia mamíferos e insectos benéficos, además de ser amigables con el medio ambiente y efectivos a bajas dosis. También presentan un modo de acción distinto al de otros insecticidas (Abdel-Haleem et al. 2020). Esta clase ha surgido como la cuarta generación de insecticidas, reemplazando a los organofosforados, carbamatos y piretroides, ya que han mostrado gran actividad contra insectos resistentes a estas clases. Su uso se ha

extendido ampliamente para el control de plagas como pulgones, mosquita blanca, escarabajos, tisanópteros y algunas especies de lepidópteros (Rahmani y Bandani 2015).

Los neonicotinoides son toxinas sistémicas que actúan sobre los receptores de acetilcolina en el sistema nervioso de los insectos, clasificados como agonistas del receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR). Estos compuestos interfieren con la transmisión de estímulos en el sistema nervioso, bloqueando la vía nicotínica, lo que conduce a la acumulación de acetilcolina y una rápida neurotransmisión excitatoria por la apertura de canales iónicos de sodio. Esto provoca parálisis y, eventualmente, la muerte del insecto. Además, se ha reportado su eficacia tanto por vía de contacto como gracias a sus propiedades sistémicas (Nazli y Butt 2020). Se han desarrollado tres generaciones de insecticidas neonicotinoides basadas en diferentes estructuras derivadas de la nicotina: clorada, tio- y furano-nicotina. El imidacloprid, lanzado comercialmente en 1991, fue el primer insecticida de esta clase y actualmente es el más utilizado; sin embargo, se han desarrollado otros neonicotinoides como el tiametoxam (Sun et al. 2018).

El tiametoxam, un neonicotinoide de segunda generación y de amplio espectro, se metaboliza en clotianidin (un neonicotinoide de tercera generación), prolongando así su efecto tóxico y ofreciendo ventajas importantes en estrategias de manejo de resistencia (Nauen et al. 2003). Su uso se ha reportado contra una amplia gama de insectos mordedores y chupadores en cultivos de cereales, vegetales y árboles frutales (Smina et al., 2016). En un estudio de Smith et al. (2016), se evaluó la susceptibilidad de 19 poblaciones de campo de *Bemisia tabaci* al tiametoxam en el sur de Florida. Se utilizaron dosis de CL_{50} entre 0.97 y 24.43 ppm, observándose que el 26% de las poblaciones resultaron susceptibles, lo que sugiere cierto grado de resistencia cruzada.

Por otro lado, Arserim et al. (2020) evaluaron la toxicidad del tiametoxam en poblaciones de campo de moscas de arena, vectores de leishmaniasis humana y canina, recolectadas en cinco localidades de Turquía. Los resultados mostraron que las moscas de arena fueron altamente susceptibles al tiametoxam, alcanzando el 100% de mortalidad tras 24 horas de exposición a dosis de 0.125 y 0.25 g/m² bajo condiciones de laboratorio.

Además, el tiametoxam se ha evaluado en condiciones de laboratorio en diferentes especies de mosquitos como *Anopheles stephensi*, *Ae. aegypti* y *Culex quinquefasciatus*. Urabayala et al. (2015) probaron el efecto larvicida y adulticida de tres neonicotinoides

(imidacloprid, thiacloprid y tiametoxam) en poblaciones resistentes y susceptibles de estas especies. Los bioensayos se realizaron en larvas de tercer estadio tardío y cuarto estadio temprano, siguiendo las dosis diagnósticas recomendadas por la OMS, y en adultos mediante aplicación tópica. Los resultados mostraron que las especies de mosquito fueron susceptibles a los tres neonicotinoides, siendo el thiacloprid el más efectivo en adultos, seguido de tiametoxam e imidacloprid; mientras que, en larvas, el imidacloprid fue el más efectivo, seguido de tiametoxam y thiacloprid. Curiosamente, las poblaciones resistentes mostraron valores de CL_{50} más bajos que las cepas susceptibles, lo que indica la posibilidad de utilizar estos neonicotinoides en el control de poblaciones resistentes a piretroides, organofosforados y organoclorados.

2.4.3. Oxiadiazinas

Las oxadiazinas son moléculas con notable acción larvicida y, en ciertas especies, actividad ovicida. Se destacan por su baja toxicidad hacia mamíferos, la ausencia de reportes de efectos adversos en insectos benéficos y un modo de acción innovador. Poseen actividad de contacto contra una amplia gama de plagas agrícolas, incluyendo dípteros y lepidópteros (McCann et al. 2001).

El indoxacarb, insecticida de esta clase derivado de la pirazolina, fue comercializado por DuPont en el año 2000 en formulaciones de gránulos dispersables en agua y concentrados emulsionables para tratamiento foliar en cultivos como algodón, arroz y lechuga. Además, presenta alta eficacia contra cucarachas, hormigas, termitas y moscas, razón por la cual también se comercializa en forma de cebo en gel, siendo especialmente útil para el control de insectos resistentes a insecticidas existentes (Zarzoliani et al. 2023).

Este insecticida actúa como neurotóxico, bloqueando los canales dependientes de sodio y causando parálisis y muerte en los insectos. Aunque este sitio de acción es compartido con insecticidas como DDT y piretroides, el modo de acción del indoxacarb es diferente, ya que el canal de sodio posee al menos nueve sitios blanco independientes para diversas neurotoxinas (Lapied et al. 2001).

El mecanismo de acción del indoxacarb se activa mediante la descarbometoxilación, transformándolo en el metabolito más activo DCJW, proceso facilitado por la acción de enzimas esterasas y amidasas dentro del insecto. Este metabolito se une a los canales de

sodio en un sitio diferente al de los piretroides, provocando interrupciones en el flujo de iones, así como estrés oxidativo, interferencia en la inflamación y daño tisular (Zarzoliani et al. 2023).

El indoxacarb ha demostrado alta efectividad contra lepidópteros de importancia agrícola como *Heliothis*, *Spodoptera* sp., *Laspeyresia* sp., *Plutella* sp., *Trichoplusia* sp., *Lobesia* sp., *Cydia* sp. y tortricidos, además de insectos chupadores como *Lygus lineolaris* y el escarabajo *Leptinotarsa decemlineata* (Wing et al. 2000). Abdullah (2019) evaluó su eficacia en diferentes formulaciones (gránulos dispersables, suspensión concentrada y emulsión concentrada) contra *Spodoptera littoralis*, la rosquilla negra que afecta cultivos de importancia económica como tomate, algodón, alfalfa y cereales. Los resultados mostraron actividad larvicida contra larvas de tercer estadio, con valores de CL₅₀ específicos para cada formulación.

Miliordos et al. (2017) probaron la eficacia del indoxacarb en adultos de tres plagas de granos almacenados: el gorgojo del arroz (*Sitophilus oryzae*), el barrenador menor del grano (*Rhyzopertha dominica*) y el escarabajo confuso de la harina (*Tribolium confusum*), usando dosis de 0.1, 1 y 10 ppm. El indoxacarb mostró alta efectividad contra *R. dominica* y *S. oryzae*, alcanzando casi el 100% de mortalidad, mientras que para *T. confusum* la mortalidad fue del 25%, aunque se observó reducción en la producción de progenie en todas las especies.

En mosquitos, N'Guessan et al. (2007) evaluaron el indoxacarb en poblaciones resistentes de *Anopheles gambiae*, vector de la malaria, tanto en larvas como en adultos. Mostró actividad larvicida comparable a piretroides y organofosforados, mientras que, en adultos, las redes impregnadas con 500 mg/m² de indoxacarb lograron mortalidades superiores al 90%, en comparación con el 30% alcanzado por redes tratadas con permetrina a la misma dosis. Oxborough et al. (2015) probaron el indoxacarb en una cepa susceptible de *An. gambiae* y en cepas susceptibles y resistentes de *Cx. quinquefasciatus*. Redes impregnadas con dosis de 100, 500 y 1000 mg/m² en *An. gambiae* y de 500 mg/m² en *Cx. quinquefasciatus* demostraron una alta eficacia en mortalidad y redujeron significativamente la alimentación sanguínea.

Por otro lado, en poblaciones de *Aedes albopictus* recolectadas en Punjab, Pakistán, entre 2008 y 2010, Khan et al. (2011) reportaron alta resistencia al indoxacarb, con razones

de resistencia entre 41 y 101, sugiriendo una resistencia cruzada debido al uso de agroquímicos en cultivos de algodón. Finalmente, Paul et al. (2006) evaluaron la toxicidad de indoxacarb en larvas de *Ae. aegypti*, obteniendo una CL₅₀ de 79 ng/ml. Estos resultados mostraron moderada toxicidad, similar a la observada con organofosforados y carbamatos, destacando la necesidad de realizar ensayos de campo para evaluar su desempeño contra adultos y explorarlo como posible alternativa para el manejo de poblaciones resistentes de *Ae. aegypti*.

2.4.4. Diamidas antranílicas

Los canales de calcio representan un sitio blanco fisiológico clave para el control de diversas plagas, ya que participan en funciones celulares esenciales como la contracción muscular y la liberación de neurotransmisores. La contracción muscular coordinada depende de dos tipos de canales de calcio: los canales dependientes de voltaje, que permiten la entrada de calcio, y los receptores de rianodina, que regulan las reservas internas de calcio. Las diamidas antranílicas constituyen una nueva clase de insecticidas químicos que actúan precisamente mediante la liberación de reservas intracelulares de Ca²⁺, al activar los receptores de rianodina (Plata-Rueda et al. 2019). Estos receptores regulan múltiples actividades fisiológicas y celulares, incluyendo la expresión génica, la liberación de neurotransmisores, la secreción hormonal, la contracción muscular y la proliferación celular, influyendo directamente en la mortalidad del insecto (Kim et al. 2021).

Dentro de este grupo destaca el clorantraniliprol, introducido al mercado por DuPont en 2007 (Guo et al. 2014). Este insecticida presenta un amplio espectro de acción contra plagas como coleópteros, dípteros, hemípteros, lepidópteros y tisanópteros. Desde su registro en 2008, se ha utilizado para el control de diversas plagas de lepidópteros, incluyendo *Tryporyza incertulas*, *Ostrinia furnacalis*, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* y *Tuta absoluta*, demostrando alta eficacia y sin resistencia cruzada con insecticidas convencionales, además de baja toxicidad para mamíferos y organismos no blanco (Wang et al. 2016).

El clorantraniliprol ha sido evaluado en diversas plagas agrícolas, entre ellas *Hypothenemus hampei*, principal plaga del cultivo de café. Frente a la resistencia al

endosulfán, Plata-Rueda et al. (2019) evaluaron el efecto del clorantraniliprol en adultos de *H. hampei*, obteniendo CL₅₀ de 0.49 mg/mL y CL₉₀ de 1.21 mg/mL. Los resultados mostraron supervivencias de 52% y 2% tras la exposición, respectivamente, acompañadas de disminución en la tasa de respiración durante 3 horas, así como alteraciones en el comportamiento y locomoción, evidenciando efectos letales y subletales valiosos para retrasar la aparición de resistencia.

En el caso de *Agrotis ipsilon*, el gusano cortador negro que se alimenta de más de 100 cultivos (maíz, trigo, algodón, soya, entre otros), He et al. (2019) evaluaron los efectos subletales de concentraciones CL₀₅, CL₂₅ y CL₄₅ de clorantraniliprol en larvas de tercer estadio. Observaron alteraciones significativas en el desarrollo larvario, pupal y adulto, reducción en la tasa de emergencia, fecundidad, fertilidad y aparición de malformaciones. Además, reportaron disminución en los contenidos de proteínas, lípidos, carbohidratos y trehalosa, así como reducción en el peso corporal. Estos hallazgos destacan la capacidad del clorantraniliprol para afectar el desarrollo y reducir las poblaciones de esta plaga a concentraciones bajas.

Debido a estos efectos letales y subletales en plagas agrícolas, el clorantraniliprol emerge como un candidato prometedor para el control de poblaciones resistentes de *Aedes aegypti*.

3. JUSTIFICACIÓN

La creciente resistencia de *Ae. aegypti* a insecticidas convencionales, como los piretroides y organofosforados, plantea un desafío crítico para la eficacia de las estrategias de control vectorial. En México, esta problemática se agrava por la presencia simultánea de múltiples mecanismos de resistencia, incluyendo mutaciones kdr en el gen para canal de sodio dependiente de voltaje y sobreexpresión de enzimas detoxificantes. Frente a la ausencia de vacunas o tratamientos efectivos para las enfermedades transmitidas por *Ae. aegypti*, es necesario buscar alternativas que permitan mantener la efectividad de los programas de control.

El uso de insecticidas no convencionales, originalmente diseñados para la agricultura pero con potencial de aplicación en salud pública, emerge como una respuesta prometedora para contrarrestar la resistencia. Estos insecticidas como el espiromesifeno, clorantraniliprol, indoxacarb y tiametoxam, poseen modos de acción distintos a los empleados tradicionalmente en el control vectorial y han demostrado eficacia frente a cepas resistentes a insecticidas convencionales en plagas de importancia agrícola. Sin embargo, la adopción de estos insecticidas en programas de control requiere evaluaciones rigurosas de su eficacia y de su impacto en la resistencia cruzada.

Por lo tanto, esta investigación busca generar evidencia científica sobre el potencial de insecticidas no convencionales en el control de *Ae. aegypti* resistente a insecticidas convencionales. Los resultados de este trabajo contribuirán a fundamentar decisiones sobre la rotación y combinación de insecticidas en programas integrados de manejo de resistencia, con el fin de prolongar la eficacia de las herramientas actuales y mejorar la sostenibilidad de los programas de control de vectores.

4. HIPÓTESIS

Los insecticidas espiromesifeno, indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam son alternativas efectivas para el control de *Ae. aegypti* resistente a insecticidas convencionales, al actuar mediante mecanismos de acción diferentes a los piretroides y organofosforados, ofreciendo una solución potencial para poblaciones con alta resistencia a estos compuestos.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la eficacia y potencia de los insecticidas espiromesifeno, indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam en poblaciones de *Ae. aegypti* resistentes a piretroides y temefos, mediante la determinación de parámetros de concentración-respuesta y evaluar los efectos subletales del espiromesifeno y su impacto en biomarcadores bioquímicos y fisiológicos.

5.3 Objetivos específicos

1. Determinación de la frecuencia de resistencia y caracterizar los mecanismos de asociados en poblaciones de *Ae. aegypti* frente al larvicida temefos y a los piretroides tipo I (permetrina) y tipo II (deltametrina).
2. Determinar la susceptibilidad de poblaciones de *Ae. aegypti* al espiromesifeno y evaluar el efecto biológico de concentraciones subletales en parámetros morfométricos, componentes bioquímicos (carbohidratos, lípidos y proteínas), respuestas metabólicas (actividad de catalasa y niveles de malondialdehído) y el efecto esterilizante en hembras adultas.
3. Determinar la susceptibilidad de poblaciones de *Ae. aegypti* a los insecticidas indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Material biológico

Se recolectaron estadios inmaduros de *Ae. aegypti* de diferentes localidades del estado de Nuevo León. Las poblaciones se recolectaron de los municipios de Guadalupe (25°38'51.3" N, 100°12'01.6" W), Apodaca (25°42'24.5" N, 100°09'01.8" W) y Monterrey (25°39'40.0" N, 100°19'26.5" W). El material biológico fue transportado en bolsas whirl - pack al insectario del Laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad B (Universidad Autónoma de Nuevo León). Las larvas se criaron en bandejas de plástico con agua de clorada y se alimentaron con proteína de hígado bovino en polvo (Liver Powder MP Biomedicals, LLC, Santa Ana, CA, USA). Posteriormente, cuando las larvas alcanzaron el estadio de pupa éstas fueron trasladadas a cámaras de emergencia y los adultos se mantuvieron en jaulas (30 x 30 cm). Los mosquitos macho fueron alimentados con agua azucarada al 10% sobre algodones impregnados mientras que las hembras fueron alimentadas de manera artificial con sangre de cordero (*Ovis orientalis*) para la producción de huevos. Dentro de las jaulas se colocaron vasos de plástico con agua de clorada y papel filtro como sustrato para la ovoposición y obtener la generación F₁ utilizada para los bioensayos. El material biológico se mantuvo en condiciones de temperatura 27±1 °C, 70±5% de humedad relativa con fotoperíodos 12 horas luz y 12 horas oscuridad. La cepa New Orleans (NO) fue utilizada como referencia para la susceptibilidad a insecticidas y se mantuvo en las mismas condiciones previamente descritas.

6.2. Insecticidas

Los insecticidas evaluados en esta investigación fueron: temefos, permetrina, deltametrina, espiromesifeno, indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam (Chem Service, Inc.), ingrediente activo (i.a) (Tabla 1).

Tabla 1. Insecticidas evaluados en el presente estudio

<i>Nombre común</i>	<i>Nombre químico</i>	<i>Concentración</i>	<i>Pureza</i>
Temefos	0,0,0,0'-tetrametil-0,0 tio-dip-fenileno	100 mg	97.5%
Permetrina	cis-Permethrin (phenoxy-13C6)	100 mg	98.4%
Deltametrina	(RS)-alfa-ciano fenoxibencil-(1RS,3RS; 1SR, 3SR) 3- (2,2-diclorovinil) -2.2 Dimetilciclopropanocarboxilato	100 mg	99.5%
Espiromesifeno	2-mesitol-2-oxo-1-oxaspiro[4,4,]non-3-en-4-il 3,3-dimetilbutirato	100 mg	98%
Indoxacarb	metil (S)-N-[7-cloro-2,3,4a,5-tetrahidro-4a (metoxicarbonil)indeno[1,2-e][1,3,4]oxadiacin-2-ilcarbonil]-4'-(trifluorometoxi)carbanilato	100 mg	99.5%
Clorantraniliprol	3-bromo-4'-cloro-1-(3-cloro-2-piridil)-2'-metil-6'-(metilcarbamoil)pirazol-5-carboxanilida	25 mg	98%
Tiametoxam	(EZ)-3-(2-cloro-1,3-tiazol-5-ilmetil)-5-metil-1,3,5-oxadiazinan-4-iliden(nitro)amina	100 mg	99.5%

6.3. Susceptibilidad de *Ae. aegypti* a insecticidas convencionales

6.3.1 Bioensayos con temefos

Los bioensayos se realizaron en las poblaciones de campo previamente recolectadas para determinar la susceptibilidad a temefos mediante el protocolo de la WHO (1992). Las larvas fueron expuestas a la dosis diagnóstico (DD) de 0.012 mg/L diluida en etanol

(grado técnico, 97.5% pureza; Chem Service, West Chester, PA, USA). Se utilizaron un total de 25 larvas de III estadio en vasos con 100 ml de solución temefos de la DD, con un total de 4 repeticiones por población (N=100). Se incluyó un testigo absoluto que contenía 1 ml de etanol además de la cepa NO como control susceptible. La mortalidad se registró a las 24 h después de la exposición para la determinación de la resistencia. En caso de que la mortalidad del control fuera de 5% a 20% se utilizó la fórmula de Abbot (1925) para la corrección de la mortalidad. Si el control presentaba una mortalidad mayor al 20%, dicho bioensayo se descartaba.

Para la evaluación de la intensidad de resistencia se expusieron las poblaciones de campo, así como la cepa susceptible NO a cinco veces (5x) la DD (0.06 mg/L) y diez veces (10X) la DD (0.12 mg/L) de temefos. La frecuencia de resistencia se calculó mediante el criterio de WHO (2016) categorizando las poblaciones como susceptibles si la mortalidad era >98%, posible resistencia si la mortalidad oscilaba entre 90 y 97% y una mortalidad <90% indicaba resistencia. Por otro lado, la intensidad de resistencia fue catalogada de la siguiente manera: mortalidad >98% indicaba baja intensidad de resistencia, <98% moderada a alta intensidad de resistencia cuando se evaluó 5X la DD, mientras que al evaluar la exposición a 10X, mortalidad <98% fue considerada como intensidad moderada de resistencia y mortalidad <98% indicaba alta intensidad de resistencia.

6.3.2. Bioensayos con piretroides

Los bioensayos se realizaron siguiendo el protocolo de Brogdon y McAlister (1998). Se utilizaron botellas Wheaton® de 250 ml impregnadas con la dosis diagnóstico (DD) de permetrina, como piretroide tipo 1, 15 µg/botella y deltametrina, como piretroide tipo 2, 10 µg/botella, establecidas por la CDC (2011). Posteriormente, se diluyeron con 1 ml de acetona como solución disolvente, se taparon, se agitaron suavemente y se colocaron en un rotador de botellas (Wheaton Bench Top Roller) para garantizar la cobertura uniforme de la solución. Se dejaron secar las botellas durante 24 h en un lugar oscuro a temperatura ambiente.

Se prepararon cuatro réplicas de cada insecticida (permetrina y deltametrina) con sus respectivas dosis diagnóstico (DD) y un control impregnado solo con acetona. Con la

ayuda de un aspirador se transfirieron 25 hembras adultas a cada botella de cada una de las poblaciones de campo recolectadas, así como la cepa susceptible NO. Al bioensayo se sometieron un total de 100 mosquitos (25 x 4 réplicas) para cada insecticida en cada DD, además, de un control con 25 mosquitos.

El porcentaje de mortalidad en cada una de las poblaciones se categorizó de la siguiente manera: mayor o igual a 98% fue considerado susceptible, de 97 a 90% se consideró probable resistencia y menor a 90% resistencia confirmada (WHO 2016).

6.4. Caracterización de mecanismos asociados a la resistencia a temefos y piretroides

6.4.1. Determinación de enzimas detoxificantes en larvas y adultos

Se utilizaron 30 larvas (F_0) de tercer estadio para los análisis enzimáticos y se congelaron a -20°C . Del mismo modo, se recolectaron 30 hembras adultas de la generación F_0 , recién emergidas y sin alimentación sanguínea, que también se congelaron a -20°C . Este procedimiento se aplicó a cada una de las poblaciones de campo, así como a la cepa susceptible NO.

6.4.1.1. Preparación de homogenizado

Se homogenizaron tanto larvas como hembras ($N = 30$) de manera individual en 100 μl de 0.01 M pH 7.2 de buffer fosfato de potasio (Jalmek) y posteriormente, se resuspendieron con el mismo buffer hasta obtener un volumen de 2 ml. Se tomaron alícuotas de 100 μl de homogenato y se transfirieron en pocillos de una microplaca (Corning, USA); cada individuo se analizó por triplicado. Se evaluaron 4 enzimas de resistencia para cada población: α y β esterasas, oxidasas de función múltiple (OFM) y glutatión transferasas (GST), además se evaluó la cantidad de proteínas de cada individuo (Brogdon y McAllister 1997; ; Brogdon 1989; Brogdon et al. 1988a, 1988b) usando como referencia la cepa NO. Las absorbancias fueron medidas con un espectrofotómetro (ASYS Hitech GmbH, Eugendorf, Austria).

6.4.1.2. Curvas de calibración

Se realizaron curvas de calibración para las enzimas α - y β -esterasas, oxidasas y proteínas., empleando la técnica establecida por Valle et al. (2006). Para α - y β -esterasas se utilizó el reactivo α -y β -naftol, para MFO se utilizó citocromo C y para las proteínas el

reactivo suero de albúmina de bovino. Las curvas se construyeron con concentración inicial de 1 mg/μl y de ahí se partió para elaborar diferentes diluciones menores a la concentración inicial. Los valores de absorbancia obtenidos, la cantidad de proteínas y la pendiente de las curvas de calibración se utilizaron para la transformación de las absorbancias a actividad enzimática correspondiente a cada enzima analizada.

6.4.1.3. Determinación de actividad α y β esterasas

Se colocaron 100 μl de homogenato por triplicado en una microplaca, se añadió 100 μl de α o β naftilacetato (SIGMA-ALDRICH) (disuelto en acetona (CTR Scientific) y buffer de fosfato) y se incubaron a temperatura ambiente durante 20 min. Posterior al tiempo de incubación, se adicionaron 100 μl de dianisidina tetrazotizada (SIGMA-ALDRICH), se incubó durante 4 min y se realizó la lectura de absorbancias a 540 nm. Se utilizaron α o β naftil como controles positivos.

6.4.1.4. Determinación de oxidasas de función múltiple (OFM)

Se colocaron 100 μl de homogenato por triplicado en una microplaca, se añadió 200 μl 3,3,5,5-tetrametil-benzidina dihidroclorada (SIGMA-ALDRICH) (disuelta en metanol (Jalmek) y buffer acetato 0.25 M pH 5) en cada pocillo y se añadió 25 μl de peróxido de hidrógeno (Jalmek) a 3%. Se incubó durante 10 minutos y se realizó la lectura de absorbancia a 620nm. Como control positivo se utilizó Citocromo C (SIGMA-ALDRICH).

6.4.1.5. Determinación de glutatión S transferasas (GST)

Se colocaron 100 μL del homogenato por triplicado en una microplaca, se agregó 100 μl de glutatión reducido (SIGMA-ALDRICH) y 100 μl 1cloro-2,4 dinitrobenzeno (cDNB) (SIGMA-ALDRICH) en la microplaca y se realizaron lecturas a una longitud de onda de 340 nm de manera inmediata y posteriormente, se llevó a un período de incubación de 10 minutos. Para determinar la actividad GST, la lectura inicial T0 se restó a la lectura realizada a los 10 min (T10).

6.4.1.6. Determinación de acetil-colinesterasa insensible (AChEI)

Para la actividad total de la AChE y la AChE en presencia del inhibidor (AChEI), se añadieron 100 μl de homogeneizado en triplicado a dos microplacas. Para la AChE, se

agregaron 100 µl de acetilcolina yodada (ACTH; Sigma-Aldrich) y 100 µl de ácido dithio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB; Sigma-Aldrich). Para la AChEI, se añadieron 100 µl de acetilcolina yodada con propoxur (Chem Service, West Chester, PA, EE. UU.) como inhibidor. Posteriormente, se realizaron las lecturas de cada placa a 414 nm inmediatamente (T0) y después de 20 min de incubación a temperatura ambiente (T20), y se restó T0 de T20. Los resultados se expresaron como el porcentaje de actividad remanente de acetilcolinesterasa (AChEI) después de la adición del inhibidor, es decir, la diferencia entre la actividad en presencia y ausencia del inhibidor propoxur.

6.4.1.7. Transformación de valores de absorbancia a actividad enzimática

Para transformar los valores de absorbancia en actividad enzimática en cada muestra, primero se corrigieron las absorbancias obtenidas multiplicándolas por el factor de corrección que refleja el volumen total del homogenato. Posteriormente, estos valores se dividieron por el factor de conversión calculado a partir de la curva estándar específica para cada enzima o producto de reacción, lo cual permitió expresar los resultados en unidades como nmoles o mmoles. A continuación, se normalizó la actividad enzimática dividiendo el valor corregido por la cantidad total de proteínas de la muestra, obtenida mediante la curva estándar de proteínas. Finalmente, la actividad específica de cada enzima se calculó dividiendo por el tiempo total de reacción, obteniendo así la actividad enzimática expresada como nmoles o mmoles por minuto y por miligramo de proteína.

6.4.1.8. Análisis de resultados

Los valores promedio de la actividad enzimática para cada población se compararon con la cepa susceptible NO, mediante la prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$), seguida de la prueba post hoc de Dunn para comparaciones por pares. Para cada familia de enzimas, se calcularon los valores de actividad correspondientes al percentil 99 (p99) de la cepa de referencia NO. La actividad enzimática media se clasificó como no alterada (NA) cuando el porcentaje de individuos analizados no excedía el p99 de la cepa de referencia en al menos un 15%; incipientemente alterada cuando al menos entre el 15 y el 50% de los individuos excedían el p99; y alterada cuando este porcentaje era superior al 50%, de acuerdo con el criterio de Montella et al. (2007).

6.4.2. Determinación de mutaciones kdr

6.4.2.1. Extracción de ADN

Se extrajo el ADN individualmente de 30 mosquitos adulto hembra de cada una de las poblaciones de *Ae. aegypti* mediante la técnica de extracción de sales modificada de Coen et al. (1982). Los mosquitos fueron macerados de manera individual en 100 µl de buffer de extracción (0.1M NaCl, 0.2M sacarosa, 0.1 Tris-HCl pH 9.1, 0.005M EDTA y 0.5% de dodecilsulfato de sodio-SDS) con la ayuda de pistilos Kontex en tubos eppendorf de 1.5 ml. Posteriormente, se centrifugaron durante 5 min a 13,000 rpm y se incubaron durante 30 minutos a 65°C. Transcurrido este tiempo se agregó a cada tubo 15 µl de acetato de potasio (8N) y se colocaron a -20°C por 30 min con la finalidad de que precipite el SDS. Después se centrifugaron a 13,000 rpm durante 15 min y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo para realizar lavados con 200 µl de etanol al 100% y 70%. Se obtuvo el pellet de ADN, se dejaron secar los tubos por 10 min a 65°C y se resuspendieron en 50 µl de agua bidestilada ultrapura y se determinó la pureza del ADN mediante un equipo de NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Una vez garantizada la pureza de ADN, las muestras fueron almacenadas a -20°C para su posterior genotipificación de mutaciones kdr mediante PCR alelo específica.

6.4.2.2. Amplificación por PCR de alelos específicos asociados a las mutaciones kdr

Las mutaciones del gen del canal de sodio dependiente del voltaje (VGSC) asociadas a la resistencia a insecticidas fueron detectadas en cada una de las poblaciones de *Ae. aegypti* mediante PCR. Para obtener la frecuencia de alelos en los loci 410, 1016 y 1534 se utilizaron las condiciones y primers reportados por Saavedra et al. (2018, 2007) y Yanola et al. (2011) descritos en la Tabla 2.

Tabla 2. Primers utilizados para la detección de las mutaciones V410L, V1016I y F1534C

Mutación	Alelo	Secuencia 5' a 3'	Autor
V410L	V410 F	GCG GGC AGG GCG GCG GGG GCG GGG CC	Saavedra-Rodríguez et al., 2018
		ATCTTCTTGGGTTTCGTCTACCGTG	
	L410 F	GCG GGC ATCTTCTTGGGTTTCGTCTACCAT	
	410 R	TTCTTCCTCGGCGGCCTCTT	
V1016I	Val1016 F	GCGGGCGGCGGGGGCGGGGCC	Saavedra-Rodríguez
		ACAAATTGTTTCCCAACCCGCACCGG	

	Ile1016 F	GCGGGCACAAATTGTTTCCCACCCGCACTGA	et al.,
	Ile1016 R	TGATGAACCSGAATTGGACAAAAGC	2007
F1534C	C1534-f	GCGGGCAGGGCGGGCGGGGGCGGGGCCTCT	Yanola et al., 2011
		ACTTTGTGTTCTTCATCATGTG	
	F1534-f	GCGGGCTCTACTTTGTGTTCTTCATCATATT	
	CP-r	TCTGCTCGTTGAAGTTGTCGAT	

La reacción en cadena polimerasa (PCR) con alelos específicos para las tres mutaciones se llevó a cabo en un equipo termociclador Multigene OptiMax (Labnet International, Inc., Edison, N.J, USA). Los fragmentos fueron amplificados mediante PCR y fueron separados por su tamaño mediante geles de electroforesis al 2.5, 3 y 4 %, respectivamente; preparados con SB (SB 1X buffer: 200mM NaOH, pH 8.0 y ácido bórico) y se utilizó como agente intercalante GelRed (Biotium, Hayward, CA). En el primer carril del gel se colocó un marcador de ADN de peso molecular conocido (Molecular Weight Marker, DNA 100 bp Ladder, AMRESCO (R) y un control negativo (agua) y positivo (ADN de un individuo de la cepa susceptible NO). Posteriormente, se visualizaron y fotografiaron los resultados bajo luz UV en un transluminador UVTec Cambridge.

6.4.2.3. Análisis de resultados

Se determinaron los genotipos para cada una de las mutaciones en las poblaciones de *Ae. aegypti* de Apodaca, Guadalupe y Monterrey. Las frecuencias alélicas se estimaron con un intervalo de confianza del 95%. Para su cálculo, se utilizó la fórmula:

$$\text{Frecuencia alélica} = \frac{(n \text{ heterocigotos}) + (2 \times n \text{ homocigotos})}{2 \times n \text{ individuos analizados}}$$

Para evaluar el equilibrio de Hardy-Weinberg, se utilizó la prueba de chi-cuadrado (χ^2), comparando las frecuencias genotípicas observadas con las esperadas. Además, se calculó el coeficiente de endogamia de Wright (F_{IS}) para cuantificar las desviaciones del equilibrio, mediante la fórmula:

$$F_{IS} = 1 - (\text{heterocigotos observados} / \text{heterocigotos esperados})$$

Se interpretó un exceso de heterocigotos cuando F_{IS} fue menor que 0, y un exceso de homocigotos cuando F_{IS} fue mayor que 0. Finalmente, se analizó la co-ocurrencia de las mutaciones en todas las poblaciones de mosquitos analizadas.

6.5. Efectos de espiromesifeno en componentes bioquímicos en larvas y adultos y efectos esterilizantes en adultos

6.5.1. Bioensayos concentración-respuesta con espiromesifeno en larvas

Los bioensayos con el insecticida espiromesifeno (grado técnico, 98% pureza; Chem Service, West Chester, PA, USA) fueron realizados en las poblaciones de campo y en la cepa susceptible New Orleans para determinar los parámetros concentración-respuesta, se siguió el protocolo de la OMS (WHO 2005). Se utilizaron 25 larvas de 4to estadio tardío (F_1), en 4 repeticiones, las cuales fueron expuestas a diferentes rangos de concentraciones de espiromesifeno, que oscilaron entre 0.01 a 15 mg/L para la cepa susceptible New Orleans y 0.05 a 30 mg/L para las poblaciones de campo, durante 24 h. Se utilizaron controles sin insecticida para cada tratamiento. Posterior de la exposición a espiromesifeno, las larvas fueron lavadas y colocadas en vasos con agua limpia y comida (polvo de proteína de hígado bovino) para monitorear su desarrollo. La mortalidad fue registrada de manera diaria hasta la emergencia de adultos con la finalidad de calcular la inhibición de emergencia (IE). Si la emergencia de adultos en el control era menor al 90%, el bioensayo era descartado y se repetía. Por otro lado, si el porcentaje de emergencia en el control era entre el 91% y 99%, se utilizó la fórmula de Abbot (1925) para su corrección.

Los resultados se sometieron a un análisis probit mediante el programa estadístico PoloPlus® 2.0 (LeOra Software, Berkeley, CA, USA) y se calculó la CL_{50} y CL_{90} para cada población de campo, así como para la cepa susceptible NO. De manera adicional, se calculó la CL_{99} , ya que se utilizó en bioensayos con adultos. También se calculó la razón de resistencia (RR) mediante la división del valor CL_{50} o CL_{90} de las poblaciones de campo sobre el valor CL_{50} o CL_{90} de la cepa NO. Se utilizó el criterio de Mazzari y Georghiou (1995) para establecer la resistencia. Un valor de $RR < 5$ nos indica una población de campo susceptible, mientras que un valor RR entre 5 y 10 nos indica moderada resistencia y un valor $RR > 10$ indica alta resistencia.

6.5.2. Efectos de exposición a dosis subletales de espiromesifeno en larvas

6.5.2.1. Exposición a CL₅₀ de espiromesifeno

Se expusieron 100 larvas de 4to estadio temprano (F₁) de cada una de las poblaciones de campo y la cepa susceptible New Orleans a sus respectivas concentraciones de CL₅₀, previamente calculadas. Se utilizó un grupo control sin insecticida para cada una de las poblaciones. Después de 24 h, las larvas fueron lavadas y transferidas a vasos con agua limpia y alimento. Se recolectaron grupos de larvas a diferentes tiempos: 24 h, 48 h y 72 h, después de la exposición. Esto también se realizó en los grupos control. Se recolectaron un total de 30 larvas para cada tiempo establecido. Las larvas fueron pesadas, medidas y fueron almacenadas a -20°C para análisis posteriores.

6.5.2.2. Efectos en mediciones morfométricas

Las medidas morfométricas se realizaron en los diferentes grupos de larvas recolectados después de la exposición a CL₅₀ de espiromesifeno, así como en los grupos control tanto de las poblaciones de campo como la cepa susceptible NO. El peso se tomó de manera individual utilizando una balanza analítica (Denver Instruments, Bohemia, NY, USA) y se expresó en miligramos (mg). Se midió el ancho del tórax y las medidas obtenidas fueron expresadas en milímetros cúbicos (mm³) para estimar el volumen corporal de cada uno de los individuos. Se utilizó el software ImageJ (Versión 1.53t, National Institute of Health, Bethesda, MD, USA) para estimar las mediciones.

6.5.2.3. Determinación de componentes bioquímicos

Se utilizaron 10 individuos de cada grupo (24 h, 48 h y 72 h), tanto en tratamiento como en los grupos control, de las poblaciones de campo y la cepa susceptible NO para evaluar el contenido total de carbohidratos, lípidos y proteínas. Se adaptó la metodología de Foray et al. (2012), que combina las técnicas de Van Handel (1985a, 1985b) y Bradford (1976) para determinar el contenido de estos componentes en un solo individuo. El contenido total de carbohidratos se determinó mediante el método de la antrona (Van Handel, 1976), utilizando glucosa como control estándar. El contenido total de lípidos se determinó con el método de vanillina (Van Handel y Day, 1988), empleando aceite extra

virgen como control estándar. La cuantificación de proteínas se realizó mediante la técnica de Bradford (1976), utilizando albúmina de suero bovino (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) como patrón. Los resultados obtenidos para carbohidratos, lípidos y proteínas se expresaron en función del peso de la larva ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de larva), con la finalidad de permitir comparaciones más precisas entre los grupos control y tratamiento, considerando las reducciones en peso y volumen corporal de las larvas.

6.5.2.4. Determinación de actividad de catalasa (CAT) y niveles de malondialdehído (MDA)

Se utilizaron 10 individuos de larvas de cada grupo recolectado (24 h, 48 h y 72 h) tanto en tratamientos como grupo control de las poblaciones de campo y la cepa susceptible NO para evaluar la actividad catalasa (CAT) mediante métodos espectrofotométricos. Las larvas fueron homogenizadas en buffer de fosfatos (0.1 M, pH 7.4) y se agregó peróxido de hidrógeno (H_2O_2) para iniciar la reacción enzimática del homogenato. La actividad catalasa fue medida a 240 nm y el decremento de la actividad se relacionó con la descomposición de H_2O_2 . La actividad enzimática se expresó en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

Para cuantificar los niveles de malondialdehído (MDA) se recolectaron 10 individuos de cada grupo, tanto tratamiento como grupo control (24 h, 48 h y 72 h) de cada una de las poblaciones de campo, así como cepa susceptible New Orleans. Se utilizó el método de ácido tiobarbitúrico (TBARS), en donde el MDA reacciona en presencia del ácido tiobarbitúrico y a altas temperaturas se presenta un complejo MDA-TBARS de coloración marrón, la cual es medida a una absorbancia de 532 nm. Los valores de absorbancia fueron medidos utilizando un espectrofotómetro (ASYS Hitech GmbH, Eugendorf, Austria) y se expresaron en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

6.5.3. Evaluación de propiedades esterilizantes de espiromesifeno en hembras

Se evaluó el efecto del espiromesifeno en la fecundidad de las hembras de *Ae. aegypti* utilizando como base el protocolo de la OMS para evaluar las propiedades esterilizantes de piriproxifen (WHO 2022). Se utilizaron 100 hembras adultas (5 días de edad) de cada una de las poblaciones de campo (Apodaca, Guadalupe y Monterrey) así

como la cepa susceptible NO. Las hembras fueron expuestas a CL₅₀ y CL₉₉ calculadas previamente en los bioensayos con larvas y se utilizó un control impregnado solo con acetona. Las botellas Wheaton® se impregnaron 2 horas previas al bioensayo. Una hora previa al bioensayo las hembras fueron alimentadas con sangre y se mantuvieron en jaulas con suficientes machos para dar oportunidad a la cópula. Una vez transcurrido este período, las hembras se transfirieron a las botellas con la ayuda de un aspirador y fueron expuestas durante 1 hora a CL₅₀ y CL₉₉ de espiromesifeno. Posteriormente, las hembras se pasaron a vasos de recuperación, se les proporcionó un algodón impregnado con una solución de sacarosa al 10% y se mantuvieron a 28 + 1 °C y 70 ±5 HR con fotoperíodos 12:12, L:O durante 72 h, período en el cual se registró la mortalidad cada 24 h. Posterior a las 72 h, las hembras que sobrevivieron fueron transferidas a vasos con agua (30 mL) de manera individual, se les proporciono un algodón con solución de sacarosa al 10%. Los vasos se mantuvieron en las condiciones previamente descritas durante 4 días, después de los cuales, se registró el número de huevos puestos tanto en los grupos control como tratamiento de cada una de las poblaciones de campo, así como de la cepa susceptible NO.

Se determinó la tasa de ovoposición mediante la proporción de hembras que ovipusieron huevos entre las que sobrevivieron a la exposición de espiromesifeno. Por otro lado, se determinó la inhibición de la ovoposición mediante la comparación de las hembras que ovipusieron en el tratamiento entre las del control. La fecundidad fue medida por el promedio de número de huevos puestos por hembra y la inhibición de la fecundidad (%) se calculó como la reducción en el número de huevos por hembra en los tratamientos, CL₅₀ y CL₉₉, comparando con el control. Se determinó la fertilidad mediante el número de larvas eclosionadas por el número de huevos puestos y la inhibición de la fertilidad por la proporción de huevos eclosionados tanto en grupos control como tratamiento. Adicionalmente, se determinó el contenido total de carbohidratos y lípidos en las hembras expuestas a CL₅₀ y CL₉₉ de espiromesifeno, utilizando la metodología previamente descrita en los bioensayos con larvas. Cada parámetro se analizó en los grupos expuestos a CL₅₀ y CL₉₉, así como en los grupos control.

6.5.4. Determinación de componentes bioquímicos en adultos

Se cuantificó el contenido total de carbohidratos y lípidos en hembras expuestas a las concentraciones CL₅₀ y CL₉₉ de espiromesifeno utilizando la metodología previamente descrita en los bioensayos larvarios. Cada parámetro se analizó en los grupos expuestos a CL₅₀ y CL₉₉, así como en los grupos control.

6.5.4. Análisis de resultados

Los resultados de los bioensayos de concentración–respuesta con espiromesifeno se analizaron mediante regresión probit (PoloPlus 2.0, LeOra Software, Berkeley, CA, USA). Se determinaron las concentraciones letales 50, 90 y 99 (CL₅₀, CL₉₀ y CL₉₉) para cada población, así como para la cepa susceptible NO. La resistencia a espiromesifeno se evaluó mediante la razón de resistencia (RR), calculada dividiendo la CL₅₀ o CL₉₀ de las poblaciones de campo entre la CL₅₀ o CL₉₀ de la cepa susceptible NO. El criterio de Mazzarri y Georghiou (1995) se utilizó para clasificar la resistencia: RR < 5 indica población susceptible; RR entre 5 y 10, resistencia moderada; y RR > 10, alta resistencia.

Los resultados obtenidos para peso, volumen corporal, carbohidratos, lípidos, proteínas y biomarcadores de estrés oxidativo (CAT y MDA) se expresaron como media ± error estándar de la media (SEM) para los grupos control y tratamiento de las poblaciones de campo y la cepa susceptible. Las diferencias significativas entre los grupos expuestos y sus controles en cada punto temporal (24 h, 48 h y 72 h) se evaluaron mediante la prueba de Mann–Whitney U.

Para los bioensayos realizados con hembras adultas, se analizaron mortalidad, tasa de oviposición, fecundidad, fertilidad y contenidos de lípidos y carbohidratos. Estos parámetros se compararon dentro de cada población y la cepa susceptible, entre el control y los grupos expuestos a CL₅₀ y CL₉₉, utilizando la prueba de Kruskal–Wallis seguida de la comparación múltiple de Dunn. El nivel de significancia para todos los análisis fue $\alpha = 0.05$. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software GraphPad Prism v.9 (GraphPad Software, Inc., versión 9.0, La Jolla, CA, USA).

6.6. Susceptibilidad en hembras a indoxacarb, tiametoxam y clorantraniliprol

6.6.1 Bioensayos

Los bioensayos se realizaron siguiendo el protocolo de bioensayo en botella del CDC descrito por Brogdon y McAllister (1998), con modificaciones basadas en observaciones realizadas durante las pruebas, ya que los insecticidas evaluados no se utilizan convencionalmente para el control de mosquitos. Los ensayos se llevaron a cabo utilizando botellas Wheaton® de 250 mL recubiertas con 1 mL de acetona que contenía diluciones seriadas de cada insecticida para generar curvas de concentración–respuesta. Para cada concentración, se realizaron cuatro réplicas y se incluyó un control con acetona. Las botellas se taparon, se agitaron y se colocaron en un rotador de botellas Wheaton® para garantizar la distribución uniforme de la solución insecticida. Posteriormente, las botellas se dejaron secar durante 24 horas en la oscuridad a temperatura ambiente.

Una vez secas, se introdujeron en cada botella 25 hembras adultas no alimentadas de *Ae. aegypti* de cada población previamente caracterizada, utilizando un aspirador manual. Se registró el derribo tras 1 hora de exposición. Luego, los mosquitos se transfirieron a vasos limpios de recuperación y se les proporcionó algodón empapado con solución de sacarosa al 10%. La mortalidad se registró 24 horas después de la exposición.

En el caso del tiametoxam, se realizaron pruebas iniciales utilizando botellas recubiertas con el insecticida diluido en acetona y éster metílico de aceite de colza (MERO) a una concentración de 1500 ppm, como recomienda la OMS para neonicotinoides como el clotianidina, con el fin de prevenir la cristalización y asegurar un recubrimiento adecuado (WHO 2022). Debido a la similitud química entre tiametoxam y clotianidina, se probó este enfoque; sin embargo, los resultados fueron inconsistentes. Por lo tanto, los ensayos posteriores con tiametoxam se realizaron utilizando únicamente acetona, lo cual produjo resultados consistentes y reproducibles.

Los bioensayos se llevaron a cabo utilizando insecticidas de grado técnico de Chem Service (West Chester, PA, USA): indoxacarb (99.5% de pureza), tiametoxam (99.5%) y clorantraniliprol (98%). Los rangos de concentraciones evaluadas fueron los siguientes: para indoxacarb, NO (0.01–3 µg/botella), Guadalupe (0.02–4.5 µg/botella), Apodaca (0.01–5 µg/botella) y Monterrey (0.03–6 µg/botella); para tiametoxam, NO (0.01–3 µg/botella), Guadalupe (0.01–5.1 µg/botella), Apodaca (0.03–4.5 µg/botella) y

Monterrey (0.02–4.8 µg/botella); y para clorantraniliprol, NO (0.01–3 µg/botella), Guadalupe (0.05–4.8 µg/botella), Apodaca (0.01–5.2 µg/botella) y Monterrey (0.03–5.8 µg/botella).

6.6.2. Análisis de resultados

Los datos de concentración–respuesta de los bioensayos se analizaron mediante análisis probit utilizando PoloPlus® versión 2.0 (LeOra Software, Berkeley, CA, USA) para estimar las CL_{50} y CL_{90} de cada insecticida en las poblaciones de campo y en la cepa susceptible NO. Se calcularon intervalos de confianza al 95% (IC 95%) para cada estimación. Las diferencias entre los valores de CL_{50} y CL_{90} entre las poblaciones de campo y con la cepa de referencia se consideraron significativas cuando sus intervalos de confianza no se solaparon.

Se calcularon las razones de resistencia (RR_{50} y RR_{90}) dividiendo la CL_{50} o la CL_{90} de cada población de campo entre el valor correspondiente de la cepa New Orleans. Para interpretar los niveles de resistencia se utilizó la clasificación propuesta por Mazzarri y Georghiou (1995): $RR < 5$ indica susceptibilidad, RR entre 5 y 10 indica resistencia moderada y $RR > 10$ indica alta resistencia.

7. RESULTADOS

7.1. Susceptibilidad a insecticidas convencionales

7.1.1. Susceptibilidad a temefos

Las tres poblaciones de campo de *Ae. aegypti* mostraron alta frecuencia de resistencia al ser expuestas a la dosis diagnóstica (DD) de 0.012 mg/L de temefos, con rangos de mortalidad del 10% a 68%. Por otro lado, al evaluar la intensidad de resistencia, las tres poblaciones de campo mostraron moderada intensidad de resistencia al obtener rangos de mortalidad del 92% al 94% cuando fueron expuestas a 5X DD (0.6 mg/L) y 10X DD (0.12 mg/L) (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia e intensidad de resistencia a dosis diagnóstico de temefos (0.012 mg/L), 5 veces DD (5X: 0.6 mg/L) y 10 veces DD (10X: 0.12 mg/L) en poblaciones larvarias de *Ae. aegypti* del estado de Nuevo León.

Cepa/Población	N	Mortalidad (%)			Estatus	Intensidad de Resistencia
		DD	5X	10X		
New Orleans	300	100	100	100	Susceptible	Susceptible
Guadalupe	300	68	94	100	Resistente	Moderada
Apodaca	300	10	94	100	Resistente	Moderada
Monterrey	300	36	92	100	Resistente	Moderada

7.1.2. Susceptibilidad a permetrina y deltametrina

Las tres poblaciones de campo de *Ae. aegypti* mostraron resistencia al ser expuestas a las dosis diagnóstico de permetrina (15 µg/botella) y deltametrina (10 µg/botella) al obtener rangos de mortalidad de 1 al 14% y 8 al 12%, respectivamente. (Tabla 4).

Tabla 4. Mortalidad de hembras de *Ae. aegypti* expuestas a dosis diagnóstico de permetrina (43 µg/botella) y deltametrina (15 µg/botella) del estado de Nuevo León.

Localidad	Generación	n	Mortalidad DD (%)		Interpretación
			Permetrina	Deltametrina	
Guadalupe		100	79	96	Resistente

Apodaca	F ₀		71	84	Resistente
Monterrey			68	88	Resistente
New Orleans	-	100	100	100	Susceptible

7.2. Caracterización de mecanismos de resistencia

7.2.1. Enzimas detoxificantes

7.2.1.1 Actividad de enzimas detoxificantes en larvas

En la Tabla 5 se presentan los promedios (promedio $\pm$ desviación estándar) de actividad enzimática para α -esterasas, β -esterasas, monooxigenasas de función múltiple (OFM) y glutatión S-transferasas (GST) en larvas de *Ae. aegypti* de las poblaciones de campo y la cepa susceptible NO. El percentil 99 (p99) de la cepa de referencia se utilizó como umbral, y el porcentaje de individuos que lo superaron se empleó para clasificar la actividad enzimática según el criterio de Montella et al. (2007).

Las α -esterasas mostraron promedios de actividad similares en todas las poblaciones de campo respecto a la cepa susceptible, con porcentajes por encima del p99 menores al 15%, clasificándose como no alteradas. Para las β -esterasas, la población de Guadalupe presentó un incremento significativo en la actividad media ($p < 0.05$) y un 20% de individuos por encima del p99, clasificándose como incipientemente alterada, mientras que las otras poblaciones se mantuvieron en el rango de no alteradas.

Las OFM mostraron incrementos en los promedios de actividad en las poblaciones de campo respecto a la cepa susceptible NO. Sin embargo, estos promedios no fueron significativamente diferentes ($p > 0.05$) y los porcentajes de individuos por encima del p99 fueron menores al 15% en las poblaciones de Guadalupe y Monterrey, por lo que se clasificaron como no alteradas. Solo la población de Apodaca presentó un promedio de actividad mayor ($p < 0.05$) con respecto a la cepa NO con un porcentaje por encima del p99 del 30%, clasificándola como incipientemente alterada.

Respecto a las GSTs, las poblaciones de Guadalupe y Apodaca presentaron incrementos significativos en la actividad media ($p < 0.05$) con porcentajes de individuos por encima del p99 del 53% y 60%, respectivamente, clasificándose como alteradas. La población de Monterrey mostró un 20% de individuos por encima del p99, lo que corresponde a una alteración incipiente.

Finalmente, se evaluó la actividad media de la acetilcolinesterasa (AChEI) en las poblaciones de campo. Para las poblaciones de Guadalupe y Apodaca los porcentajes de actividad fueron mayores significativamente con respecto a la cepa susceptible ($p < 0.05$). De acuerdo con el criterio de Montella et al. (2007), la población de Guadalupe presentó una alteración de la actividad de la AChEI con un 80% de individuos por encima del p99. En la población de Apodaca, el 43% de los individuos superó el p99, clasificándose como incipientemente alterada, mientras que, en Monterrey, con un 28%, también se observó una alteración incipiente.

7.2.1.2. Actividad de enzimas detoxificantes en adultos

En la Tabla 6 se presentan los promedios de actividad enzimática (media $\pm$ desviación estándar) en hembras adultas de *Ae. aegypti* de las poblaciones de campo y la cepa susceptible NO. En cuanto a las α -esterasas y β -esterasas, todas las poblaciones mostraron porcentajes de individuos por encima del p99 menores al 15%, clasificándose como no alteradas. Para las OFM, las poblaciones de Apodaca y Monterrey presentaron promedios de actividad enzimática significativamente mayores en comparación con la cepa susceptible ($p < 0.05$), con porcentajes de individuos por encima del p99 del 2% y 8%, respectivamente. Estos porcentajes permanecieron por debajo del 15%, por lo que ambas poblaciones se clasificaron como no alteradas.

Respecto a las GSTs, la población de Apodaca fue la única que presentó diferencias significativas en la actividad enzimática ($p < 0.05$) y un porcentaje de 8% de individuos sobre p99, clasificándose también como no alterada. En general, los resultados sugieren que las poblaciones de campo no presentan alteraciones relevantes en la actividad de estas enzimas en hembras adultas expuestas a piretroides, aunque existen diferencias significativas en la actividad media de OFM y GST en algunas poblaciones.

Tabla 5. Actividad enzimática promedio ($\pm$ DE) de larvas de *Ae. aegypti* de la cepa susceptible New Orleans y poblaciones del estado de Nuevo León.

Cepa/Población	n	α -esterasas (nmol/mg ptn/min)		n	β -esterasas (nmol/mg ptn/min)		n	OFM (nmol/mg ptn/min)		n	GST (nmol/mg ptn/min)		AChEI % remanente	
		Mean+SD	p99 ²		Mean+SD	p99		Mean+SD	p99		Mean+SD	p99	% remanente	p99
New Orleans ¹	30	2.92 $\pm$ 0.37	3.79	30	3.58 $\pm$ 0.49	4.66	30	133.03 $\pm$ 15.79	158.76	30	0.015 $\pm$ 0.0034	0.019	39.72 $\pm$ 22.24	43.52
			%>p99 ³			%>p99			%>p99			%>p99		%>p99
Guadalupe	30	3.34 $\pm$ 0.77	13	30	4.37 $\pm$ 1.18*	20	30	137.20 $\pm$ 19.51	13	30	0.027 $\pm$ 0.0315*	53	79.74 $\pm$ 38.1*	80
Apodaca	30	3.22 $\pm$ 0.47	14	30	4.00 $\pm$ 0.58	10	30	144.20 $\pm$ 22.11 *	30	30	0.022 $\pm$ 0.0076*	60	58.91 $\pm$ 36.65*	43
Monterrey	30	3.17 $\pm$ 0.64	12	30	3.75 $\pm$ 0.59	7	30	138.40 $\pm$ 17.91	10	30	0.015 $\pm$ 0.0038	20	45.74 $\pm$ 116.00	28

¹New Orleans: cepa susceptible de referencia; ²p99: percentil 99 de la cepa de referencia; ³%>p99: porcentaje de individuos por debajo del percentil 99 de la cepa de referencia, valores clasificados como alterados (>50%) están en negritas (Montella *et al.* 2017). * $p < 0.05$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn).

Tabla 6. Actividad enzimática promedio ($\pm$ DE) de hembras de *Ae. aegypti* de la cepa susceptible New Orleans y poblaciones del estado de Nuevo León.

Cepa/Población	n	α -esterasas (nmol/mg ptn/min)		n	β -esterasas (nmol/mg ptn/min)		n	OFM (nmol/mg ptn/min)		n	GST (nmol/mg ptn/min)	
		Mean+SD	p99 ²		Mean+SD	p99		Mean+SD	p99		Mean+SD	p99
New Orleans ¹	30	3.18 $\pm$ 0.41	3.97	30	3.62 $\pm$ 0.50	4.65	30	156.60 $\pm$ 42.52	264.80	30	0.021 $\pm$ 0.011	0.047
			%>p99 ³			%>p99			%>p99			%>p99
Guadalupe	30	3.44 $\pm$ 0.47	5	30	3.75 $\pm$ 0.45	0	30	183.20 $\pm$ 34.8	1	30	0.036 $\pm$ 0.026	9
Apodaca	30	3.40 $\pm$ 0.48	4	30	3.72 $\pm$ 0.70	5	30	194.40 $\pm$ 38.09*	2	30	0.042 $\pm$ 0.027*	8
Monterrey	30	3.50 $\pm$ 0.41	3	30	3.93 $\pm$ 0.78	8	30	224.02 $\pm$ 56.37*	8	30	0.035 $\pm$ 0.028	5

¹New Orleans: cepa susceptible de referencia; ²p99: percentil 99 de la cepa de referencia; ³%>p99: porcentaje de individuos por debajo del percentil 99 de la cepa de referencia, valores clasificados como alterados (>50%) están en negritas (Montella *et al.* 2017). * $p < 0.05$, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn).

7.2.2. Mutaciones kdr

7.2.2.1. Frecuencias alélicas y genotípicas en las poblaciones de campo

En la Tabla 7 se presentan las frecuencias genotípicas y alélicas de las mutaciones V410L, V1016I y F1534C en hembras adultas de *Ae. aegypti* de Guadalupe, Apodaca y Monterrey. Para la mutación V410L, la frecuencia alélica más alta se encontró en Apodaca (0.58; IC 95%: 0.41–0.74) y la más baja en Guadalupe (0.43; IC 95%: 0.27–0.61). El análisis de equilibrio Hardy-Weinberg reveló desviación significativa únicamente en Monterrey ($p = 0.0233$), mientras que las demás poblaciones se mantuvieron en equilibrio (Guadalupe $p = 0.7851$, Apodaca $p = 0.0972$).

Respecto a la mutación V1016I, Apodaca y Monterrey presentaron frecuencias alélicas muy altas (0.98 y 0.95, respectivamente), mientras que Guadalupe tuvo un valor menor (0.75; IC 95%: 0.57–0.87). Solo la población de Guadalupe mostró desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg ($p = 0.0385$).

En el caso de la mutación F1534C, la población de Apodaca mostró fijación del alelo mutado, con una frecuencia alélica de 1.00 y sin variabilidad genotípica (todos los individuos homocigotos CC). La población de Guadalupe presentó una frecuencia alélica alta de 0.97 (IC 95%: 0.83–0.99) y la de Monterrey una frecuencia de 0.93 (IC 95%: 0.97–0.98), indicando también una alta frecuencia del alelo mutado en ambas poblaciones, aunque sin llegar a la fijación observada en Apodaca.

En estas poblaciones, se registraron valores de F_{IS} de 1.00 en Guadalupe y Monterrey, lo que refleja un exceso de homocigotos. Además, la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg mostró desviación significativa en las tres poblaciones ($p = 0.00$), indicando una falta de equilibrio para este locus.

Tabla 7. Frecuencias genotípicas y alélicas de las mutaciones kdr V410L, V1016I y F1534C en poblaciones de *Ae. aegypti* de Nuevo León.

Población	N	VV	VL	LL	L410 Freq (95% CI)	F_{IS}	X^2 Hardy Weinberg	p -value
Guadalupe	30	0.33	0.47	0.20	0.43 (0.27-0.61)	0.050	0.074	0.7851
Apodaca	30	0.10	0.63	0.27	0.58 (0.41-0.74)	-0.303	2.752	0.0972
Monterrey	30	0.10	0.70	0.20	0.55 (0.38-0.71)	-0.414	5.147	0.0233
	N	VV	VI	II	I1016 Freq (95%CI)	F_{IS}	X^2 Hardy Weinberg	p -value
Guadalupe	30	0.13	0.23	0.63	0.75 (0.57-0.87)	0.378	4.281	0.0385
Apodaca	30	0.00	0.03	0.97	0.98 (0.86-1.00)	-0.017	0.009	0.9260
Monterrey	30	0.00	0.10	0.90	0.95 (0.81-0.99)	-0.053	0.083	0.7731
	N	FF	FC	CC	C1534 Freq (95% CI)	F_{IS}	X^2 Hardy Weinberg	p -value

Guadalupe	30	0.03	0.00	0.97	0.97 (0.83-0.99)	1.00	30.00	0.00
Apodaca	30	0.00	0.00	1.00	1.00 (0.89-1.00)	-	-	-
Monterrey	30	0.07	0.00	0.93	0.93 (0.97-0.98)	1.00	30.00	0.00

Los valores cercanos a cero ($|F_{IS}| < 0.02$) se interpretaron como indicativos de equilibrio, a menos que se observara una desviación estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

7.2.2.2. Co-ocurrencia de mutaciones kdr en las poblaciones de campo

En total, se identificaron diez genotipos multilocus derivados de las combinaciones de las mutaciones kdr V410L, V1016I y F1534C en las poblaciones de *Ae. aegypti* de Apodaca, Guadalupe y Monterrey. La combinación más prevalente en las tres poblaciones fue VL/II/CC, con frecuencias de 0.63 en Apodaca y Monterrey, y de 0.30 en Guadalupe. El genotipo triple resistente (LL/II/CC) también fue frecuente en Apodaca (0.27) y menos común en Guadalupe y Monterrey (0.13 y 0.10, respectivamente). La combinación VV/II/CC se encontró en frecuencias menores 0.20 en Guadalupe y 0.10 en Apodaca y Monterrey. El genotipo LL/VI/CC estuvo presente en Guadalupe (0.07) y Monterrey (0.10). El resto de los genotipos (VV/VI/FF, LL/VI/CC, VV/VV/CC, VL/VV/CC, VL/VI/CC, VV/VI/CC) fueron detectados únicamente la población de Guadalupe y el genotipo VL/II/FF en la población de Monterrey.

La población de Guadalupe presentó la mayor diversidad de genotipos, con un total de nueve combinaciones, seguida por Monterrey con cinco y Apodaca con solo tres genotipos (Figura 1).

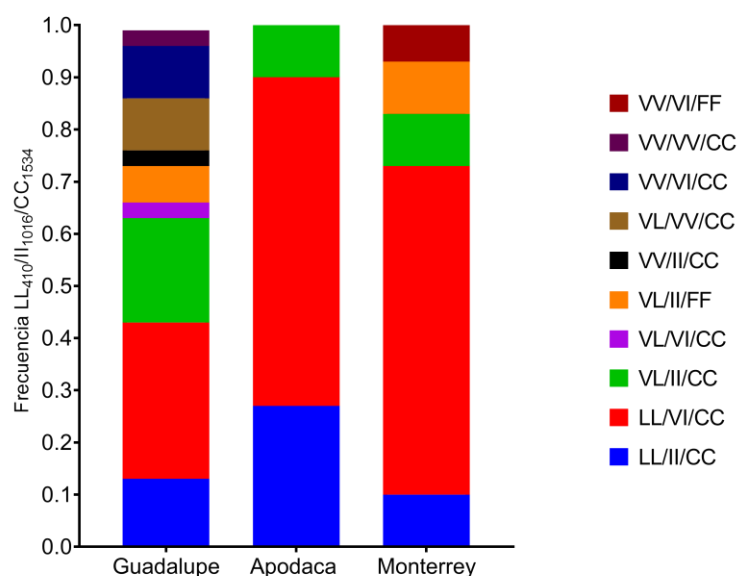


Figura 1. Frecuencia de genotipos multilocus en poblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Nuevo León.

7.3 Evaluación del espiromesifeno en larvas y en adultos

7.3.1. Parámetros concentración-respuesta y cálculo de razón de resistencia (RR) en larvas

La relación concentración-respuesta para espiromesifeno en larvas recién mudadas de cuarto estadio se determinó tanto para las poblaciones de campo como para la cepa susceptible NO. La mortalidad (inhibición de emergencia) se registró hasta la emergencia adulta. El valor de CL_{50} para la población de Monterrey (4.02 mg/L) fue significativamente mayor en comparación con el valor de la población de Guadalupe (1.81 mg/L); sin embargo, no difirió del valor de CL_{50} de la población de Apodaca (3.41 mg/L) ni de la cepa susceptible NO (1.12 mg/L). Con respecto a los valores de CL_{90} , ninguna población difirió significativamente de la cepa NO (48.60 mg/L) ($p < 0.05$). Las razones de resistencia indicaron que las poblaciones de Guadalupe, Apodaca y Monterrey fueron susceptibles a espiromesifeno, con valores de RR_{50} y RR_{90} menores a 5 (Tabla 8).

Tabla 8. Concentraciones letales (CL_{50} y CL_{90}) en mg/L y valores de razón de resistencia (RR) en larvas de *Ae. aegypti* expuestas a espiromesifeno.

Parámetro/Población	New Orleans	Guadalupe	Apodaca	Monterrey
N ¹	1100	1300	1300	1500
CL ₅₀ (IC) ²	1.12 (0.42-2.75)ab	1.81 (1.211-2.54)a	3.41 (1.89-5.62)ab	4.02 (2.69-5.89)b
CL ₉₀ (IC) ²	48.60 (14.43-509.66)a	17.59 (11.31-32.92)a	63.65 (29.92-239.45)a	39.534 (22.67-93.46)a
Pendiente±EE	0.783(0.043)	1.297(0.064)	1.008(0.057)	1.291(0.061)
X ² (df)	82.13 (9)	47.39 (11)	71.01 (11)	83.56 (13)
p	6.09×10^{-14}	1.83×10^{-6}	7.85×10^{-11}	2.35×10^{-12}
RR ₅₀ ³	-	1.49	2.82	3.31
RR ₉₀ ³	-	0.36	1.3	0.81

¹Número de larvas evaluadas.

²LC₅₀, LC₉₀, and LC₉₉ representan las concentraciones (mg/L) requeridas para matar al 50%, 90% y 99% de las larvas de cuarto estadio, respectivamente; los intervalos de confianza (IC) al 95% se muestran entre paréntesis.

³La RR se calculó como la relación de la LC₅₀ or LC₉₀ de la población de campo/LC₅₀, LC₉₀ de la cepa susceptible New Orleans.

⁴Letras diferentes en las hileras indican diferencias significativas.

7.3.2. Efectos de la exposición a la CL_{50} de espiromesifeno en el peso y volumen corporal de larvas

Las larvas de *Ae. aegypti* exhibieron efectos diferenciales en el peso corporal en tres intervalos de tiempo tras la exposición a la CL_{50} de espiromesifeno. A las 24 horas postexposición, se observó una disminución significativa en el peso corporal únicamente

en la cepa susceptible NO, con una reducción del 20% de 3.29 ± 0.17 mg en el grupo control (C) a 2.63 ± 0.11 mg en el grupo tratado (T) ($p < 0.01$). A las 48 horas, se registró una reducción significativa del peso corporal en todas las poblaciones. La mayor reducción se observó en la cepa susceptible NO, con una disminución del 27% de 3.53 ± 0.08 mg (C) a 2.58 ± 0.13 mg (T) ($p = 0.0001$). Le siguieron la población de Apodaca con una reducción del 19% (2.57 ± 0.09 mg C a 2.08 ± 0.14 mg T) ($p < 0.05$), la población de Monterrey con una reducción del 17% (1.95 ± 0.01 mg C a 1.61 ± 0.08 mg T) ($p = 0.0001$) y la población de Guadalupe con una reducción del 16% (1.95 ± 0.01 mg C a 1.63 ± 0.07 mg T) ($p = 0.0001$) (Figura 2). Estos resultados sugieren que el espiromesifeno redujo efectivamente el peso larval en la cepa susceptible a corto plazo, con un efecto pronunciado a las 48 horas en las poblaciones de campo.

La exposición a espiromesifeno también provocó una reducción significativa en el volumen corporal. A las 24 horas, la población de Monterrey presentó una reducción del 25% en el volumen corporal (2.6 ± 0.13 mm³ C a 1.96 ± 0.19 mm³ T) ($p < 0.05$) y la cepa susceptible NO mostró una reducción del 10% (0.92 ± 0.01 mm³ C a 0.83 ± 0.02 mm³ T) ($p < 0.0001$). A las 48 horas, se observaron reducciones significativas en todas las poblaciones: una reducción del 15% en la cepa NO (0.99 ± 0.03 mm³ C a 0.83 ± 0.01 mm³ T) ($p < 0.0001$), del 26% en la población de Apodaca (2.27 ± 0.17 mm³ C a 1.67 ± 0.15 mm³ T) ($p < 0.05$), del 26% en la población de Guadalupe (1.44 ± 0.11 mm³ C a 1.06 ± 0.12 mm³ T) ($p < 0.05$) y del 19% en la población de Monterrey (2.95 ± 0.17 mm³ C a 2.39 ± 0.14 mm³ T) ($p < 0.05$). A las 72 horas, el efecto persistió en la cepa susceptible con una reducción del 23% en el volumen corporal (1.18 ± 0.07 mm³ C a 0.91 ± 0.01 mm³ T) ($p < 0.0001$) y en la población de Apodaca con una reducción del 37% (2.45 ± 0.15 mm³ C a 1.54 ± 0.08 mm³ T) ($p < 0.0001$) (Figura 3; Figura 4).

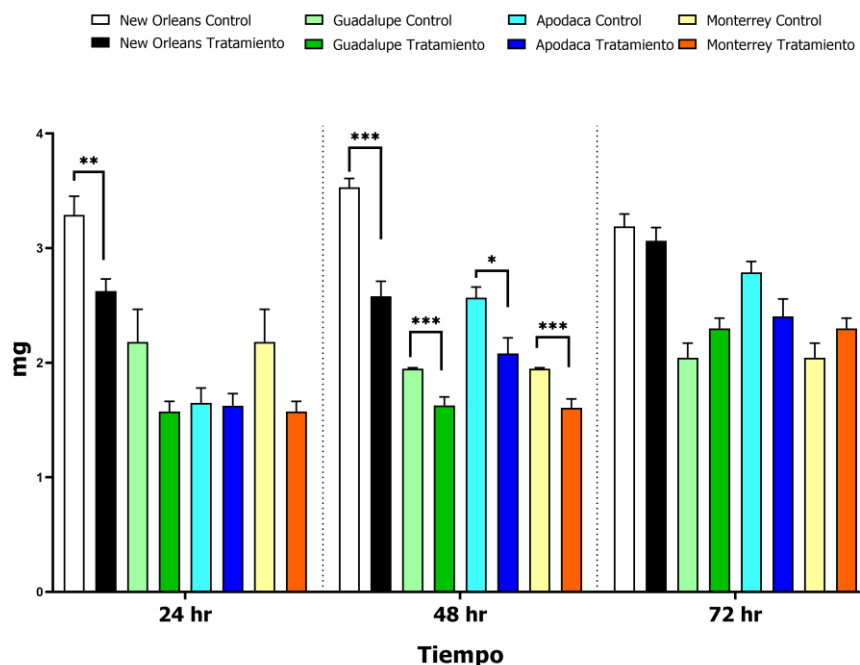


Figura 2. Efecto de la exposición a la CL_{50} de espiromesifeno en peso corporal (mg) de larvas de cuarto estadio de *Ae. aegypti* a lo largo del tiempo (media $\pm$ error estándar de la media; **p < 0.01, ***p < 0.001, ****p < 0.0001; prueba U de Mann-Whitney).

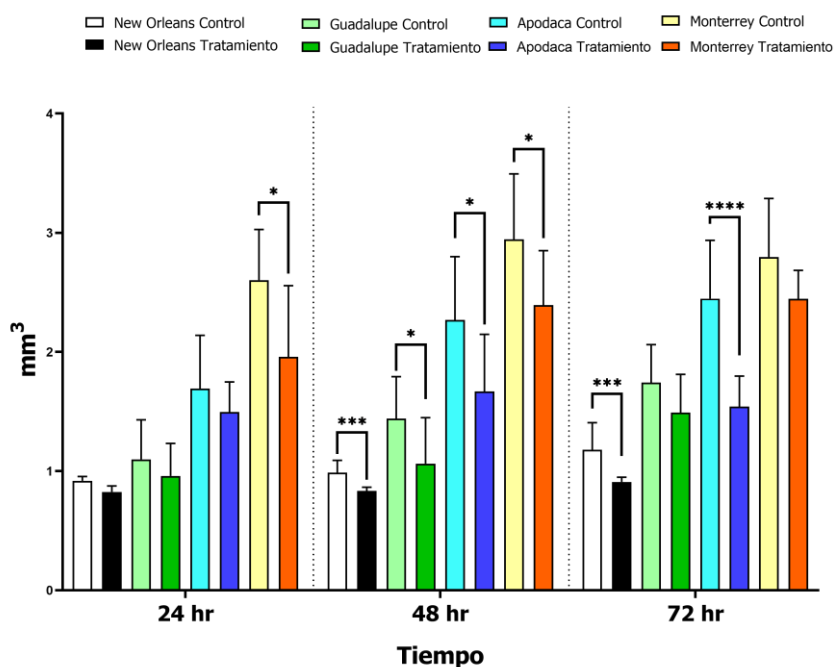


Figura 3. Efecto de la exposición a la CL_{50} de espiromesifeno en el volumen corporal (mm^3) de larvas de cuarto estadio de *Ae. aegypti* a lo largo del tiempo (media $\pm$ error estándar de la media; **p < 0.01, ***p < 0.001, ****p < 0.0001; prueba U de Mann-Whitney).

En la figura 3 se muestra los efectos de la exposición a la CL_{50} de espiromesifeno sobre la morfología de larvas de cuarto estadio temprano de *Ae. aegypti* en cuatro

poblaciones (New Orleans, Apodaca, Guadalupe y Monterrey) en diferentes tiempos de exposición (24, 48 y 72 horas). Cada par de imágenes presenta larvas control (izquierda) y tratadas (derecha). En general, las larvas tratadas exhiben reducciones en tamaño y volumen corporal, con una coloración más oscura y opaca en comparación con los controles. En la población susceptible New Orleans, estos cambios son evidentes desde las primeras 24 horas, mientras que, en las poblaciones de campo, las diferencias se acentúan a las 48 y 72 horas.

Las mediciones de longitud incluidas en las imágenes muestran una reducción en la longitud corporal en las larvas tratadas en comparación con las larvas control en la mayoría de los casos.



Figura 4. Efectos de espiromesifeno (CL50) en morfología en larvas 4to estadio temprano de New Orleans: control y tratamiento: 24 hrs. (1A, 1B), 48 hrs. (1C y 1D) y 72 hrs. (1E y 1F); Apodaca: control y tratamiento: 24 hr. (2A, 2B), 48 hr. (2C, 2D) y 72 hr. (2E, 2F); Guadalupe: control y tratamiento: 24 hr. (3A, 3B), 48 hr. (3C, 3D) y 72 hr. (3E, 3F); Monterrey: control y tratamiento: 24 hr. (4A, 4B), 48 hr. (4C, 4D) y 72 hr. (4E, 4F).

7.3.3. Efecto de espiromesifeno en la composición química de las larvas

Se evaluaron los efectos de espiromesifeno en la composición bioquímica de las larvas recién mudadas de cuarto estadio de *Ae. aegypti*, analizando el contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas en las larvas expuestas a la CL₅₀ en poblaciones de campo y en la cepa susceptible NO.

Respecto al contenido total de carbohidratos, se observó una reducción significativa en la cepa NO y en las poblaciones de Apodaca y Monterrey a las 24 horas en comparación con los grupos control. La mayor reducción en el contenido de carbohidratos se registró en la población de Apodaca, con una disminución del 56% respecto a su control ($p < 0.0001$), seguida por la población de Monterrey con una reducción del 40%, y la población de Guadalupe y la cepa NO con reducciones del 27% ($p < 0.01$). A las 48 horas, este efecto solo fue evidente en la cepa susceptible, mostrando una reducción del 29% en comparación con el control ($p < 0.01$). A las 72 horas, el efecto fue evidente tanto en la cepa NO como en la población de Monterrey, con reducciones del contenido de carbohidratos de 46% y 13%, respectivamente, comparado con sus controles ($p < 0.05$) (Tabla 10). En cuanto a los lípidos, se observó una reducción significativa en el contenido en las larvas de la población de Apodaca a las 24 horas ($p < 0.05$). A las 48 horas, este efecto fue evidente en todas las poblaciones y en la cepa NO en comparación con sus controles. La mayor reducción en el contenido de lípidos se registró en la población de Apodaca, con una disminución del 65% ($p < 0.0001$), seguida por Monterrey con una reducción del 34% ($p < 0.05$), la cepa NO con una disminución del 26% ($p < 0.001$), y la población de Guadalupe con una reducción del 23% ($p < 0.05$). La reducción significativa continuó a las 72 horas, con disminuciones del 39% para la cepa NO ($p < 0.05$), 29% para la población de Apodaca ($p < 0.001$), y 24% para la población de Monterrey ($p < 0.005$) (Tabla 9). La reducción en el contenido total de proteínas se hizo evidente a las 72 horas en todas las poblaciones, excepto en la cepa NO, en comparación con sus respectivos controles. La magnitud de la reducción fue la misma para las poblaciones de Guadalupe y Apodaca, con un 23% ($p < 0.01$), mientras que la población de Monterrey mostró una reducción menor, del 15% ($p < 0.05$) (Tabla 9).

Tabla 9. Efectos de la exposición a la CL₅₀ de espiromesifeno en el contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas (µg/mg de larva) en larvas de cuarto estadio de *Ae. aegypti* a lo largo del tiempo (media ± error estándar de la media).

Componente bioquímico	New Orleans Control	New Orleans CL ₅₀	Guadalupe Control	Guadalupe CL ₅₀	Apodaca Control	Apodaca CL ₅₀	Monterrey Control	Monterrey CL ₅₀
Carbohidratos								
24 hr ¹	27.23±2.08	19.75±1.22 ^{2**}	34.66±5.04	22.80±2.26	48.37±3.90	21.16±3.17 ^{****}	23.20±1.47	13.85±1.74 ^{**}
48 hr	23.80±1.18	16.93±1.39 ^{**}	43.59±2.13	45.51±5.18	30.61±2.13	30.58±2.28	11.28±0.81	12.29±0.98
72 hr	28.54±3.79	15.40±1.11 ^{**}	61.24±8.11	50.09±6.98	27.08±2.07	21.63±1.60	15.11±0.70	13.13±0.55 [*]
Lípidos								
24 hr	29.11±3.13	25.10±2.40	44.01±5.03	46.26±3.36	47.39±4.96	32.10±3.42 [*]	22.43±1.36	24.26±3.29
48 hr	29.01±2.12	21.50±0.93 ^{***}	71.46±3.91	54.69±4.73 [*]	39.89±2.57	14.10±1.34 ^{****}	9.51±0.87	6.26±0.67 [*]
72 hr	24.43±3.16	14.90±0.86 [*]	53.58±6.81	44.77±5.08	15.84±0.72	11.19±0.78 ^{***}	12.80±0.64	9.68±0.56 ^{**}
Proteínas								
24 hr	69.20±6.37	78.36±5.23	137.10±16.49	168.10±13.00	162.10±13.01	143.60±15.62	85.99±4.16	106.10±14.00
48 hr	58.10±2.70	73.36±2.81 ^{**}	127.10±3.09	147.00±9.28	102.50±5.40	99.08±5.40	46.82±3.48	52.01±4.48
72 hr	58.28±5.18	44.73±1.77	136.90±12.35	104.80±3.12 ^{**}	66.09±2.32	50.79±1.66 ^{****}	61.71±2.88	52.19±2.31 [*]

¹Tiempo de evaluación de los contenidos bioquímicos tras la exposición a espiromesifeno.

²Prueba U de Mann-Whitney entre los grupos control y tratados para cada cepa/población de forma independiente en cada momento tras 24 h de exposición: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, ****p < 0.0001.

7.3.4. Efectos de espiromesifeno en los biomarcadores de estrés oxidativo en larvas

La exposición a espiromesifeno incrementó significativamente los niveles de MDA a las 48 horas en todas las poblaciones y en la cepa susceptible NO en comparación con los grupos control. La cepa NO mostró un aumento del 113% en los niveles de MDA, mientras que las demás poblaciones exhibieron incrementos entre el 64% y el 66%. Este efecto se registró únicamente a las 24 horas para la cepa NO y persistió a las 72 horas exclusivamente en esta cepa ($p < 0.0001$) (Figura 5).

El espiromesifeno también indujo un aumento significativo en la actividad de la catalasa (CAT), a partir de las 24 horas, con un incremento del 9.6% observado únicamente en la cepa susceptible NO ($p < 0.05$). Este efecto se generalizó en la cepa susceptible y en todas las poblaciones de campo a las 48 horas, con aumentos que oscilaron entre el 21% y el 30% ($p < 0.001$). El aumento en la actividad de CAT persistió a las 72 horas en todas las poblaciones, con un incremento del 32% en la población de Guadalupe, un 26% en la cepa susceptible, y aumentos del 18% y 6% en las poblaciones de Apodaca y Monterrey, respectivamente, en comparación con sus controles ($p < 0.01$) (Figura 6). Estos resultados confirman que espiromesifeno ejerce su mayor efecto sobre los biomarcadores de estrés oxidativo a partir de las 48 horas.

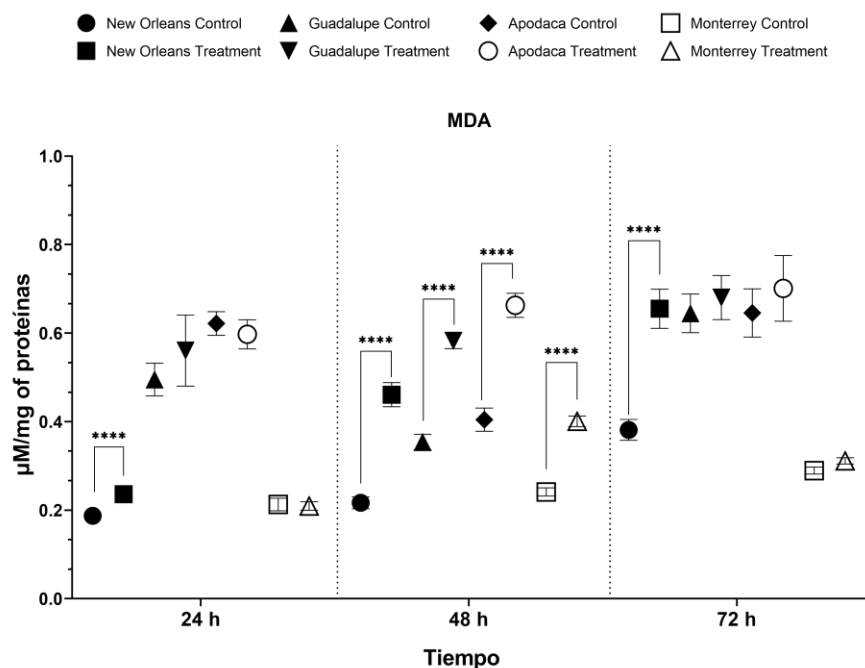


Figura 5. Variación temporal de malondialdehído (MDA) en larvas de cuarto estadio de *Ae. aegypti* expuestas a la CL_{50} de espiromesifeno (media $\pm$ error estándar de la media; ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$; prueba U de Mann-Whitney).

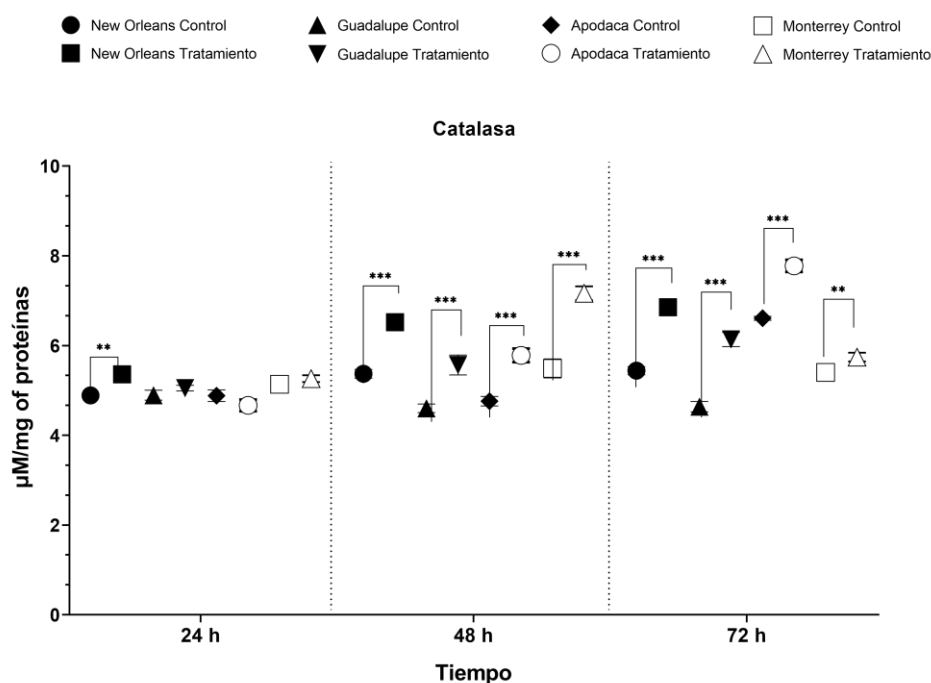


Figura 6. Variación temporal de la actividad de la catalasa (CAT) en larvas de cuarto estadio de *Ae. aegypti* expuestas a la CL₅₀ de espiromesifeno (media $\pm$ error estándar; prueba U de Mann-Whitney, **p < 0.01, ***p < 0.001, p < 0.0001).

7.3.5. Efectos de espiromesifeno en hembras adultas de *Ae. aegypti*

7.3.5.1. Efectos esterilizantes de espiromesifeno

Los efectos de espiromesifeno sobre la fecundidad y fertilidad de las hembras de *Ae. aegypti* se evaluaron siguiendo el protocolo de la OMS para determinar las propiedades esterilizantes del piriproxifeno (WHO 2022). Se determinó la tasa de oviposición y el porcentaje de inhibición de la oviposición al exponer a las hembras a las concentraciones de CL₅₀ y CL₉₉ obtenidas en los bioensayos larvarios previos. Los resultados detallados de mortalidad, oviposición, fecundidad y fertilidad se presentan en la Tabla 10.

La exposición de hembras de *Ae. aegypti* a la CL₉₉ resultó en niveles de mortalidad significativamente mayores que en el control para la cepa susceptible NO y las poblaciones de campo (p < 0.05). Los valores de CL₉₉ fueron: 1048.30 mg/L para la cepa New Orleans, 112.47 mg/L para la población de Guadalupe, 691.69 mg/L para la población de Apodaca y 254.96 mg/L para la población de Monterrey. No se encontraron diferencias significativas en la mortalidad cuando las hembras fueron expuestas a la CL₅₀ (p > 0.05).

La mayor inhibición de oviposición fue del 66% en las hembras de la población de Monterrey expuestas a la CL₉₉, seguida por un 65% en la cepa susceptible NO, un 53% en la población de Guadalupe y un 51% en la población de Apodaca. La exposición de hembras a la CL₅₀ provocó una reducción en la oviposición del 36% para la cepa susceptible NO y las poblaciones de Apodaca y Monterrey, y solo del 22% en la población de Guadalupe (Tabla 10).

Al evaluar la inhibición de la fecundidad, calculada a partir de las hembras que sobrevivieron a la exposición a espiromesifeno, se observaron efectos significativos tanto en la CL₅₀ como en la CL₉₉ en comparación con el control. La exposición a la CL₅₀ resultó en una inhibición de la fecundidad del 42% en la cepa susceptible NO ($p < 0.01$), del 56% en la población de Guadalupe y del 60% en las poblaciones de Apodaca y Monterrey ($p < 0.0001$). Por otro lado, la exposición a la CL₉₉ indujo una mayor inhibición de la fecundidad que la CL₅₀, alcanzando el 77% en la cepa susceptible NO, y el 78%, 84% y 91% en las poblaciones de Guadalupe, Apodaca y Monterrey, respectivamente ($p < 0.0001$) (Tabla 10, Figura 7).

Cuando se reportó como el número de hembras contribuyendo a la postura de huevos en cada grupo, se observó una reducción significativa en la fecundidad de las hembras expuestas a la CL₅₀ y CL₉₉ en comparación con sus respectivos controles para todas las poblaciones de campo ($p < 0.0001$). Sin embargo, en la cepa susceptible NO no se encontró diferencia ($p > 0.05$) (Tabla 10).

La tasa promedio de eclosión difirió significativamente en los grupos expuestos a la CL₅₀ y la CL₉₉ en comparación con el control para todas las poblaciones y la cepa susceptible ($p < 0.0001$). No se encontraron diferencias significativas en la tasa de eclosión al comparar las dos concentraciones entre todas las poblaciones ($p > 0.05$). La inhibición de la fertilidad osciló entre el 55% y el 68% tras la exposición a la CL₅₀ y entre el 67% y el 79% tras la exposición a la CL₉₉ (Tabla 10, Figura 8).

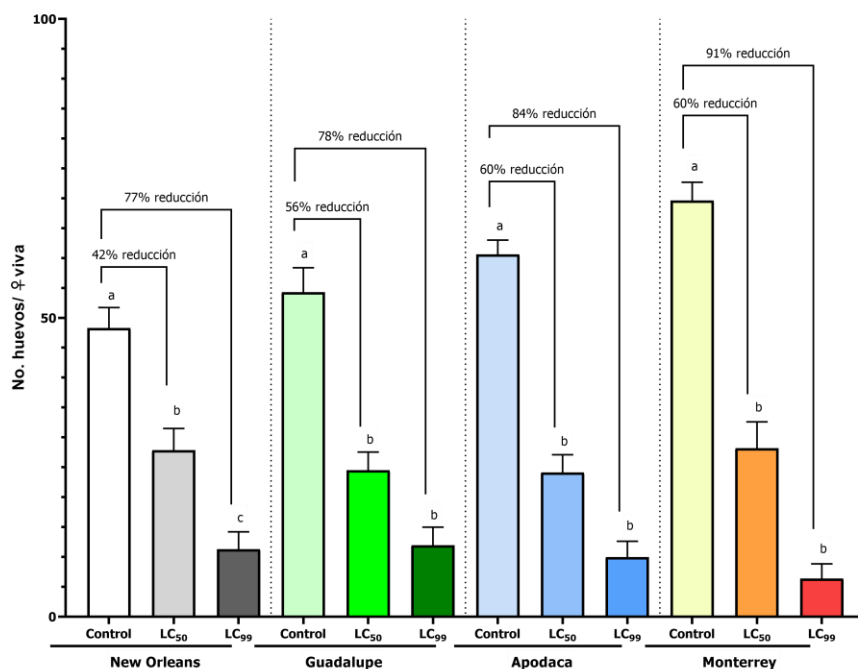


Figura 7. Fecundidad (media $\pm$ error estándar de la media) de hembras de *Ae. aegypti* expuestas a la CL₅₀ y la CL₉₉ de espiromesifeno. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas dentro de cada cepa/población (media $\pm$ error estándar de la media; prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn, $p < 0.05$).

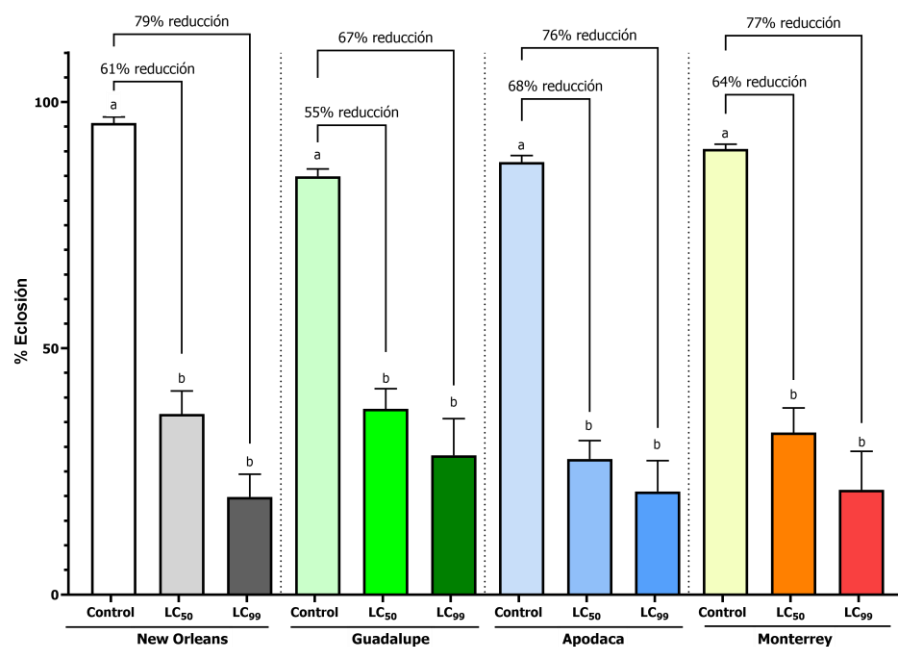


Figura 8. Tasa de eclosión de huevos (media $\pm$ error estándar de la media) de hembras de *Ae. aegypti* expuestas a la CL₅₀ y la CL₉₉ de espiromesifeno. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas dentro de cada cepa/población (media $\pm$ error estándar de la media; prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn, $p < 0.05$).

Tabla 10. Efecto de espiromesifeno en la mortalidad, oviposición, fecundidad y fertilidad de *Ae. aegypti* en una cepa susceptible y tres poblaciones de Nuevo León.

Cepa/Población	New Orleans			Guadalupe			Apodaca			Monterrey		
Tratamiento	Control	CL ₅₀	CL ₉₉	Control	CL ₅₀	CL ₉₉	Control	CL ₅₀	CL ₉₉	Control	CL ₅₀	CL ₉₉
Hembras ♀	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Mortalidad media	4.5±1.2 ¹ a	11.3±2a	15.5±1.6b	4.0±1.3a	9.0±1.2a	17.3±2.7b	3.0±0.7a	10.5±1.8a	18.3±0.9b	3.5±1.3a	15.8±2.8a	19.5±1.7b
% Mortalidad	18	45	62	16	36	69	12	42	73	14	63	78
Hembras vivas	82	55	38	84	64	31	88	58	27	86	37	22
% de ♀ que ovipusieron	91	58	32	82	64	39	98	62	48	93	59	32
% Inhibición de oviposición	NA	36	65	NA	22	53	NA	36	51	NA	36	66
Total de huevos puestos	3959	1530	428	4561	1566	370	5335	1398	269	5986	1042	140
Promedio de huevos puestos (por ♀ que ovipositó)	52.8±3.3a	47.8±3.0a	35.7±3.5a	66.1±3.6a	38.2±3.2b	30.8±3.4b	62.0±2.2a	37.8±2.8b	22.4±3.4b	74.8±2.4a	47.4±3.6b	20.0±4.6b
Fecundidad (huevos/♀ vivas)	48.3±3.4a	27.8±3.7b	11.3±2.9c	54.3±4.1a	24.5±3.1b	11.9±3b	60.6±2.4a	24.1±3.0b	10.0±2.6b	69.6±3.1a	28.2±4.4b	6.4±2.5b
% Inhibición de fecundidad	NA	42	77	NA	55	78	NA	60	84	NA	60	91
Total de huevos eclosionados	3668	593	83	3814	583	95	4657	475	76	5406	366	42
% Promedio de huevos eclosionados	95.7±1.2a	36.7±4.7b	19.9±4.6b	85.0±1.5a	37.7±4.1b	28.3±7.4b	87.8±1.3a	27.5±3.7b	21.0±6.2b	90.5±1.0a	32.9±5.0b	21.3±7.8b
% Inhibición de fertilidad	NA	61	79	NA	55	67	NA	68	76	NA	64	77

¹ Media ± error estándar de la media; letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas entre los grupos control, CL₅₀ y CL₉₉ dentro de cada población o cepa según el análisis de Kruskal-Wallis (p < 0.05).

7.3.5.2. Contenido de carbohidratos y lípidos en hembras expuestas a la CL₅₀ y CL₉₉ de espiromesifeno.

Se evaluaron los efectos de espiromesifeno sobre el contenido de carbohidratos y lípidos en hembras de *Ae. aegypti* expuestas a la CL₅₀ y la CL₉₉ de espiromesifeno. El contenido total de carbohidratos se redujo significativamente cuando las hembras de las poblaciones de Apodaca y Monterrey fueron expuestas a la CL₅₀ de espiromesifeno ($p < 0.05$). Sin embargo, cuando las hembras fueron expuestas a la CL₉₉, la reducción en el contenido de carbohidratos fue significativa para las poblaciones de Apodaca, Monterrey y la cepa susceptible NO ($p < 0.001$), así como para la población de Guadalupe ($p < 0.05$). En contraste con los carbohidratos, el contenido total de lípidos se redujo significativamente en todas las poblaciones ($p < 0.01$) y en la cepa susceptible NO ($p < 0.05$) cuando fueron expuestas a la CL₅₀. Esta reducción también fue significativa para todas las poblaciones y la cepa susceptible cuando las hembras fueron expuestas a la CL₉₉ ($p < 0.001$) (Tabla 11).

Tabla 11. Efectos de la exposición a la CL₅₀ y la CL₉₉ de espiromesifeno en el contenido de carbohidratos y lípidos (μg) en hembras de *Ae. aegypti* de una cepa susceptible y tres poblaciones de Nuevo León (media ± error estándar).

Componente bioquímico	New Orleans	Guadalupe	Apodaca	Monterrey
Carbohidratos				
Control	61.10±2.26a ¹	72.00±2.35a	75.10±3.26a	86.90±2.84a
LC ₅₀	48.10±2.34a	54.60±5.06ab	53.50±5.05b	50.70±3.98b
LC ₉₉	28.20±2.94b	50.50±6.67b	40.90±3.85b	43.50±1.56b
Lípidos				
Control	114.10±5.49a	94.30±9.97a	84.20±3.47a	92.80±5.02a
LC ₅₀	81.60±3.39b	54.10±2.87b	65.60±2.46b	55.50±1.80b
LC ₉₉	48.60±3.98b	46.4±4.86b	59.30±3.18b	49.00±7.63b

¹Letras diferentes indican diferencias significativas dentro de cada cepa/población, prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn entre los grupos control y tratados para cada cepa/población de manera independiente ($p < 0.05$).

7.4. Susceptibilidad en hembras a indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam

7.4.1. Indoxacarb

Los bioensayos realizados en hembras adultas de *Ae. aegypti* expuestas a indoxacarb mostraron que las concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) no presentaron diferencias

significativas entre las poblaciones de campo y la cepa susceptible de referencia (NO), según los intervalos de confianza. Los valores de CL₅₀ oscilaron entre 0.568 y 0.965 µg/botella, mientras que los de CL₉₀ variaron de 3.577 a 8.141 mg/botella (Tabla 12).

Las razones de resistencia (RR₅₀ y RR₉₀) fueron menores a 5 en todas las poblaciones, indicando que las poblaciones se mostraron susceptibles al indoxacarb.

Tabla 12. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) en µg/botella y valores de razón de resistencia (RR) en hembras de *Ae. aegypti* expuestas a indoxacarb.

Parámetro/Población	New Orleans	Guadalupe	Apodaca	Monterrey
N ¹	1300	1600	1500	1700
CL ₅₀ (IC) ²	0.568 (0.413-0.746)a	0.723 (0.556-0.919)a	0.864 (0.598-1.192)a	0.965 (0.715-1.278)a
CL ₉₀ (IC) ²	3.577 (2.457-6.218)a	5.091 (3.597-8.176)a	6.141 (3.899-12.478)a	8.141 (5.329-14.869)a
Pendiente±EE	1.604±0.084	1.512±0.069	1.505±0.074	1.384±0.061
X ² (df)	49.20 (11)	54.16 (14)	81.83 (13)	74.30 (15)
p	8.71 × 10 ⁻⁷	1.21 × 10 ⁻⁶	4.99 × 10 ⁻¹²	7.57 × 10 ⁻¹⁰
RR ₅₀ ³	-	1.27	1.52	1.69
RR ₉₀ ³	-	1.42	1.71	2.27

¹Número de hembras evaluadas.

²LC₅₀, y LC₉₀ representan las concentraciones (mg/L) requeridas para matar al 50% y 90% de las hembras, respectivamente; los intervalos de confianza (IC) al 95% se muestran entre paréntesis.

³La RR se calculó como la relación de la LC₅₀ o LC₉₀ de la población de campo/LC₅₀, LC₉₀ de la cepa susceptible New Orleans.

⁴Letras diferentes en las hileras indican diferencias significativas

7.4.2. Clorantraniliprol

Las concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) de clorantraniliprol en hembras adultas de *Ae. aegypti* fueron significativamente mayores en las poblaciones de campo en comparación con la cepa susceptible NO. Sin embargo, entre las poblaciones de campo no se observaron diferencias significativas en los valores de CL₅₀ y CL₉₀ (Tabla 13).

Las razones de resistencia (RR₅₀ y RR₉₀) fueron menores a 5 en todas las poblaciones, indicando que las poblaciones se mostraron susceptibles a clorantraniliprol.

Tabla 13. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) en mg/botella y valores de razón de resistencia (RR) en hembras de *Ae. aegypti* expuestas a clorantraniliprol.

Parámetro/Población	New Orleans	Guadalupe	Apodaca	Monterrey
N ¹	1200	1300	1900	1700
CL ₅₀ (IC) ²	0.238 (0.178-0.311)a	0.884 (0.662-1.158)b	0.581 (0.459-0.722)b	0.844 (0.613-1.121)b
CL ₉₀ (IC) ²	1.823 (1.282- 2.901)a	6.001 (4.011- 10.802)b	5.295 (3.878- 7.855)b	7.192 (4.828- 12.558)b
Pendiente±EE	1.451±0.071	1.541±0.078	1.335 (0.055)	1.377 (0.061)

X² (df)	28.45 (10)	44.64 (11)	50.90 (17)	73.833 (15)
p	0.00153	5.61×10^{-6}	3.06×10^{-5}	9.19×10^{-10}
RR₅₀³	-	3.71	2.44	3.54
RR₉₀³	-	3.29	2.9	3.945

¹Número de hembras evaluadas.

²LC₅₀, y LC₉₀ representan las concentraciones (mg/L) requeridas para matar al 50% y 90% de las hembras, respectivamente; los intervalos de confianza (IC) al 95% se muestran entre paréntesis.

³La RR se calculó como la relación de la LC₅₀ or LC₉₀ de la población de campo/LC₅₀, LC₉₀ de la cepa susceptible New Orleans.

⁴Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas

7.4.3. Tiametoxam

Los bioensayos realizados en hembras adultas de *Ae. aegypti* expuestas a tiametoxam mostraron que las concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) no presentaron diferencias significativas entre las poblaciones de campo y la cepa susceptible de referencia (NO), ni entre las poblaciones, según los intervalos de confianza. Los valores de CL₅₀ oscilaron entre 0.398 y 0.769 µg/botella, mientras que los de CL₉₀ variaron de 3.602 a 8.069 µg/botella (Tabla 14).

Las razones de resistencia (RR₅₀ y RR₉₀) fueron menores a 5 en todas las poblaciones, indicando que las poblaciones se mostraron susceptibles al tiametoxam.

Tabla 14. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀) en mg/botella y valores de razón de resistencia (RR) en hembras de *Ae. aegypti* expuestas a tiametoxam.

Parámetro/Población	New Orleans	Guadalupe	Apodaca	Monterrey
N¹	1200	1300	1400	1500
CL₅₀ (IC)²	0.398 (0.257-0.599)a	0.523 (0.348-0.766)a	0.769 (0.523-1.089)a	0.584 (0.428-0.776)a
CL₉₀ (IC)²	3.602 (2.086-8.133)a	8.069 (4.563-18.468)a	6.936 (4.20-14.925)a	6.062 (4.015-10.614)a
Pendiente±EE	1.339 (0.063)	1.078 (0.054)	1.341 (0.065)	1.261 (0.058)
X² (df)	57.168 (10)	44.622 (11)	68.181 (12)	47.534 (13)
p	1.24×10^{-8}	5.65×10^{-6}	7.00×10^{-10}	7.85×10^{-6}
RR₅₀³	-	1.31	1.93	1.46
RR₉₀³	-	2.24	1.92	1.68

¹Número de hembras evaluadas.

²LC₅₀, y LC₉₀ representan las concentraciones (mg/L) requeridas para matar al 50% y 90% de las hembras, respectivamente; los intervalos de confianza (IC) al 95% se muestran entre paréntesis.

³La RR se calculó como la relación de la LC₅₀ or LC₉₀ de la población de campo/LC₅₀, LC₉₀ de la cepa susceptible New Orleans.

⁴Letras diferentes en las filas indican diferencias significativas

8. DISCUSIÓN

La resistencia a insecticidas en poblaciones de *Ae. aegypti* constituye un desafío creciente para los programas de control de vectores. En México, el uso prolongado y continuo de larvicidas como el temefos y adulticidas como los piretroides ha generado presiones selectivas que favorecen la aparición y dispersión de poblaciones resistentes. Esta situación ha impulsado el desarrollo de estrategias para monitorear no solo la susceptibilidad, sino también para caracterizar los mecanismos involucrados en la resistencia. Una parte importante de este estudio fue la evaluación inicial de la resistencia a temefos y piretroides en las poblaciones locales de *Ae. aegypti*, lo que sentó las bases para seleccionar las poblaciones que se emplearon en los experimentos posteriores con los insecticidas alternativos.

4.1. Resistencia a temefos en poblaciones de *Ae. aegypti*

Diversos estudios han documentado la presencia de resistencia a temefos en poblaciones de *Ae. aegypti* de México y otros países de América Latina. Esta tendencia coincide con reportes en Latinoamérica, donde se ha demostrado que el uso prolongado de temefos desde finales de la década de 1960 ha generado un incremento progresivo en la frecuencia e intensidad de resistencia (Bisset et al. 2011; Chediak et al., 2016; Helvecio et al. 2020; Grisales et al. 2013).

Nuestros resultados coinciden con estos reportes: las tres poblaciones de campo evaluadas (Guadalupe, Apodaca y Monterrey) mostraron alta frecuencia de resistencia al ser expuestas a la dosis diagnóstica (0.012 mg/L), con mortalidades del 10% al 68%. Estos valores confirman la resistencia generalizada en la región. Asimismo, al evaluar la intensidad de resistencia con concentraciones 5 y 10 veces mayores (0.06 y 0.12 mg/L), las poblaciones presentaron mortalidades del 92% al 94%, clasificándose como resistencia de intensidad moderada.

Estos hallazgos coinciden con estudios recientes como el de Davila-Barboza et al. (2024), quienes documentaron mortalidades inferiores al 93% a la dosis diagnóstica en 22 de 23 poblaciones analizadas en México, así como resistencia moderada (5X DD) en el 78% de las poblaciones y alta intensidad (10X DD) en el 30%. Aunque en nuestro estudio las poblaciones incluidas presentan un patrón uniforme de resistencia moderada en las

pruebas de intensidad, en contraste con los niveles más elevados reportados en otras regiones, esto resalta la variabilidad geográfica y la presión diferencial de selección ejercida por el uso de temefos.

Por otro lado, la menor eficacia de temefos observada en campo ha sido reportada (Marina et al. 2018), quienes destacaron la limitada residualidad de este larvicida (alrededor de tres semanas de control efectivo), lo cual puede contribuir a la reducción de su efectividad operativa en áreas con alta resistencia. Esto refuerza la necesidad de buscar alternativas más sostenibles, como la rotación de insecticidas con diferentes modos de acción.

Respecto a los mecanismos involucrados, diversos estudios han asociado la resistencia a temefos con la sobreproducción de enzimas detoxificantes, como esterasas, OFM y GST (Solís-Santoy et al. 2023; Adhikari y Khanikor 2021; Muthusamy y Shivakumar 2015). En nuestro estudio, la actividad de las α -esterasas en las poblaciones de campo fue similar a la cepa susceptible de referencia NO, con porcentajes por encima del percentil 99 (p99) menores al 15%, clasificándose como no alteradas. Las β -esterasas mostraron un incremento significativo en la población de Guadalupe ($p < 0.05$) y un 20% de individuos por encima del p99, por lo que se clasificó como incipientemente alterada.

Las OFM presentaron incrementos mínimos en los promedios de actividad en las poblaciones de campo respecto a la cepa susceptible, pero sin diferencias significativas y con porcentajes por encima del p99 menores al 15%, clasificándose también como no alteradas. Por su parte, las GSTs mostraron alteraciones en las poblaciones de Guadalupe y Apodaca, las cuales presentaron incrementos significativos en la actividad media ($p < 0.05$) y porcentajes por encima del p99 del 53% y 60%, respectivamente, clasificándose como alteradas, mientras que la población de Monterrey presentó un 20% de individuos por encima del p99, lo que corresponde a una alteración incipiente.

Estos hallazgos concuerdan con otros estudios en Latinoamérica (Bisset et al. 2013; Terán Zavala et al. 2014) y Asia (Pethuan et al. 2007; Muthusamy y Shivakumar 2015), donde la sobreproducción de GST ha sido relacionada con la resistencia a temefos. Sin embargo, a pesar de observarse incrementos en la actividad enzimática (Jirakanjanakit et al. 2007; Epelboin et al. 2021).

Finalmente, aunque estudios han sugerido la implicación de alteraciones en la acetilcolinesterasa (AChE) y mutaciones en el gen ACE-1 como mecanismos de resistencia a organofosforados (Weill et al. 2004; Muthusamy y Shivakumar 2015), nuestros resultados evidencian un papel importante de iAChE en la resistencia a temefos en las poblaciones analizadas. Aunque no se evaluaron mutaciones en el gen ACE-1, por lo que se sugiere su búsqueda en futuras investigaciones.

En conjunto, nuestros resultados confirman la resistencia generalizada y de intensidad moderada a temefos en las poblaciones estudiadas, resaltando la necesidad de actualizar las estrategias de manejo y rotación de insecticidas en los programas de control de *Ae. aegypti* en México.

4.2. Resistencia a piretroides en las poblaciones de *Ae. aegypti*

Las estrategias de control vectorial en México están coordinadas por el Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE), un organismo descentralizado de la Secretaría de Salud. Entre los insecticidas aprobados para el control de mosquitos, la permetrina fue la formulación más utilizada para el control de adultos de *Ae. aegypti* entre 1999 y 2010, de acuerdo con la NOM-032-SSA2-2002 (Secretaría de Salud 2003). El 1 de junio de 2011, entró en vigor la NOM-032-SSA2-2010 (Secretaría de Salud 2011), que estableció que la selección de insecticidas debía basarse en la eficacia demostrada, el estado de resistencia y la seguridad, sin especificar ingredientes activos. Este marco se actualizó posteriormente con la publicación de la NOM-032-SSA2-2014, que sigue siendo la norma regulatoria actual (Secretaría de Salud, 2015). Desde la eliminación progresiva del DDT en el año 2000, la deltametrina se convirtió en el principal insecticida utilizado para el rociado residual intradomiciliario (IRS) en áreas endémicas de malaria y ha permanecido en la lista oficial de insecticidas autorizados para el control vectorial en México. Actualmente se recomienda tanto para IRS como para aplicaciones en Ultra Bajo Volumen (ULV).

Además de la deltametrina, varios otros piretroides están oficialmente aprobados y se utilizan para el control de mosquitos en México. Estos incluyen fenotrina, bifentrina, transflutrina, alfa-cipermetrina y piretrinas naturales para aplicaciones ULV, así como lambda-cialotrina y alfa-cipermetrina para IRS, junto con formulaciones que combinan

neonicotinoides y piretroides (CENAPRECE 2025). Esta continua dependencia de los piretroides destaca su papel central en las estrategias nacionales de control vectorial, particularmente contra los vectores de mosquitos.

Los hallazgos de nuestro estudio sugieren que este uso prolongado de los piretroides ha tenido un impacto significativo en los perfiles de resistencia en todo el país. A pesar de la suspensión oficial de la permetrina en 2011 (Secretaría de Salud 2011), todas las poblaciones evaluadas mostraron resistencia a este insecticida, con porcentajes de mortalidad entre 68% y 79%. Esta persistencia podría explicarse no solo por el uso histórico, sino también por la exposición continua a otros piretroides, lo que podría mantener o incluso amplificar los mecanismos de resistencia cruzada.

La resistencia a la permetrina en *Ae. aegypti* se reportó por primera vez en el norte de México, donde se detectó una actividad elevada de α -esterasas en poblaciones de campo, indicando una participación temprana de mecanismos metabólicos en el desarrollo de la resistencia (Flores et al. 2005; Flores et al. 2006). Estudios posteriores demostraron que la resistencia no estaba limitada a un solo compuesto; se identificó evidencia de resistencia cruzada a múltiples piretroides en poblaciones de Veracruz, en la costa este de México, incluyendo permetrina, cipermetrina, α -cipermetrina, Z-cipermetrina, λ -cialotrina, deltametrina y δ -fenotrina (Flores et al. 2013). Estos hallazgos sugieren que la resistencia a un piretroide puede conferir menor susceptibilidad a otros, un patrón que coincide con nuestras observaciones.

El perfil actual de susceptibilidad en las poblaciones de *Ae. aegypti* evaluadas, con mayor resistencia a la permetrina comparado con la deltametrina, refleja tanto las presiones selectivas ejercidas en el pasado como el uso continuo de piretroides en las operaciones de control vectorial.

En el presente estudio, ninguno de las enzimas asociadas a la resistencia se encontró alterado; sin embargo, diversos estudios realizados en México han demostrado la participación de α - y β -esterasas (Flores et al. 2005, 2006, 2009; Solís-Santoyo et al. 2023), así como de las FOM (Aponte et al. 2013; Solís-Santoyo et al. 2023). La exposición a insecticidas suele inducir un aumento general en la actividad de detoxificación, involucrando múltiples familias enzimáticas como las FOM y las GSTs. Las GSTs, en

particular, se han asociado con la resistencia, ya sea por metabolizar insecticidas o por mitigar el estrés oxidativo (Li et al. 2007).

Nuestros resultados muestran que las poblaciones de *Ae. aegypti* de Guadalupe, Apodaca y Monterrey presentan frecuencias alélicas y genotípicas elevadas para las mutaciones kdr V410L, V1016I y F1534C. La frecuencia alélica más alta de V410L se registró en Apodaca (0.58) y la más baja en Guadalupe (0.43). Para V1016I, las frecuencias alélicas fueron más altas en Apodaca (0.98) y Monterrey (0.95), mientras que en Guadalupe fue de 0.75. En cuanto a la mutación F1534C, destaca la fijación del alelo mutado en Apodaca (1.00) y las frecuencias casi fijadas en Guadalupe (0.97) y Monterrey (0.93). Estas frecuencias reflejan patrones de resistencia consistentes con lo reportado en otras regiones de México y el mundo, donde la co-ocurrencia de las tres mutaciones se ha asociado con niveles elevados de resistencia a piretroides (Moyes et al. 2017; Saavedra-Rodríguez et al. 2018; Fan et al. 2020; Silva et al. 2021; Maestre-Serrano et al. 2022; Atencia-Pineda et al. 2024). La desviación significativa del equilibrio Hardy-Weinberg observada en Monterrey para V410L y en Guadalupe para V1016I, así como el exceso de homocigotos ($F_{IS} = 1.00$) en Guadalupe y Monterrey para F1534C, sugieren la acción de fuertes presiones de selección, consistentes con la exposición prolongada a piretroides en programas operativos e insecticidas de uso doméstico (Saavedra-Rodríguez et al. 2007; Ponce García et al. 2009; Siller et al., 2011; Loroño-Pino et al. 2014).

La distribución de los genotipos multilocus observados en las poblaciones de *Ae. aegypti*, también es congruente con los modelos de resistencia acumulativa descritos en la literatura (Vera-Maloof et al. 2015). El genotipo LL/VI/CC fue el más frecuente en las tres poblaciones, con 0.63 en Apodaca y Monterrey, y 0.30 en Guadalupe, mientras que el genotipo triple resistente LL/II/CC fue más prevalente en Apodaca (0.27) y menos común en Guadalupe y Monterrey (0.13 y 0.10, respectivamente). Estos patrones se alinean con reportes que indican que la co-ocurrencia de estas mutaciones, en particular el triple mutado, confiere un mayor nivel de resistencia en poblaciones naturales (Haddi et al. 2017; Saavedra-Rodríguez et al. 2018). Además, la mayor diversidad de genotipos en Guadalupe sugiere posibles diferencias en la historia de exposición a insecticidas como se ha observado en otras áreas con patrones de resistencia heterogéneos (Atencia-Pineda et al. 2024).

En conjunto, estos resultados confirman que las poblaciones estudiadas de *Ae. aegypti* presentan altos niveles de resistencia a piretroides, principalmente por las mutaciones kdr V410L, V1016I y F1534C. Esta información refuerza la necesidad de integrar estrategias de monitoreo y rotación de insecticidas para retrasar la fijación completa de estos alelos de resistencia y garantizar la sostenibilidad de las intervenciones de control vectorial en México.

4.3. Susceptibilidad de larvas a espiromesifeno y efectos en componentes bioquímicos en larvas y adultos y efectos esterilizantes en adultos

Las tres poblaciones de *Ae. aegypti* mostraron susceptibilidad al espiromesifeno con valores de RR_{50} y RR_{90} menores a 4. Pocos estudios han analizado la susceptibilidad al espiromesifeno en mosquitos; sin embargo, un estudio en *Cx. quinquefasciatus* reportó valores de CL_{50} de 0.542 mg/L y de CL_{90} de 1.148 mg/L del ingrediente activo en larvas de cuarto estadio recién mudadas, utilizando una formulación comercial, Oberon® 240 SC (Bouabida et al. 2017a). Esto es importante de considerar, ya que los productos formulados suelen contener coadyuvantes y otros ingredientes que aumentan la efectividad del insecticida (Nagy et al. 2020). Estudios similares en *Culiseta longiareolata* mostraron valores de CL_{50} de 0.555 mg/L y de LC_{90} de 1.366 mg/L de espiromesifeno (Bouabida et al. 2017b).

En nuestro estudio se utilizó espiromesifeno (i.a., 98% de pureza), obteniéndose valores de CL_{50} entre 1.12 y 4.02 mg/L y de CL_{90} entre 17.59 y 63.65 mg/L para la cepa susceptible NO y las tres poblaciones de campo de *Ae. aegypti*. Marina et al. (2018) reportaron valores de CL_{50} de 6 mg i.a./L de espiromesifeno para larvas de *Ae. aegypti* usando la formulación comercial Oberon 240 SC, lo que es comparativamente mayor que los valores obtenidos para nuestras poblaciones, dado que el valor más alto de CL_{50} registrado para la población de Monterrey fue de 4.02 mg/L. Sin embargo, estos resultados deben tomarse con precaución, ya que los autores registraron la mortalidad 48 h después del inicio del bioensayo, tras un período de exposición de 24 h al insecticida. Dado que este insecticida es un inhibidor de la síntesis de lípidos y afecta el crecimiento y desarrollo en las etapas juveniles, la mortalidad larval o la interrupción en el desarrollo se extienden

más allá de las 48 horas (Nauen et al. 2005b, 2005c). Esto concuerda con las observaciones de los mismos autores, quienes indican que la mortalidad no alcanzó el 90% en el bioensayo con espiromesifeno a las 24 o 48 h después del tratamiento.

La exposición de larvas de *Ae. aegypti* a valores de CL₅₀ de 1.12 mg/L, 1.18 mg/L, 3.41 mg/L y 4.02 mg/L para la cepa susceptible NO y las poblaciones de campo de Guadalupe, Apodaca y Monterrey, respectivamente, redujo significativamente los contenidos totales de carbohidratos, lípidos y proteínas. Inicialmente, el contenido total de estos componentes bioquímicos se midió de manera individual por larva. Sin embargo, dada la reducción observada en el peso y volumen larval en los grupos tratados, expresamos estos contenidos bioquímicos en función del peso corporal larval ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de larva) para asegurar una comparación más precisa. Esta normalización tiene en cuenta la variabilidad en el peso larval, lo cual puede impactar significativamente las cantidades absolutas de estos componentes bioquímicos. Al expresar los contenidos en relación con el peso larval, buscamos ofrecer una representación más precisa de los cambios bioquímicos inducidos por el tratamiento, independiente de las variaciones relacionadas con el tamaño.

Se observó una reducción en el contenido total de carbohidratos en las larvas de la cepa NO y de las poblaciones de campo de *Ae. aegypti*, con disminuciones significativas que oscilaron entre el 27% y el 56% a las 24 horas de tratamiento. Esta reducción inicial podría atribuirse a que los carbohidratos son las primeras reservas energéticas utilizadas por el insecto para recuperarse del estrés inducido por la exposición al insecticida. Hallazgos similares se han reportado en larvas de *Cx. quinquefasciatus* expuestas a una CL₉₀ de espiromesifeno de 1.148 mg/L, donde se observó una reducción significativa del 29% en el contenido de carbohidratos, mientras que no se detectó efecto a la CL₅₀ de 0.542 mg/L (Bouabida et al. 2017a). Respaldando aún más estas observaciones, se ha demostrado que la aplicación tópica de spiromesifeno en pupas de *Drosophila melanogaster* disminuyó significativamente los niveles de carbohidratos y glucógeno (Kissoum y Soltani 2016).

Los carbohidratos desempeñan un papel clave en el metabolismo energético y en la fisiología general de los insectos. Como fuente principal de energía fácilmente disponible, son esenciales para diversas actividades metabólicas y fisiológicas. En

situaciones de alta demanda energética, como el vuelo, la migración y el estrés, los carbohidratos almacenados como glucógeno en el cuerpo del insecto se movilizan rápidamente para satisfacer estas necesidades (Arrese y Soulages 2010). Además, los carbohidratos son vitales para el desarrollo embrionario y el crecimiento larval, ya que proporcionan la energía necesaria durante estos periodos críticos (Van Handel et al. 1993). Durante la inanición o el estrés ambiental, los insectos dependen de sus reservas de glucógeno para mantener funciones vitales y sobrevivir (Hahn et al. 2007). Así, la reducción significativa en el contenido de carbohidratos tras la exposición al spiromesifeno reafirma los hallazgos de otros autores (Kissoum y Soltani 2016; Bouabida et al. 2017a, 2017b) y destaca su impacto en el metabolismo energético de las larvas de *Ae. aegypti*.

Al evaluar el efecto sobre el contenido de lípidos tras la exposición a la CL₅₀ de espiromesifeno, encontramos una reducción significativa en los niveles de lípidos en todas las poblaciones evaluadas a las 48 h de tratamiento, con disminuciones que oscilaron entre el 23% y el 65%. Este punto temporal se identificó como óptimo para ejercer el mayor impacto en el contenido total de lípidos. La reducción en el contenido de lípidos podría atribuirse no solo a la inhibición de la lipogénesis por el insecticida, sino también a la respuesta metabólica del insecto, donde los carbohidratos se utilizan como fuente principal de energía (Arrese y Soulages 2010). Una vez que estas reservas se agotan, el insecto recurre a las reservas lipídicas para obtener energía (Abdel-Aal et al. 2006; Sak et al. 2006), lo que explica la reducción significativa en el contenido de lípidos observada a las 48 horas. Este efecto continuó hasta las 72 h en la cepa susceptible y en las poblaciones de Apodaca y Monterrey.

Estudios realizados en *Cs. longiareolata* han demostrado que el espiromesifeno, a una CL₅₀ de 0.555 mg/L y una CL₉₀ de 1.366 mg/L, reduce el contenido total de lípidos e incrementa los niveles de MDA, un biomarcador que indica daño oxidativo en las moléculas lipídicas (Bouabida et al. 2017b). La formación de MDA como resultado de la peroxidación lipídica sirve como marcador de estrés oxidativo, dado que indica daño oxidativo en las células (Niki et al. 2009). Los resultados del presente estudio son consistentes con estos hallazgos, ya que se registró un aumento en los niveles de MDA a partir de las 48 h en la cepa susceptible y en las poblaciones de campo. Además, desde las

48 h y hasta las 72 h, la actividad de la catalasa aumentó significativamente en las larvas tratadas con la CL₅₀ de espiromesifeno en todas las poblaciones. El aumento en los niveles de catalasa indica un mecanismo de defensa del insecto para contrarrestar el estrés oxidativo en respuesta a la exposición al insecticida (Ranjith et al. 2023).

También se ha observado un aumento en la actividad del lactato deshidrogenasa (LDH) en pupas de *Drosophila melanogaster* expuestas a espiromesifeno. La LDH es una enzima clave en la glucólisis, y su incremento indica que el insecto está convirtiendo piruvato en lactato para satisfacer la alta demanda de energía causada por el estrés químico (Kissoum y Soltani 2016).

Los lípidos son el principal componente graso del cuerpo, con más del 90% de los lípidos almacenados siendo triglicéridos sintetizados a partir de carbohidratos dietéticos, ácidos grasos o proteínas (Bailey 1975; Canavoso et al. 2001). Constituyen una de las reservas más importantes, involucradas en muchas funciones esenciales del insecto. Durante la etapa larval, los lípidos se almacenan en el cuerpo graso y se movilizan para satisfacer las necesidades energéticas durante el crecimiento y la metamorfosis. Las reservas lipídicas son fundamentales para la supervivencia de las larvas y su correcto desarrollo, proporcionando la energía necesaria para los intensos procesos metabólicos y la transición a la etapa adulta (Ziegler et al. 2001). Además, la cantidad de nutrientes almacenados en las larvas tiene importantes consecuencias para la vida adulta, ya que un tamaño corporal más pequeño se traduce en una fecundidad reducida (Briegel 1990).

Otro componente bioquímico evaluado tras la exposición a la CL₅₀ de espiromesifeno fue el contenido total de proteínas, que mostró una reducción significativa en las poblaciones de campo a las 72 h. Esta reducción tardía, en comparación con los carbohidratos a las 24 h y los lípidos a las 48 h, puede explicarse por las diferentes tasas de utilización y agotamiento de estos componentes. Inicialmente, las larvas utilizan sus reservas de carbohidratos, que son una fuente de energía fácilmente disponible; una vez agotadas estas reservas, recurren a los lípidos como fuente energética. Finalmente, las proteínas, que desempeñan un papel esencial en la síntesis estructural celular y en funciones metabólicas vitales, se utilizan como última reserva de energía, lo que lleva a una reducción significativa en el contenido de proteínas a las 72 horas (McCue et al. 2015; Zhang et al. 2019). Los resultados de esta investigación coinciden con estudios realizados

en *Cx. pipiens* y *Cs. longiareolata*, que reportaron reducciones en el contenido total de proteínas solo a concentraciones más altas (CL₉₀: 1148.65 µg/L y 1366.70 µg/L, respectivamente) (Bouabida et al. 2017a, 2017b).

La reducción de componentes bioquímicos esenciales, carbohidratos, lípidos y proteínas, impactó negativamente el crecimiento y desarrollo de las larvas. Las reservas energéticas son necesarias para el crecimiento, y la disminución de estas reservas debido a la exposición a la CL₅₀ de espiromesifeno resultó en una reducción significativa del peso y volumen corporal larval en todas las poblaciones a las 48 horas, así como en la cepa susceptible NO en los tres tiempos de evaluación. Hallazgos similares han sido reportados en pupas de *D. melanogaster* tratadas con una dosis de 35.53 µg/insecto de espiromesifeno por aplicación tópica, donde se observó una reducción significativa del peso (Kissoum y Soltani 2016). También se han reportado reducciones en el peso y volumen corporal en larvas de *Cx. quinquefasciatus* tras la exposición a la CL₅₀ de 0.542 mg/L y CL₉₀ de 1.366 mg/L de espiromesifeno (Bouabida et al. 2017a).

La importancia del almacenamiento de nutrientes para la supervivencia y el desarrollo de *Ae. aegypti* está bien reconocida. El almacenamiento de nutrientes es esencial para diversos aspectos de su fisiología, incluyendo el mantenimiento de la actividad metabólica y la provisión de energía para vuelos prolongados, la ovogénesis y la resistencia a la inanición (Arrese y Soulages 2010; Alabaster et al. 2011; Silva et al. 2021; Tose et al. 2021). Además, el tráfico intracelular de lípidos desempeña un papel importante en los mosquitos y en la dinámica de infección del virus del dengue (DENV) (Fu et al. 2015; Lan et al. 2004; Li et al. 2020). Los nutrientes almacenados no solo son vitales para el crecimiento y el desarrollo, sino también para la replicación de patógenos y la capacidad de las células para generar una respuesta inmune (Conway et al. 2023).

Otro objetivo de este estudio fue investigar el impacto de la exposición a espiromesifeno en la fecundidad y fertilidad de hembras de *Ae. aegypti*. Esta evaluación se motivó por el posible uso de espiromesifeno como larvicida para esta especie de mosquito. Se planteó la hipótesis de que las hembras podrían estar expuestas indirectamente al depositar huevos en criaderos tratados con espiromesifeno, lo que podría generar un efecto esterilizante similar al de piriproxifen. Para evaluar esto, seguimos el protocolo de la OMS (WHO 2022) para la evaluación de las propiedades esterilizantes del

piriproxifen y aplicamos la CL₅₀ y CL₉₉ de spiromesifeno obtenidas en los bioensayos larvarios. Los resultados revelaron que el espiromesifeno inhibió la oviposición, con reducciones del 22% al 36% en la CL₅₀ y del 51% al 66% en la CL₉₉. Además, el insecticida provocó una notable disminución en la fecundidad, con inhibiciones del 42% al 60% en la CL₅₀ y del 77% al 91% en la CL₉₉. La fertilidad también se vio afectada, con reducciones del 55% y 68% en la CL₅₀ y del 67% al 79% en la CL₉₉. Aunque no existen estudios previos que investiguen específicamente los efectos esterilizantes del espiromesifeno en *Ae. aegypti* o en mosquitos, los resultados sugieren un impacto más fuerte en la fecundidad y fertilidad en comparación con el piriproxifen. Yadav et al. (2019) reportaron una inhibición de la fecundidad del 32% y de la fertilidad del 54.3% cuando las hembras alimentadas con sangre fueron expuestas a una concentración de 0.75% de piriproxifen. En contraste, las concentraciones de spiromesifeno utilizadas en nuestro estudio fueron mucho más bajas, oscilando entre 0.000112% y 0.000402% para la LC₅₀ y entre 0.011247% y 0.10483% para la CL₉₉.

El efecto del espiromesifeno en la reducción de las tasas de oviposición y de la fertilidad de los huevos ha sido documentado en *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) y *Bactericera cockerelli* (Šulc, 1909) (Hemiptera: Triozidae) (Kontsedalov et al. 2008; Tucuch-Haas et al. 2020; Çobanoglu y Güldali-Kandiltas 2019). En *D. melanogaster*, la exposición a dosis subletales de spiromesifeno inhibió el crecimiento y desarrollo ovárico, reduciendo el número de oocitos, el volumen de los oocitos basales y el peso ovárico. El spiromesifeno también redujo los niveles ováricos de carbohidratos y glucógeno (Kissoum et al. 2020).

Además, se investigó si el espiromesifeno pudiese afectar los contenidos de carbohidratos y lípidos en hembras expuestas a la CL₅₀ y CL₉₉. Los resultados mostraron reducciones significativas en carbohidratos, que oscilaron entre el 21% y el 41% en la CL₅₀ y entre el 29% y el 54% en la CL₉₉. Para los lípidos, la reducción fue del 21% al 42% en la CL₅₀ y del 29% al 52% en la CL₉₉. Esto es relevante considerando que la lipogénesis de novo está activa en las hembras, así como la acumulación de glucógeno tras alimentarse de fuentes de azúcar y sangre (Ziegler et al. 2001; Naksathit et al. 1999a, 1999b). Además, se ha demostrado la movilización de lípidos hacia los oocitos en

desarrollo (Briegel et al. 2003), constituyendo hasta el 30-40% del peso seco del oocito (Van Handel 1993, Briegel 1990; Troy et al. 1975). Estos hallazgos son significativos porque cualquier alteración en la capacidad de las hembras para sintetizar y transferir lípidos podría impactar directamente su fecundidad y fertilidad. Por lo tanto, evaluar el impacto del spiromesifeno no solo en la mortalidad larval, sino también en los procesos metabólicos de las hembras adultas podría ofrecer una comprensión más completa de su eficacia y mecanismo de acción como agente de control.

Una limitación de la evaluación de los efectos del espiromesifeno en larvas y en adultos de *Ae. aegypti* es el enfoque exclusivo en condiciones de laboratorio, que, aunque permite un análisis controlado de los efectos biológicos del espiromesifeno, no brinda datos sobre su eficacia en campo. No obstante, los hallazgos demuestran que el espiromesifeno impacta significativamente no solo el desarrollo larval y los perfiles bioquímicos, sino también el potencial reproductivo de las hembras adultas de *Ae. aegypti*. La exposición al espiromesifeno resultó en reducciones sustanciales de la fecundidad y fertilidad, con niveles de inhibición que alcanzaron hasta el 91% en la concentración CL₉₉. Además, se observaron disminuciones marcadas en el contenido de carbohidratos y lípidos en las hembras expuestas, esenciales para el metabolismo energético y el desarrollo de los oocitos. Estos resultados sugieren que el espiromesifeno interrumpe procesos metabólicos críticos, lo que lo convierte en un candidato prometedor para el control de mosquitos en múltiples etapas de vida. Sin embargo, antes de su implementación en el campo, deben abordarse varios desafíos, incluyendo la optimización de la formulación, la dosis y la frecuencia de aplicación para asegurar la eficacia y minimizar los impactos ambientales. También es importante considerar otros factores que podrían influir en la idoneidad del spiromesifeno para el control de mosquitos en hábitats acuáticos, como su persistencia en el agua, productos de degradación y la sensibilidad a factores ambientales como la luz solar y el pH ambiente, los cuales podrían afectar su eficacia e impacto ambiental. Adicionalmente, la toxicidad del espiromesifeno para invertebrados acuáticos y vertebrados no objetivo es una consideración crítica para su uso en programas de control de mosquitos. Estos aspectos requieren una investigación más profunda para comprender completamente los beneficios y riesgos potenciales asociados con el uso de spiromesifeno en aplicaciones de campo. Asimismo, las implicaciones ecológicas y evolutivas a largo

plazo del uso de spiromesifeno necesitan ser cuidadosamente consideradas, particularmente en lo que respecta al desarrollo de resistencia y los efectos en organismos no objetivo dentro de los ecosistemas acuáticos. Son necesarios ensayos de campo futuros para validar estos resultados de laboratorio y determinar la aplicación práctica del spiromesifeno en estrategias integradas de manejo de vectores, especialmente en áreas con altos niveles de resistencia a insecticidas.

4.4. Susceptibilidad a indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam

Los resultados muestran que las poblaciones de campo de *Ae. aegypti* evaluadas presentaron susceptibilidad a los tres insecticidas probados: indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam, con razones de resistencia (RR_{50} y RR_{90}) menores a 5 en todas las poblaciones. Este hallazgo es relevante considerando la resistencia documentada a piretroides y organofosforados en México, lo que sugiere que estas moléculas representan alternativas viables en el manejo de poblaciones resistentes. Sin embargo, es necesario considerar las posibles presiones de selección y la necesidad de estrategias de rotación para mantener la eficacia de estas herramientas a largo plazo.

En el caso del indoxacarb, los valores de CL_{50} y CL_{90} no difirieron significativamente entre las poblaciones de campo y la cepa susceptible de referencia NO. Esto coincide con el estudio de Oxborough et al. (2015), que reportaron alta eficacia de indoxacarb en *An. gambiae* y *Cx. quinquefasciatus*, incluso en cepas resistentes a piretroides. Su modo de acción distinto, al bloquear los canales de sodio en sitios diferentes a los de los piretroides (Lapied et al. 2001), explica su efectividad sostenida. Además, resultados en plagas agrícolas como *Spodoptera littoralis* (Abdullah 2021) y otras especies de importancia económica (Wing et al. 2000; Miliordos et al. 2017) refuerzan la versatilidad de indoxacarb. Sin embargo, Khan et al. (2011) señalaron la existencia de resistencia en poblaciones de *Ae. albopictus* expuestas a agroquímicos, lo que resalta la necesidad de un monitoreo constante en programas de control urbano para evitar la selección inadvertida de resistencia por uso agrícola intensivo.

Respecto al clorantraniliprol, se observaron diferencias significativas en las concentraciones letales entre las poblaciones de campo y la cepa susceptible, aunque las RR_{50} y RR_{90} resultaron menores a 5. Esto sugiere una susceptibilidad general, pero

también alerta sobre posibles adaptaciones fisiológicas o exposición previa a compuestos con mecanismos de acción similares en el entorno agrícola. Su eficacia y ausencia de resistencia cruzada con insecticidas convencionales (Wang et al. 2016; Guo et al. 2014) respaldan su potencial en el control de *Ae. aegypti*. Estudios en plagas agrícolas, como en *Agrotis ipsilon* (He et al. 2019) e *Hypothenemus hampei* (Plata-Rueda et al. 2019), demuestran efectos subletales importantes que podrían contribuir a la reducción poblacional de mosquitos. No obstante, estos mismos hallazgos destacan la importancia de emplear clorantraniliprol como parte de un programa de rotación, ya que la selección continua podría inducir mecanismos de tolerancia en poblaciones expuestas de manera constante.

Por su parte, el tiametoxam mostró una susceptibilidad uniforme, sin diferencias significativas entre poblaciones de campo y la cepa susceptible. Esto coincide con los reportes de Uragayala et al. (2015), quienes observaron la eficacia de este neonicotinoide frente a poblaciones resistentes de *Ae. aegypti* y otras especies de mosquitos. Además, la actividad documentada de tiametoxam contra moscas de arena (Arserim et al. 2020) y plagas agrícolas como *B. tabaci* (Smith et al. 2016) refuerza su utilidad en distintos contextos. Sin embargo, el uso extendido de neonicotinoides en la agricultura ha llevado a la aparición de resistencia cruzada en algunas plagas agrícolas (Rahmani & Bandani 2015), lo que resalta la necesidad de monitorear la evolución de la susceptibilidad en poblaciones de mosquitos expuestas indirectamente a estos compuestos.

En conjunto, nuestros resultados confirman que indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam son herramientas prometedoras para el control de hembras de *Ae. aegypti* en poblaciones susceptibles y resistentes a piretroides y organofosforados. Sin embargo, su incorporación en programas de manejo debe acompañarse de estrategias de rotación y monitoreo riguroso de la susceptibilidad en campo, para prevenir la aparición de resistencia cruzada y prolongar la vida útil de estos insecticidas. Estos hallazgos refuerzan la importancia de la vigilancia entomológica y la integración de enfoques basados en la rotación de modos de acción, la gestión ambiental y la participación comunitaria para garantizar un control efectivo y sostenible de los vectores.

9. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación confirman que las poblaciones de *Aedes aegypti* del estado de Nuevo León presentan altos niveles de resistencia a insecticidas convencionales como temefos, permetrina y deltametrina. Esta resistencia se asocia con la presencia de mecanismos tanto metabólicos como de sitio blanco, evidenciada por la sobreexpresión de enzimas detoxificantes (GST y AChEI en larvas) y la alta frecuencia de mutaciones *kdr* (V410L, V1016I y F1534C), lo que subraya la complejidad de la resistencia en estas poblaciones.

El espiromesifeno, un insecticida derivado del ácido tetrónico, demostró alta eficacia en larvas y adultos de *Ae. aegypti*, afectando no solo la mortalidad sino también parámetros fisiológicos clave, como las reservas energéticas en larvas y adultos, la fecundidad de las hembras y la eclosión de huevos. Estos resultados respaldan su potencial como alternativa efectiva para el control de poblaciones resistentes a insecticidas convencionales.

Por otra parte, la evaluación de indoxacarb, clorantraniliprol y tiametoxam en hembras adultas mostró que estas moléculas mantienen su eficacia frente a las poblaciones de campo estudiadas, que presentaron razones de resistencia menores a 5, indicativas de susceptibilidad. Estos hallazgos coinciden con reportes previos en otras especies de insectos y avalan la inclusión de estos insecticidas en programas de manejo de resistencia, especialmente en entornos donde la eficacia de los insecticidas convencionales está comprometida.

No obstante, la incorporación de estos insecticidas alternativos en las estrategias de control vectorial debe acompañarse de planes de rotación de modos de acción y un monitoreo constante de la resistencia, con el fin de garantizar la sostenibilidad de las intervenciones y prevenir la selección de resistencia.

En conjunto, los hallazgos de este trabajo aportan evidencia científica clave para fundamentar la diversificación y rotación de insecticidas en los programas de manejo de resistencia, ofreciendo herramientas complementarias para el control de *Ae. aegypti* y contribuyendo a la reducción del riesgo de transmisión de arbovirosis en México.

10. PERSPECTIVAS

Los resultados de este trabajo ofrecen una base sólida para futuras investigaciones y estrategias de manejo de *Aedes aegypti* resistente a insecticidas convencionales. La confirmación de altos niveles de resistencia a piretroides y organofosforados, así como la identificación de mecanismos metabólicos y por sitio blanco, resalta la urgencia de fortalecer el monitoreo constante de la resistencia y de diseñar programas de rotación de insecticidas basados en evidencia.

La efectividad de insecticidas alternativos como espiromesifeno, indoxacarb, clorantniliprol y tiametoxam en hembras adultas y larvas de *Ae. aegypti* sugiere que estas moléculas pueden integrarse como herramientas complementarias en programas de control, particularmente en áreas donde la resistencia a insecticidas convencionales ha comprometido la eficacia de las intervenciones. Sin embargo, su adopción debe acompañarse de evaluaciones en condiciones operativas y estudios de impacto en el ambiente y en organismos no objetivo, para garantizar su sostenibilidad a largo plazo.

Por otro lado, los efectos subletales observados con espiromesifeno, como la reducción en fecundidad y fertilidad, abren la posibilidad de explorar cómo estos insecticidas afectan la biología y el comportamiento vectorial, ofreciendo oportunidades para interrumpir la transmisión de arbovirus de manera más integral. Además, se recomienda investigar combinaciones sinérgicas y esquemas de rotación con estos insecticidas, así como su integración con métodos físicos, biológicos y manejo ambiental, para reducir la presión de selección y prolongar la vida útil de estas herramientas.

Finalmente, se enfatiza la importancia de promover la participación comunitaria y la sensibilización en torno a la reducción de criaderos y el uso responsable de insecticidas. Solo mediante la combinación de vigilancia entomológica, rotación de insecticidas, investigación continua y colaboración comunitaria se podrá garantizar un control vectorial efectivo, sostenible y adaptado a los retos que plantea la resistencia en las poblaciones de *Ae. aegypti*.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol* 18:265–267.
- Abdel-Aal AE. 2006. Effect of chlorfluazuron, nuclear polyhedrosis virus (SLNPV) and *Bacillus thuringiensis* on some biological and enzyme activities of cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd). *Bulletin of the Entomological Society of Egypt* 32:171–185.
- Abdel-Haleem D, A Gad A, M Farag S. 2020. Larvicidal, biochemical and physiological effects of acetamiprid and thiamethoxam against *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 24:271–283.
- Abdullah RRH. 2021. The relative potency of some pesticides against cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and their side effect on the natural enemy, *Chrysoperla carnea* (Stephens). *Journal of Plant Protection and Pathology* 12:245–250.
- Adhikari K, Khanikor B. 2021. Gradual reduction of susceptibility and enhanced detoxifying enzyme activities of laboratory-reared *Aedes aegypti* under exposure to temephos for 28 generations. *Toxicol Rep* 8:1883–1891.
- Ahmad S, Aziz MA, Aftab A, Ullah Z, Ahmad MI, Mustan A. 2017. Epidemiology of dengue in Pakistan, present prevalence and guidelines for future control. *Int J Mosq Res* 4:25–32.
- Alabaster A, Isoe J, Zhou G, Lee A, Murphy A, Day WA, Miesfeld RL. 2011. Deficiencies in acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase 1 differentially affect eggshell formation and blood meal digestion in *Aedes aegypti*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 41:946–955.
- Aponte HA, Penilla RP, Dzul-Manzanilla F, Che-Mendoza A, López AD, Solis F, Rodríguez AD. 2013. The pyrethroid resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* from the Guerrero state, Mexico. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107:226–234.
- Arrese EL, Soulages JL. 2010. Insect fat body: Energy, metabolism, and regulation. *Annual Review of Entomology* 55:207–225.

- Arserim SK, Çetin H, Yetişmiş K, Omondi ZN, Özbel Y. 2020. Toxicity of thiamethoxam on field-collected sand flies (Diptera: Psychodidae) from different regions of Turkey. *Journal of Medical Entomology* 57:214–217.
- Atencia-Pineda MC, Diaz-Ortiz D, Pareja-Loaiza P, García-Leal J, Hoyos-López R, Calderón-Rangel A, et al. 2024. Assessing pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Cordoba Colombia: Implications of kdr mutations. *PLoS ONE* 19:e0309201.
- Bailey E. 1975. Biochemistry of insect flight. In: Candy DJ, Kilby BA (eds). *Insect biochemistry and function*. Springer, pp. 89–176.
- Barrera-Pérez MB, Ruz NP, Mézquita JEM, Arcila NT, Hernández RH, Gamboa FC, Geded-Moreno E, Cohuo-Rodríguez A, Medina-Barreiro A, Koyoc-Cardena E, Gómez-Dantés H, Kroeger A, Vázquez-Prokopec G, Saide PM. 2015. Control de criaderos de *Aedes aegypti* con el programa Recicla por tu bienestar en Mérida, México. *Salud Pública de México* 57:201.
- Bellini R, Zeller H, Van-Bortel W. 2014. A review of the vector management methods to prevent and control outbreaks of West Nile virus infection and the challenge for Europe. *Parasites & Vectors* 7:323.
- Bielza P, Moreno I, Belando A, Grávalos C, Izquierdo J, Nauen R. 2019. Spiromesifen and spirotetramat resistance in field populations of *Bemisia tabaci* Gennadius in Spain. *Pest Management Science* 75:45–52.
- Bisset JA, Marín R, Rodríguez MM, Severson DW, Ricardo Y, French L, Díaz M, Pérez O. 2013. Insecticide resistance in two *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) strains from Costa Rica. *J Med Entomol* 50:352–361.
- Bisset JA, Rodríguez MM, Ricardo Y, Ranson H, Pérez O, Moya M, Vázquez A. 2011. Temephos resistance and esterase activity in the mosquito *Aedes aegypti* in Havana, Cuba increased dramatically between 2006 and 2008. *Med Vet Entomol* 25:233–239.
- Bouabida H, Tine-Djebbar F, Tine S, Soltani N. 2017a. Activity of spiromesifen on growth and development of *Culex pipiens* (Diptera:

- Culicidae): toxicological, biometrical and biochemical aspects. *J Entomol Zool Stud* 5:572–577.
- Bouabida H, Tine-Djebbar F, Tine S, Soltani N. 2017b. Activity of a lipid synthesis inhibitor (spiromesifen) in *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 7:1120–1124.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–254.
- Brengues C, Hawkes NJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, Manguin S, Morgan JC, Hemingway J. 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Medical and Veterinary Entomology* 17:87–94.
- Bretschneider T, Benet-Buchholz J, Fischer R, Nauen R. 2003. Spirodiclofen and spiromesifen—novel acaricidal and insecticidal tetronic acid derivatives with a new mode of action. *Chimia* 57:697–701.
- Briegel H. 1990. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology* 36:165–172.
- Briegel H, Gut T, Lea AO. 2003. Sequential deposition of yolk components during oogenesis in an insect, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Physiology* 49:249–260.
- Brogdon WG. 1988. Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol Toxicol* 90:145–150.
- Brogdon WG, Beach RF, Stewart JM, Castanaza L. 1988a. Microplate assay analysis of the distribution of organophosphate and carbamate resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus*. *Bull World Health Organ* 66:339–346.
- Brogdon WG, Hobbs JH, St Jean Y, Jacques JR, Charles LB. 1988b. Microplate assay analysis of reduced fenitrothion susceptibility in Haitian *Anopheles albimanus*. *J Am Mosq Control Assoc* 4:152–158.

- Brogdon WG, McAllister JC, Vulule J. 1997. Heme peroxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J Am Mosq Control Assoc* 13:233–237.
- Canavoso LE, Jouni ZE, Karnas KJ, Pennington JE, Wells MA. 2001. Fat metabolism in insects. *Annual Review of Nutrition* 21:23–46.
- CDC. 2011. Guideline for evaluating insecticide resistance in vectors using the CDC bottle bioassay. 28 p. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mosquitoes/media/pdfs/2024/04/cdc-global-bottle-bioassay-manual-508.pdf>
- Centro Nacional de Prevención y Control de Enfermedades (CENAPRECE). 2025. Productos recomendados por el CENAPRECE para el combate de insectos vectores de enfermedades a partir de 2025. Dirección de Enfermedades Transmitidas por Vectores. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/cenaprece/documentos/productos-recomendados-por-el-cenaprece-para-el-combate-de-insectos-vectores-de-enfermedades-a-partir-de-2025>
- Chang, C., Shen, W. K., Wang, T. T., Lin, Y. H., Hsu, E. L., y Dai, S. M. 2009. A novel amino acid substitution in a voltage-gated sodium channel is associated with knockdown resistance to permethrin in *Aedes aegypti*. *Insect biochemistry and molecular biology* 39(4), 272-278.
- Chávez J, Vargas J, Vargas F. 2005. Resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) del Perú. *Revista Peruana de Biología* 12:161–164.
- Chediak M, Pimenta FG Jr, Coelho GE, Braga IA, Lima JB, Cavalcante KR, Sousa LC, Melo-Santos MA, Macoris ML, Araújo AP, Ayres CF, Andrighetti MT, Gomes RG, Campos KB, Guedes RN. 2016. Spatial and temporal country-wide survey of temephos resistance in Brazilian populations of *Aedes aegypti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 111:311–321.
- Clements AN. 1992. *The Biology of Mosquitoes: Development, Nutrition and Reproduction*. Chapman & Hall: London, pp. 32–35, 509 pp.
- Çobanoğlu S, Güldali-Kandilas B. 2019. Toxicity of spiromesifen on different developmental stages of two-spotted spider mite, *Tetranychus*

- urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Persian Journal of Acarology 8:57–68.
- Coen E, Strachan T, Dover G. 1982. Dynamics of concerted evolution of ribosomal DNA and histone gene families in the melanogaster species subgroup of *Drosophila*. Journal of Molecular Biology 158:17–35.
- Contreras-Perera Y, Ponce-Garcia G, Villanueva-Segura K, et al. 2020. Impact of deltamethrin selection on kdr mutations and insecticide detoxifying enzymes in *Aedes aegypti* from Mexico. Parasites Vectors 13:224.
- Conway MJ, Haslitt DP, Swarts BM. 2023. Targeting *Aedes aegypti* metabolism with next-generation insecticides. Viruses 15:1–14.
- Davila-Barboza JA, Gutierrez-Rodriguez SM, Juache-Villagrana AE, Lopez-Monroy B, Flores AE. 2024. Widespread resistance to temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico. Insects 15:120.
- Du Y, Nomura Y, Satar G, Hu Z, Nauen R, He SY, Dong K. 2013. Molecular evidence for dual pyrethroid-receptor sites on a mosquito sodium channel. Proceedings of the National Academy of Sciences 110:11785–11790.
- Du Y, Nomura Y, Zhorov B, Dong K. 2016. Sodium channel mutations and pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. Insects 7:60.
- Dunning KR, Russell DL, Robker RL. 2014. Lipids and oocyte developmental competence: the role of fatty acids and β -oxidation. Reproduction 148:R15–R27.
- Elliott M, Janes NF, Potter C. 1976. Properties and applications of pyrethroids. Environmental Health Perspectives 14:3–13.
- Epelboin Y, Wang L, Gai Gianetto Q, Choumet V, Gaborit P, Issaly J, Guidez A, Douché T, Chaze T, Matondo M, Dusfour I. 2021. CYP450 core involvement in multiple resistance strains of *Aedes aegypti* from French Guiana highlighted by proteomics, molecular and biochemical studies. PLoS One 16:e0243992.

- Estep AS, Sanscrainte ND, Farooq M, et al. 2025. Impact of *Aedes aegypti* V1016I and F1534C knockdown resistance genotypes on operational interventions. *Scientific Reports* 15:10146.
- Facchinelli L, Badolo A, McCall PJ. 2023. Biology and behaviour of *Aedes aegypti* in the human environment: opportunities for vector control of arbovirus transmission. *Viruses* 15(3):636.
- Fan Y, O'Grady P, Yoshimizu M, Ponlawat A, Kaufman PE, Scott JG. 2020. Evidence for both sequential mutations and recombination in the evolution of kdr alleles in *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* 14:e0008154.
- Fernández Bravo S, Bertomeu Sánchez JR, Schifter Aceves L. 2020. Adopción y producción estatal de DDT en México (1940–1980). *Estudios de Historia Moderna y Contemporánea de México* (60):257–292.
- Fernando SD, Hapugoda M, Perera R, Saavedra-Rodriguez K, Black WC, De Silva NK. 2018. First report of V1016G and S989P knockdown resistant (kdr) mutations in pyrethroid-resistant Sri Lankan *Aedes aegypti* mosquitoes. *Parasites & Vectors* 11:526.
- Feyereisen R, Dermauw W, Van Leeuwen T. 2015. Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121:61–77.
- Flores AE, Albeldaño-Vázquez W, Salas IF, Badii MH, Becerra HL, Garcia GP, Fuentes SL, Brogdon WG, Black-IV WC, Beaty B. 2005. Elevated α -esterase levels associated with permethrin tolerance in *Aedes aegypti* (L.) from Baja California, Mexico. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 82:66–78.
- Flores AE, Grajales JS, Salas IF, Garcia GP, Becerra HL, Lozano S, Brogdon WG, Black-IV WC, Beaty B. 2006. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) From Quintana Roo, Southern Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association* 22:672–677.
- Flores AE, Ponce G, Silva BG, Gutierrez SM, Bobadilla C, Lopez B, Mercado R, Black WC IV. 2013. Widespread cross-resistance to

- pyrethroids in *Aedes aegypti* (L.) from Veracruz State, Mexico. J Econ Entomol 106:959–969.
- Flores AE, Reyes Solis G, Fernandez Salas I, Sanchez Ramos FJ, Ponce Garcia G. 2009. Resistance to permethrin in *Aedes aegypti* (L.) in northern Mexico. Southwest. Entomol. 34:167–177.
- Foray V, Pelisson PF, Bel-Venner MC, Desouhant E, Venner S, Menu F, Giron D, Rey B. 2012. A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: The van Handel's method (1985) revisited. Physiol Entomol 37:295–302.
- Fortune Business Insights. 2024. Crop Protection Chemicals Market Size, Share & Industry Analysis, by Type (Herbicides, Insecticides, Fungicides, and Others), By Source (Synthetic Chemicals and Biologicals), By Mode of Application (Foliar Spray, Soil Treatment, Seed Treatment, and Others), By Crop Type, and Regional Forecast, 2024–2032. Disponible en: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/crop-protection-chemicals-market-100080>
- Fu Q, Inankur B, Yin J, Striker R, Lan Q. 2015. Sterol carrier protein 2, a critical host factor for dengue virus infection, alters the cholesterol distribution in mosquito Aag2 cells. Journal of Medical Entomology 52:1124–1134.
- Granada Y, Mejía-Jaramillo A, Strode C, Triana-Chavez O. 2018. A point mutation V419L in the sodium channel gene from natural populations of *Aedes aegypti* is involved in resistance to λ -cyhalothrin in Colombia. Insects 9:23.
- Grand View Research. 2024. Agrochemicals Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Fertilizers, Crop Protection Chemicals), By Application (Cereal & Grains, Oilseeds & Pulses, Fruits & Vegetables), By Region, and Segment Forecasts, 2024–2030. Disponible en: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/agrochemicals-marke>
- Grisales N, Poupardin R, Gomez S, Fonseca-Gonzalez I, Ranson H, Lenhart A. 2013. Temephos resistance in *Aedes aegypti* in Colombia compromises dengue vector control. PLoS Negl Trop Dis 7:e2438.

- Guo L, Wang Y, Zhou X, Li Z, Liu S, Pei L, Gao X. 2014. Functional analysis of a point mutation in the ryanodine receptor of *Plutella xylostella* (L.) associated with resistance to chlorantraniliprole. *Pest Management Science* 70:1083–1089.
- Haddi K, Tomé HVV, Du Y, Valbon WR, Nomura Y, Martins GF, Dong K, Oliveira EE. 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.
- Hahn DA, Denlinger DL. 2007. Meeting the energetic demands of insect diapause: Nutrient storage and utilization. *Journal of Insect Physiology* 53:760–773.
- He F, Sun S, Tan H, Sun X, Qin C, Ji S, Jiang X. 2019. Chlorantraniliprole against the black cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae): From biochemical/physiological to demographic responses. *Scientific Reports* 9:10328.
- Helvecio ET, Romão TP, de Carvalho-Leandro D, Ferreira de Oliveira I, Holanda AE, Reimer L, de Paiva Cavalcanti M, Silva de Oliveira AP, Guedes Paiva PM, Napoleão TH, Luz Wallau G, de Melo Neto OP, Varjal Melo-Santos MA, Junqueira Ayres CF. 2020. Polymorphisms in GST2 is associated with temephos resistance in *Aedes aegypti*. *Pest Biochem Physiol* 165:104464.
- Hemingway J, Field L, Vontas J. 2002. An overview of insecticide resistance. *Science* 298:96–97.
- Hemingway J, Hawkes NJ, McCarroll L, Ranson H. 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochem Mol Biol* 34:653–665.
- Hemingway J, Ranson H. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology* 45:371–391.
- Hemingway J, Ranson H, Magill A, Kolaczinski J, Fornadel C, Gimnig J, Coetzee M, Simard F, Roch DK, Hinzoumbe CK, Pickett J, Schellenberg D, Gething P, Hoppé M, Hamon N. 2016. Averting a malaria disaster: Will insecticide resistance derail malaria control? *The Lancet* 387:1785–1788.

- Hoppé M, Hueter OF, Bywater A, Wege P, Maienfisch P. 2016. Evaluation of commercial agrochemicals as new tools for malaria vector control. *Chimia* 70:721–729.
- Jirakanjanakit N, Saengtharatip S, Rongnoparut P, Duchon S, Bellec C, Yoksan S. 2007. Trend of temephos resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes in Thailand during 2003–2005. *Environ Entomol* 36:506–511.
- Kaczmarek A, Bogus M. 2021. The metabolism and role of free fatty acids in key physiological processes in insects of medical, veterinary and forensic importance. *PeerJ* 9:e12563.
- Karunaratne SP, De Silva WPP, Weeraratne TC, Surendran SN. 2018. Insecticide resistance in mosquitoes: development, mechanisms and monitoring. *Ceylon Journal of Science* 47:345–362.
- Khan HAA, Akram W, Shehzad K, Shaalan EA. 2011. First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), from Pakistan. *Parasites & Vectors* 4:1–11.
- Kim J, Nam HY, Kwon M, Choi JH, Cho SR, Kim GH. 2021. Novel diamide resistance-linked mutation in Korean *Spodoptera exigua* and a LAMP assay based on a mutation-associated intronic InDel. *Journal of Pest Science* 94:1017–1029.
- Kissoum N, Bensafi-Gheraibia H, Hamida ZC, Soltani N. 2020. Evaluation of the pesticide Oberon on a model organism *Drosophila melanogaster* via topical toxicity test on biochemical and reproductive parameters. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 228:108666.
- Kissoum N, Soltani N. 2016. Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4:452–456.
- Kontsedalov S, Gottlieb Y, Ishaaya I, Nauen R, Horowitz R, Ghanim M. 2008. Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. *Pest Management Science* 65:5–13.

- Kushwah, R. B. S., Dykes, C. L., Kapoor, N., Adak, T., y Singh, O. P. 2015. Pyrethroid-resistance and presence of two knockdown resistance (kdr) mutations, F1534C and a novel mutation T1520I, in Indian *Aedes aegypti*. PLoS neglected tropical diseases 9(1), e3332.
- Lan Q, Massey RJ. 2004. Subcellular localization of the mosquito sterol carrier protein-2 and sterol carrier protein-x. Journal of Lipid Research 45:1468–1474.
- Lapied B, Grolleau F, Sattelle DB. 2001. Indoxacarb, an oxadiazine insecticide, blocks insect neuronal sodium channels. British Journal of Pharmacology 132:587–595.
- Li MJ, Lan CJ, Gao HT, Xing D, Gu ZY, Su D, Zhao TY, Yang HY, Li CX. 2020. Transcriptome analysis of *Aedes aegypti* Aag2 cells in response to dengue virus-2 infection. Parasites & Vectors 13:875.
- Li X, Schuler MA, Berenbaum MR. 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. Annu Rev Entomol 52:231–253.
- Lien, N. T. K., Ngoc, N. T. H., Hien, N. T., Hoang, N. H., y Binh, N. T. H. 2018. Two novel mutations in the voltage-gated sodium channel associated with knockdown resistance (kdr) in the dengue vector *Aedes aegypti* in Vietnam. Journal of Vector Ecology 43(1), 184-189.
- Liu N. 2015. Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions. Annual Review of Entomology 60:537–559.
- López B, Ponce G, González JA, Gutiérrez SM, Villanueva OK, González G, Flores AE. 2014. Susceptibility to chlorpyrifos in pyrethroid-resistant populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico. Journal of Medical Entomology 51:644–649.
- Lopez-Monroy, B., Gutierrez-Rodriguez, S. M., Villanueva-Segura, O. K., Ponce-Garcia, G., Morales-Forcada, F., Alvarez, L. C., y Flores, A. E. 2018. Frequency and intensity of pyrethroid resistance through the CDC bottle bioassay and their association with the frequency of kdr mutations in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico. Pest Management Science 74(9), 2176-2184.

- López-Solís AD, Castillo-Vera A, Cisneros J, Solís-Santoyo F, Penilla-Navarro RP, Black WC IV, Torres-Estrada JL, Rodríguez AD. 2020. Resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) de Tapachula, Chiapas, México. *Salud Publica Mex* 62:439–446.
- López-Zerón NE, Rodríguez-Maciél JC, Wilson-García CY, Lagunes-Tejeda Á, Silva-Aguayo G. 2024. Insecticide susceptibility in two populations of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) from Guerrero, Mexico, and recommendations for their management. *Agrociencia* 58:1–12.
- Loroño-Pino MA, Chan-Dzul YN, Zapata-Gil R, Carrillo-Solís C, Uitz-Mena A, García-Rejón JE, Keefe TJ, Beaty BJ, Eisen L. 2014. Household use of insecticide consumer products in a dengue-endemic area in México. *Trop Med Int Health* 19:1267–1275.
- Maestre-Serrano R, Flórez-Rivadeneira Z, Castro-Camacho JM, Soto-Arenilla E, Gómez-Camargo D, Pareja-Loaiza P, Ponce-García G, Juache-Villagrana AE, Flores AE. 2023. Spatial distribution of pyrethroid resistance and kdr mutations in *Aedes aegypti* from La Guajira, Colombia. *Insects* 14:31.
- Manjarres A, Olivero J. 2013. Chemical control of *Aedes aegypti*: a historical perspective. *Revista Costarricense de Salud Pública* 22:68–75.
- Marcic D, Ogurlic I, Mutavdzic S, Peric P. 2010. The effects of spiromesifen on life history traits and population growth of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology* 50:255–267.
- Marcombe S, Chonephetsarath S, Thammavong P, Brey PT. 2018. Alternative insecticides for larval control of the dengue vector *Aedes aegypti* in Lao PDR: insecticide resistance and semi-field trial study. *Parasit Vectors* 11:616.
- Marcombe S, Darriet F, Tolosa M, Agnew P, Duchon S, Etienne M, Yp Tcha MM, Chandre F, Corbel V, Yébakima A. 2011. Pyrethroid resistance reduces the efficacy of space sprays for dengue control on the island of Martinique (Caribbean). *PLOS Neglected Tropical Diseases* 5(6):e1202.

- Martins AJ, Lins RM, Linss JG, Peixoto AA, Valle D. 2009. Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* from Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 81(1):108–115
- Matthews BJ, Dudchenko O, Kingan SB, Koren S, Antoshechkin I, Crawford JE, Glassford WJ, Herre M, Redmond SN, Rose NH, Weedall GD, Wu Y, Batra SS, Brito-Sierra CA, Buckingham SD, Campbell CL, Chan S, Cox E, Evans BR, Fansiri T, Filipović I, Fontaine A, Gloria-Soria A, Hall R, Joardar VS, Jones AK, Kay RGG, Kodali VK, Lee J, Lycett GJ, Mitchell SN, Muehling J, Murphy MR, Omer AD, Partridge FA, Peluso P, Aiden AP, Ramasamy V, Rašić G, Roy S, Saavedra-Rodriguez K, Sharan S, Sharma A, Smith ML, Turner J, Weakley AM, Zhao Z, Akbari OS, Black WC IV, Cao H, Darby AC, Hill CA, Johnston JS, Murphy TD, Raikhel AS, Sattelle DB, Sharakhov IV, White BJ, Zhao L, Aiden EL, Mann RS, Lambrechts L, Powell JR, Sharakhova MV, Tu Z, Robertson HM, McBride CS, Hastie AR, Korlach J, Neafsey DE, Phillippy AM, Vossell LB. 2018. Improved reference genome of *Aedes aegypti* informs arbovirus vector control. *Nature* 563:501–507.
- Mazzari MB, Georgiou GP. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. *J Am Mosq Control Assoc* 11:315–322.
- McCann SF, Annis GD, Shapiro R, Piotrowski DW, Lahm GP, Long JK, Wing KD. 2001. The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline-type insecticides. *Pest Management Science* 57:153–164.
- McCue MD, Guzman RM, Passemant CA, Davidowitz G. 2015. How and when do insects rely on endogenous protein and lipid resources during lethal bouts of starvation? A new application for ¹³C-breath testing. *PLoS One* 10:e0140053.
- Miliordos DEN, Athanassiou CG, Tsiropoulos NG, Nakas CT. 2017. Persistence and efficacy of indoxacarb against three stored product insect species on wheat and maize. *Journal of Stored Products Research* 73:74–86.

- Montella IR, Martins AJ, Viana-Medeiros PF, Lima JB, Braga IA, Valle D. 2007. Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. *Am J Trop Med Hyg* 77:467–477.
- Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dusfour I, Corbel V, David JP. 2017. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11(7):e0005625.
- Murcia O, Henríquez M, Castro A, González M. 2019. Presence of the point mutations Val1016Gly in the voltage-gated sodium channel detected in a single mosquito from Panama. *Parasites & Vectors* 12:300.
- Muthusamy R, Shivakumar MS. 2015. Susceptibility status of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to temephos from three districts of Tamil Nadu, India. *J Vector Borne Dis* 52:159–165.
- Nagy K, Duca RC, Lovas S, Creta M, Scheepers PTJ, Godderis L, Adam B. 2020. Systematic review of comparative studies assessing the toxicity of pesticide active ingredients and their product formulations. *Environ Res* 181:108926.
- Naksathit AT, Edman JD, Scott TW. 1999a. Amounts of glycogen, lipid, and sugar in adult female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) fed sucrose. *Journal of Medical Entomology* 36:8–12.
- Naksathit AT, Edman JD, Scott TW. 1999b. Utilization of human blood and sugar as nutrients by female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 36:13–17.
- Nauen R, Bretschneider T, Brueck E, Elbert A, Reckmann U, Wachendorff U, Tiemann R. 2002. BSN 2060: A novel compound for whitefly and spider mite control. *Proc Brighton Crop Prot Conf—Pests Dis* 1:39–44.
- Nauen R, Ebbinghaus-Kintscher U, Salgado VL, Kaussmann M. 2003. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 76:55–69.
- Nauen R. 2005a. Spirodiclofen: mode of action and resistance risk assessment in tetranychid pest mites. *Journal of Pesticide Science* 30:272–274.

- Nauen R, Konanz S. 2005b. Spiromesifen as a new chemical option for resistance management in whiteflies and spider mites. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58:485–502.
- Nauen R, Schnorbach HJ, Elbert A. 2005c. The biological profile of spiromesifen (Oberon®), a new tetrone acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58:417–440.
- Nazli H, Butt A. 2020. Comparative study of two synthetic insecticides spiromesifen and thiamethoxam to determine their acute and residual toxicity against lynx spider (*Oxyopes javanus*). *Punjab Univ J Zool* 35:135–146.
- Niki E. 2009. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology and Medicine* 47:469–484.
- Oxborough RM, N’Guessan R, Kitau J, Tungu PK, Malone D, Mosha FW, Rowland MW. 2015. A new class of insecticide for malaria vector control: evaluation of mosquito nets treated singly with indoxacarb (oxadiazine) or with a pyrethroid mixture against *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus*. *Malaria Journal* 14:1–8.
- Palmquist K, Salatas J, Fairbrother A. 2012. Pyrethroid insecticides: use, environmental fate, and ecotoxicology. In *Insecticides - Advances in Integrated Pest Management*. Perveen F. (ed). InTech, pp. 251–278.
- Paul A, Harrington LC, Scott JG. 2006. Evaluation of novel insecticides for control of dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 43:55–60.
- Pethuan S, Jirakanjanakit N, Saengtharatip S, Chareonviriyaphap T, Kaewpa D, Rongnoparut P. 2007. Biochemical studies of insecticide resistance in *Aedes* (Stegomyia) *aegypti* and *Aedes* (Stegomyia) *albopictus* (Diptera: Culicidae) in Thailand. *Trop Biomed* 24:7–15.
- Plata-Rueda A, Martínez LC, Costa NCR, Zanuncio JC, de Sena Fernandes ME, Serrão JE, Fernandes FL. 2019. Chlorantraniliprole-mediated effects on survival, walking abilities, and respiration in the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172:53–58.

- Ponce-García, G., Flores, A. E., Fernández-Salas, I., Saavedra-Rodríguez, K., Reyes-Solis, G., Lozano-Fuentes, S., y Domínguez-Galera, M. (2009). Recent rapid rise of a permethrin knock down resistance allele in *Aedes aegypti* in Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3(10).
- Rahmani R, Bandani AR. 2015. Esterase profile changes in ladybeetle, *Hippodamia variegata* Goeze (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey, *Aphis fabae* Scop. (Homoptera: Aphididae) affected by two insecticides, thiamethoxam and pirimicarb. *Molecular Entomology* 6:1–10.
- Ranjith HV, Sagar D, Kalia VK, Dahuja A, Subramanian S. 2023. Differential activities of antioxidant enzymes, superoxide dismutase, peroxidase, and catalase vis-à-vis phosphine resistance in field populations of lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica*) from India. *Antioxidants* 12:270.
- Ranson H, Burhani J, Lumjuan N, Black WC IV. 2010. Insecticide resistance in dengue vectors. *TropIKA.net* 1:1–12.
- Rodríguez Cruz R. 2002. Estrategias para el control del dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54:189–201.
- Saavedra-Rodriguez K, Beaty M, Lozano-Fuentes S, Denham S, Garcia-Rejon J, Reyes-Solis G, Machain-Williams C, Loroño-Pino MA, Flores-Suarez A, Ponce-Garcia G, Beaty B, Eisen L, Black WC IV. 2015. Local evolution of pyrethroid resistance offsets gene flow among *Aedes aegypti* collections in Yucatan State, Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 92:201–209.
- Saavedra-Rodriguez K, Campbell CL, Lenhart A, Penilla P, Lozano-Fuentes S, Black WC IV. 2019. Exome-wide association of deltamethrin resistance in *Aedes aegypti* from Mexico. *Insect Mol Biol* 28:591–604.
- Saavedra-Rodríguez K, Flores Suarez A, Fernández Salas I, Strode C, Ranson H, Hemingway J, Black WC IV. 2012. Transcription of detoxification genes after permethrin selection in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Mol. Biol.* 21:61–77.
- Saavedra-Rodriguez K, Maloof FV, Campbell CL, Garcia-Rejon J, Lenhart A, Penilla P, Rodriguez A, Sandoval AA, Flores AE, Ponce G, Lozano S, Black WC. 2018. Parallel evolution of vgsc mutations at domains IS6,

IIS6 and IIS6 in pyrethroid resistant *Aedes aegypti* from Mexico. Scientific Reports 8:6747.

Saavedra-Rodriguez K, Strode C, Flores-Suarez A, Fernandez-Salas I, Ranson H, Hemingway J, Black WC IV. 2008. QTL mapping of gene regions controlling permethrin resistance in the mosquito *Aedes aegypti*. Genetics 180:1137–1152.

Saavedra-Rodriguez, K., Urdaneta-Marquez, L., Rajatileka, S., Moulton, M., Flores, A. E., Fernandez-Salas, I., y Ranson, H. 2007. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. Insect molecular biology 16(6), 785-798.

Sak O, Uckan F, Ergin E. 2006. Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Belgian Journal of Zoology 136:53–58.

Schechtman H, Valle D, Souza MO. 2020. From resistance to persistence: insights of a mathematical model on the indiscriminate use of insecticide. PLOS Neglected Tropical Diseases 14:e0008862.

Secretaría de Salud. 2003. NOM-032-SSA2-2002, para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores. Diario Oficial de la Federación: México. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_to_doc.php?codnota=693223

Secretaría de Salud. 2011. NOM-032-SSA2-2010, para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores. Diario Oficial de la Federación. Disponible en: <https://www.gob.mx/salud/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-032-ssa2-2010>

Secretaría de Salud. 2015. NOM-032-SSA2-2014, para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores. Diario Oficial de la Federación: México. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5389045&fecha=16/04/2015

- Siller, Q., Ponce, G., Lozano, S., y Flores, A. E. 2011. Update on the frequency of Ile1016 mutation in voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* in Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association* 27(4), 357-363.
- Silva ERMN, Santos LV, Caiado MS, Hastenreiter LSN, Fonseca SRR, Carbajal-de-la-Fuente AL, Carvalho MG, Pontes EG. 2021. The influence of larval density on triacylglycerol content in *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 106:e21757.
- Smina AH, Samira B, Mohamed D, Houria B. 2016. Evaluation of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and catalase activities in the land snail *Helix aspersa* exposed to thiamethoxam. *J Ent Zool* 4:369–374.
- Smith HA, Nagle CA, MacVean CA, McKenzie CL. 2016. Susceptibility of *Bemisia tabaci* MEAM1 (Hemiptera: Aleyrodidae) to imidacloprid, thiamethoxam, dinotefuran and flupyradifurone in south Florida. *Insects* 7:57.
- Solís-Santoyo F, Rodríguez AD, Black W, Saavedra-Rodríguez K, Sánchez-Guillén D, Castillo-Vera A, González-Gómez R, López-Solis AD, Penilla-Navarro RP. 2023. Current enzyme-mediated insecticide resistance status of *Aedes aegypti* populations from a dengue-endemic city in southern Mexico. *Salud Publica Mex* 65:19–27.
- Solis-Santoyo F, Rodriguez AD, Penilla-Navarro RP, Sanchez D, Castillo-Vera A, Lopez-Solis AD, Vazquez-Lopez ED, Lozano S, Black WC IV, Saavedra-Rodriguez K. 2021. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* from Tapachula, Mexico: Spatial variation and response to historical insecticide use. *PLoS Negl Trop Dis* 15:e0009746.
- Sparks TC, Nauen R. 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic. Biochem. Physiol.* 121:122–128.
- Srisawat, R., Komalamisra, N., Eshita, Y., Zheng, M., Ono, K., Itoh, T. Q., y Rongsriyam, Y. 2010. Point mutations in domain II of the voltage-gated sodium channel gene in deltamethrin-resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Applied Entomology and Zoology* 45(2), 275-282.

- Sun X, Gong Y, Ali S, Hou M. 2018. Mechanisms of resistance to thiamethoxam and dinotefuran compared to imidacloprid in the brown planthopper: roles of cytochrome P450 monooxygenase and a P450 gene CYP6ER1. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 150:17–26.
- Terán Zavala M, Rodríguez Coto M, Leyva R, Yanelys, Bisset J, Lazcano. 2014. Evaluación de temefos y pyriproxifeno en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Guayaquil, Ecuador. *Rev Cubana Med Trop* 66:71–83.
- Tose LV, Weisbrod CR, Michalkova V, Nouzova M, Noriega FG, Fernandez LF. 2021. Following de novo triglyceride dynamics in ovaries of *Aedes aegypti* during the previtellogenic stage. *Scientific Reports* 11:9636.
- Troy S, Anderson WA, Spielman A. 1975. Lipid content of maturing ovaries of *Aedes aegypti*. *Comp Biochem Physiol B* 50:457–461.
- Tucuch-Haas JI, Silva-Aguayo G, Rodríguez-Maciel JC. 2020. Oviposition of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) on *Capsicum chinense* (Jacq) treated with spiromesifen or spirotetramat. *Revista Fitotecnia Mexicana* 43:317–323.
- Uragayala S, Verma V, Natarajan E, Velamuri PS, Kamaraju R. 2015. Adulticidal & larvicidal efficacy of three neonicotinoids against insecticide susceptible & resistant mosquito strains. *Indian Journal of Medical Research* 142(Suppl 1):S64–S70.
- Uragayala S, Verma V, Natarajan E, Velamuri PS, Kamaraju R. 2015. Adulticidal & larvicidal efficacy of three neonicotinoids against insecticide susceptible & resistant mosquito strains. *Indian Journal of Medical Research* 142(Suppl 1):S64–S70.
- Valle D, Montella IR, Ribeiro RA, Viana-Medeiros PF, Martins-Júnior AJ, Lima JBP. 2006. Metodologia para quantificação de atividade de enzimas relacionadas com a resistência a inseticidas em *Aedes aegypti*/Quantification methodology for enzyme activity related to insecticide resistance in *Aedes aegypti*. Rio de Janeiro, Brasília: Fundação Oswaldo Cruz, Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde.
- Van Handel E, Day JF. 1988. Assay of lipids, glycogen and sugars in individual mosquitoes: Correlations with wing length in field-collected *Aedes vexans*. *J Am Mosq Control Assoc* 4:549–550.

- Van Handel E. 1976. Microseparation of glycogen, sugars, and lipids. *Anal Biochem* 11:266–271.
- Van Handel E. 1985a. Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 1:299–301.
- Van Handel E. 1985b. Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 1:302–304.
- Van Handel E. 1993. Fuel metabolism of the mosquito (*Culex quinquefasciatus*) embryo. *Journal of Insect Physiology* 39:831–833.
- Vera-Maloof, F. Z., Saavedra-Rodriguez, K., Elizondo-Quiroga, A. E., Lozano-Fuentes, S., y Black IV, W. C. 2015. Coevolution of the Ile1, 016 and Cys1, 534 mutations in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* in Mexico. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9(12).
- Villanueva-Segura OK, Ontiveros-Zapata KA, Lopez-Monroy B, Ponce-Garcia G, Gutierrez-Rodriguez SM, Davila-Barboza JA, Mora-Jasso EJ, Flores AE. 2019. Distribution and frequency of the kdr mutation v410I in natural populations of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) from eastern and southern Mexico. *Journal of Medical Entomology* 57:218-223.
- Wang XG, Gao XW, Liang P, Shi XY, Song DL. 2016. Induction of cytochrome P450 activity by the interaction of chlorantraniliprole and sinigrin in the *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology* 45:500–507.
- Weeratunga P, Rodrigo C, Fernando SD, Rajapakse S. 2017. Control methods for *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Cochrane Database Syst Rev* 2017(8):CD012759.
- Williamson MS, Martinez-Torres D, Hick CA, Devonshire AL. 1996. Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. *Molecular and General Genetics MGG* 252:51–60.
- Wilson AL, Courtenay O, Kelly-Hope LA, Scott TW, Takken W, Torr SJ, Lindsay SW. 2020. The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. *PLoS Negl Trop Dis* 14:e0007831.

- Wing KD, Sacher M, Kagaya Y, Tsurubuchi Y, Mulderig L, Connair M, Schnee M. 2000. Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection* 19:537–545.
- Wong ML, Zulzahrin Z, Vythilingam I, Lau YL, Sam IC, Fong MY, Lee WC. 2023. Perspectives of vector management in the control and elimination of vector-borne zoonoses. *Front Microbiol* 14:1135977.
- World Health Organization (WHO). 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69101>
- World Health Organization (WHO). 2012. Handbook for Integrated Vector Management. Geneva: WHO. Disponible en: <https://iris.who.int/handle/10665/44768>
- World Health Organization (WHO). 2016. Monitoring and Managing Insecticide Resistance in *Aedes* Mosquito Populations. Interim Guidance for Entomologists. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-ZIKV-VC-16.1>
- World Health Organization (WHO). 2019. WHO prequalification of vector control products: Ensuring quality and performance. World Health Organization. Disponible en: <https://extranet.who.int/prequal/vector-control-products>
- World Health Organization (WHO). 2022. Standard Operating Procedure for Evaluating the Sterilizing Properties of Pyriproxyfen in Adult Female Mosquitoes in WHO Bottle Bioassays. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240043794>
- World Health Organization (WHO). 2024. Vector-borne diseases. WHO Fact Sheet, 26 September 2024. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
- Yadav K, Dhiman S, Acharya BN, Ghorpade RR, Sukumaran D. 2019. Pyriproxyfen treated surface exposure exhibits reproductive disruption in dengue vector *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* 13:e0007842.
- Yanola, J., Somboon, P., Walton, C., Nachaiwieng, W., y Prapanthadara, L. A. 2010. A novel F1552/C1552 point mutation in the *Aedes aegypti*

voltage-gated sodium channel gene associated with permethrin resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 96(3), 127-131.

Yu SJ. 2015. *The toxicology and biochemistry of insecticides*. 2 Edición. CRC Press: New York, pp. 248.

Zarzoliani SR, Mohapatra SS, Sinha A. 2023. A review on toxicity induced by the insecticide indoxacarb. *Pharma Innovation* 12:2730.

Zhang DW, Xiao ZJ, Zeng BP, Li K, Tang YL. 2019. Insect behavior and physiological adaptation mechanisms under starvation stress. *Frontiers in Physiology* 10:163.

Ziegler R, Ibrahim MM. 2001. Formation of lipid reserves in fat body and eggs of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology* 47:623–627.