



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Medicina Humana

Influencia de la radiación ultravioleta y el *Bacillus thuringiensis* en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti*

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médicos Cirujanos

AUTORES

Silvana Lucero LOLI GUEVARA

Marlon Jean Paul PÉREZ ORELLANA

ASESORES

Mg. Pedro Gustavo VALENCIA VÁSQUEZ

Mg. Mario ALCARRAZ CURI (Coasesor)

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Loli S, Pérez M. Influencia de la radiación ultravioleta y el *Bacillus thuringiensis* en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Medicina Humana; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor 1	
Nombres y apellidos	Silvana Lucero Loli Guevara
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	73330104
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-7586-5146
Datos de autor 2	
Nombres y apellidos	Marlon Jean Paul Pérez Orellana
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46451261
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0007-8227-5241
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Pedro Gustavo Valencia Vásquez
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08003003
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-7356-1552
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Mario Alcarraz Curi
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	31159746
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-5262-2969
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Hernán Arturo Sanabria Rojas
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10477044

Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Vilma Ruth Béjar Castillo
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08864601
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Máximo Manuel Espinoza Silva
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08778815
Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica.
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento
Ubicación geográfica de la investigación	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Latitud -12.05819215 Longitud -77.0189181894387
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Febrero 2022 - Agosto 2023
URL de disciplinas OCDE	Enfermedades tropicales https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.08 Medicina tropical https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.06



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
FACULTAD DE MEDICINA



ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



Firmado digitalmente por
FERNÁNDEZ GIUSTI VDA DE PELLA
Alicia Jesus FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 04.09.2023 17:00:04 -05:00

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD PRESENCIAL
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICOS CIRUJANOS**

Siendo las 10:00 horas del cuatro de setiembre del año dos mil veintitrés, en el Aula Virtual N° 1 de la Sección de Fisiología de la Facultad de Medicina, se reunió el Jurado integrado por los Doctores: Hernán Arturo Sanabria Rojas (Presidente), Vilma Ruth Béjar Castillo (Miembro), Máximo Manuel Espinoza Silva (Miembro) y Pedro Gustavo Valencia Vásquez (Asesor).

Se realizó la exposición de la tesis titulada: **"INFLUENCIA DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y EL BACILLUS THURINGIENSIS EN EL CICLO DE VIDA DE LAS LARVAS DE AEDES AEGYPTI"** presentado por los Bachilleres **Silvana Lucero Loli Guevara y Marlon Jean Paul Pérez Orellana**, para optar el Título Profesional de Médicos Cirujanos habiendo obtenido el calificativo de **DIECINUEVE**..... (19).

Dr. Hernán Arturo Sanabria Rojas
Presidente

Mg. Vilma Ruth Béjar Castillo
Miembro

ME. Máximo Manuel Espinoza Silva
Miembro

Mg. Pedro Gustavo Valencia Vásquez
Asesor



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA
Escuela Profesional de Medicina Humana

.....
DRA. ANA ESTELA DELGADO VÁSQUEZ
Directora



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo **Pedro Gustavo Valencia Vásquez** en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° **001655-2023-D-FM/UNMSM** de la tesis, cuyo título es **“INFLUENCIA DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y EL *BACILLUS THURINGIENSIS* EN EL CICLO DE VIDA DE LAS LARVAS DE *AEDES AEGYPTI*”**, presentado por los bachilleres **Silvana Lucero Loli Guevara** y **Marlon Jean Paul Pérez Orellana** para optar el Título Profesional de Médicos Cirujanos.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de **8%** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.

Firma del Asesor

DNI: 08003003

Pedro Gustavo Valencia Vásquez

06/09/2023.



DEDICATORIA

Todo logro se lo dedico a mi familia, especialmente a mis padres, Silvia Guevara Estrada y Carlos A. Loli Zegarra, por su apoyo incondicional siempre, y sobre todo en estos siete años. Ustedes me han permitido cumplir mi sueño hoy.

A mis hermanos, Angello y Fabrizio, por motivarme a no rendirme nunca.

También a las generaciones que nos vieron crecer, a mis abuelos, aunque no todos nos sigan acompañando, sé que nos cuidan desde algún lugar y nunca los olvidaremos.

Silvana Lucero Loli Guevara

A mis padres, Nancy Orellana y Marlon Pérez, por permitirme dedicarle tiempo y esfuerzo a esta investigación para culminar mi carrera.

A mis hermanos, Gianfranco Pérez y Gianina Pérez, por su apoyo incondicional y motivación para seguir adelante.

Marlon Jean Paul Pérez Orellana

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por permitirnos llegar hasta aquí y cumplir el objetivo de graduarnos como médicos cirujanos en nuestra querida casa de estudios San Fernando.

A nuestro asesor, el Dr. Pedro Valencia, por depositar toda su confianza y apoyo en nosotros para construir y ejecutar este proyecto.

Agradecemos también al personal del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por permitirnos usar sus instalaciones para llevar a cabo nuestra investigación durante estos meses. Sobre todo, al Lic. Paul Romero, por todo su apoyo en el Insectario 1.

Así también, a nuestro coasesor, el Mg Mario Alcarraz, y a su equipo en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de nuestra universidad por ayudarnos a obtener las cepas de *Bacillus thuringiensis* necesarias para nuestro estudio.

Finalmente, a los profesores de la Facultad de Ciencias Físicas, especialmente al Dr. Eduardo Villarreyes, también de nuestra Alma Mater, por su buena disposición a apoyarnos y explicarnos los fundamentos de la exposición a radiación ultravioleta.

Este trabajo no hubiese sido posible sin todos ustedes.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Planteamiento y delimitación del problema.....	1
1.2 Objetivos.....	4
1.3 Hipótesis	5
1.4 Justificación de la investigación.....	5
2 MARCO TEÓRICO	7
2.1 Antecedentes	7
2.2 Bases teóricas	12
2.2.1 <i>Aedes aegypti</i>	12
2.2.2 Resistencia del <i>Aedes aegypti</i> a los insecticidas.....	15
2.2.3 <i>Bacillus thuringiensis</i>	17
2.2.4 Radiación ultravioleta	20
3. MÉTODOS	21
3.1 Diseño de estudio.....	21
3.2 Variables	21
3.3 Unidad de análisis	22
3.4 Espacio y condiciones del ambiente	22
3.5 Población, muestra y muestreo del estudio	24
3.6 Crianza y eclosión de <i>Aedes</i>	25
3.7 Aleatorización.....	27
3.8 Obtención del <i>Bacillus thuringiensis</i>	27
3.9 Preparación del complejo espora-cristal del <i>Bacillus thuringiensis</i>	28
3.10 Recuento de esporas del cultivo.....	29
3.11 Cálculo de las concentraciones de esporas	30
3.11.1 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> comercial (Btk-c).....	30
3.11.2 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> y var. <i>israelensis</i> de laboratorio (Btk-l y Bti)	31
3.12 Grupos experimentales	31

3.13	Inoculación del <i>Bacillus thuringiensis</i> a las larvas de <i>A. aegypti</i>	35
3.14	Exposición a la radiación ultravioleta	35
3.15	Recolección de datos	37
3.16	Técnica e instrumentos	37
3.17	Análisis e interpretación de datos.....	38
3.18	Aspectos éticos.....	40
4	RESULTADOS	41
5	DISCUSIÓN	51
6	CONCLUSIONES.....	63
7	RECOMENDACIONES	64
	BIBLIOGRAFÍA	65
	ANEXOS.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Desenlaces por grupo a 6 diferentes concentraciones de Btk-comercial (esp/ml) en larvas del estadio III-IV de <i>Aedes aegypti</i>	42
Tabla 2 Número promedio de larvas muertas del III-IV estadio de <i>Aedes aegypti</i> , expuestas a diferentes concentraciones de <i>Bacillus thuringiensis</i> (esp/ml) evaluadas cada 2 horas y diariamente	43
Tabla 3 Análisis de Varianza para la mortalidad de larvas del III-IV estadio de <i>Aedes aegypti</i> expuestas a diferentes concentraciones de Btk-c en condiciones de laboratorio	45
Tabla 4 Comparación de distintas concentraciones de <i>Bacillus thuringiensis</i> kurstaki comercial frente a cantidad de larvas muertas de estadio III-IV de <i>Aedes aegypti</i> mediante la prueba Tukey.....	45
Tabla 5 Desenlaces por grupo de Btk-comercial (esp/ml) expuesto y no expuesto a la radiación UV en larvas del estadio III-IV de <i>Aedes aegypti</i>	47
Tabla 6 Número promedio de larvas muertas del III-IV estadio de <i>Aedes aegypti</i> , expuestas a diferentes concentraciones de Btk-c previamente expuesto a UV, evaluadas cada 2 horas y diariamente	49
Tabla 7 Características de la afectación del Btk-c en cada estadio del ciclo de vida del <i>Aedes aegypti</i>	79
Tabla 8 Dosis letales (esporas/mL) al 50% (DL50) y 90% (DL90) de <i>Bacillus thuringiensis</i>	79
Tabla 9 Desenlaces de las larvas en estadio III-IV de <i>A. aegypti</i> con Btk-c previamente expuesto a UV.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ciclo de vida del <i>Aedes aegypti</i>	15
Figura 2 Ciclo de vida del mosquito de <i>Aedes aegypti</i> en relación con una fuente de agua.....	15
Figura 3 Mecanismo de acción de las toxinas Cry y Cit del <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre las larvas de <i>Aedes aegypti</i>	18
Figura 4 Adulto con envoltura pupal, pupas y larva.	21
Figura 5 Edificio donde se ubica el área de Entomología Médica del Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" – UNMSM.	22
Figura 6 Áreas del insectario 1, donde se realizó el experimento.	23
Figura 7 Ambiente de maduración larvaria del insectario donde se realizaron los experimentos.	23
Figura 8 Ovoteca donde se almacenaron los huevos de <i>Aedes aegypti</i> hasta su eclosión.....	24
Figura 9. Eclosión de huevos de <i>Aedes aegypti</i>	26
Figura 10 Táper correspondiente a una réplica observada en el día 10 de su conteo diario luego de empezada la mortalidad larvaria.....	26
Figura 11 Crianza de las pupas y los adultos de <i>Aedes aegypti</i> en una jaula preparada con Tecnopor y organza, luego del conteo diario de los grupos experimentales.....	26

Figura 12	Conteo diario de larvas, pupas y los adultos vivos y muertos en taperes de los grupos experimentales.	26
Figura 13	Aparato de aleatorización para la selección de larvas del III-IV estadio con demarcación de cuadrantes del 1 al 9.....	27
Figura 14	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i> comercial utilizado.....	28
Figura 15	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i> y <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> de laboratorio.	28
Figura 16	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i> comercial, pesaje previo uso.....	29
Figura 17	Imagen de las esporas evaluadas en el microscopio para su conteo por campo.	30
Figura 18	Rotulación utilizada para cada taper (réplica) de los grupos experimentales.....	33
Figura 19.	Inoculación del <i>Bacillus thuringiensis</i> a cada réplica midiendo su volumen con una pipeta.	35
Figura 20.	Características de la irradiancia emitida por el IRUVAB a 18 cm de la fuente de luz, medidas por el radioespectrofotómetro.....	36
Figura 21	IRUVAB conectado a radioespectrofotómetro para medición de la irradiancia UVA-B emitida en la cámara a 18 cm de la fuente de la lámpara UV.	36
Figura 22	Inspección del correcto funcionamiento del IRUVAB en el ambiente del insectario.....	37
Figura 23	Acción del Btk-c en larvas de <i>A. aegypti</i> a diferentes concentraciones.....	42
Figura 24	Larvas muertas en el tiempo con Btk-c a 6 concentraciones de esporas/ml	43
Figura 25	Larvas muertas en el tiempo con Btk-l a 3 concentraciones de esporas/ml	44
Figura 26	Larvas muertas en el tiempo con Bti a 3 concentraciones de esporas/ml.	44
Figura 27	Acción del Btk-c expuesto y no expuesto a la radiación UV.....	48
Figura 28	Larvas muertas en el tiempo con Btk-c con y sin exposición a UV.....	50

RESUMEN

Introducción: El uso indiscriminado de insecticidas químicos para reducir la propagación de *Aedes aegypti* ha generado resistencia en el vector y un impacto ambiental considerable. Por ello, insecticidas biológicos como el *Bacillus thuringiensis* toman mayor importancia. **Objetivo:** Determinar el efecto del *Bacillus thuringiensis* y el *Bacillus thuringiensis* expuesto a la radiación ultravioleta en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti*. **Metodología:** Estudio experimental aleatorizado en larvas de *Aedes aegypti*, expuestas a diferentes concentraciones de *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial (Btk-c), *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio (Btk-l) y *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio (Bti), además de Btk-c previamente expuesto a UV (Btkc-UV). **Resultados:** Se demostró un mayor efecto del Btk-c conforme aumentó la concentración. Además, desde 15 600 esp/ml se alcanzó la muerte total entre el estadio larval y posteriores, evitándose así su pase a adulto vivo. Btk-c mostró una mayor mortalidad en comparación con el Btk-l y Bti. La radiación UV disminuyó la actividad larvicida de Btk-c con la concentración indicada por el distribuidor (7800 esp/ml) en 29.2%; y al usar el doble de concentración, en un 25%. Sin embargo, solo se registró un aumento de adultos vivos en 0.9% con la concentración de 7800 esp/ml expuesta. Con el resto de las concentraciones, la radiación UV no inactivó el Btk-c lo suficiente como para registrar algún adulto vivo. Finalmente, la radiación UV aumentó el tiempo para alcanzar niveles de mortalidad comparables a la concentración de Btk-c no expuesta a UV. **Conclusiones:** El presente estudio demostró la acción biológica del Btk-c contra larvas de estadio III-IV y su desarrollo a adultos de *Aedes aegypti*. No obstante, en el grupo de Btkc-UV a la dosis indicada por el distribuidor, el efecto larvicida fue menor. Recalamos la importancia del uso correcto del Btk-c para el control vectorial en salud pública.

Palabras clave: *Aedes*, *Bacillus thuringiensis*, Rayos Ultravioleta, Mortalidad (DeCS)

ABSTRACT

Background: The indiscriminate use of chemical insecticides to reduce the spread of *Aedes aegypti* has generated resistance in the vector and a considerable environmental impact. Therefore, biological insecticides such as *Bacillus thuringiensis* are becoming more important. **Objective:** To determine the effect of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus thuringiensis* exposed to ultraviolet radiation on the life cycle of *Aedes aegypti* larvae. **Methodology:** Randomized experimental study on *Aedes aegypti* larvae exposed to different concentrations of commercial *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Btk-c), laboratory *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Btk-l) and laboratory *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), in addition to Btk-c previously exposed to UV (Btkc-UV). **Results:** A greater effect of Btk-c was demonstrated as the concentration increased. In addition, from 15 600 sp/ml, total death was achieved between the larval stage and later stages, thus preventing their passage to live adults. Btk-c showed higher mortality compared to Btk-l and Bti. UV radiation decreased the larvicidal activity of Btk-c with the concentration indicated by the distributor (7800 sp/ml) by 29.2%; and when using twice the concentration, by 25%. However, there was only a 0.9% increase in live adults with the 7800 sp/ml concentration exposed. With the other concentrations, UV radiation did not inactivate Btk-c sufficiently to record any live adults. Finally, UV radiation increased the time to reach mortality levels comparable to the concentration of Btk-c not exposed to UV. **Conclusions:** The present study demonstrated the biological action of Btk-c against stage III-IV larvae and their development to adults of *Aedes aegypti*. However, in the Btkc-UV group at the dose indicated by the distributor, the larvicidal effect was lower. We emphasize the importance of the correct use of Btk-c for vector control in public health.

Keywords: *Aedes*, *Bacillus thuringiensis*, Ultraviolet Rays, Mortality (MeSH)

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento y delimitación del problema

Las enfermedades transmitidas por vectores como los mosquitos se encuentran entre las de mayor prevalencia entre los humanos. El *Aedes aegypti*, es el principal vector asociado a los cuatro serotipos del virus dengue. Además de contar con el potencial transmisor de enfermedades como la fiebre amarilla, fiebre del zika, fiebre del Nilo occidental, y fiebre chikunguya (1).

La propagación del virus del Dengue se lleva a cabo a través de la hembra del mosquito *Aedes aegypti*. La cual luego de alimentarse de la sangre de una persona infectada, transporta el virus en su organismo, y al volver a alimentarse de una persona sana, transmite la enfermedad (2).

Es importante destacar que el *Aedes aegypti* es un mosquito de hábitat doméstico, se puede encontrar en recipientes que acumulan agua durante periodos prolongados, como tanques, pozos y cilindros. El seguimiento del *Aedes aegypti* a nivel nacional ha permitido detectar el vector en 22 de las 25 regiones del Perú. Así como en 95 de las 196 provincias (47%) y 538 de los 1874 distritos (28%). A través del seguimiento de casos de enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti*, podemos considerar las regiones con mayor infestación a las que tuvieron mayor cantidad de casos de dengue, como lo son Ucayali, Huánuco, Cajamarca, Cusco, San Martín, Piura, Junín y Loreto, información que se renueva diariamente a través de la sala situacional, gestionada por el Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades del Perú (11).

En ciertas áreas de Lima, se presentan condiciones propicias para la proliferación de este mosquito, como el crecimiento urbano no

planificado y la falta de saneamiento ambiental. Estos factores, junto con las condiciones climáticas favorables durante las estaciones de verano, contribuyen a la proliferación del mosquito *Aedes aegypti* en dichas zonas (2). El ciclo biológico del mosquito *Aedes aegypti* consta de dos etapas: una fase acuática, que incluye los estados de huevo, larva y pupa, y una fase aérea, en la cual el mosquito alcanza su forma adulta.

El control del Aedes hoy en día se basa principalmente en el uso de plaguicidas y fumigación espacial para reducir la densidad de mosquitos adultos y larvas. Ya que no existe un tratamiento específico para el dengue y la vacuna Dengvaxia no tiene una adecuada cobertura a nivel mundial (6).

Durante varias décadas, se ha recurrido al uso de sustancias químicas, como los insecticidas piretroides, organofosforados, carbamatos y organoclorados, para reducir la propagación del mosquito *Aedes aegypti*. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos contamina el ambiente debido a su prolongado efecto residual. Los insecticidas utilizados actualmente tienen la tendencia de acumularse en el medio ambiente, ocasionando la muerte de otras especies y perturbando el equilibrio de la cadena alimentaria. Además, su amplio uso en el control del dengue ha conllevado al desarrollo de resistencia en el vector, y esto deviene en un desafío de encontrar nuevas formas de control (3–5).

La resistencia a los insecticidas ya es un problema a nivel mundial (4). Se ha reportado una alta resistencia a Deltametrina (piretroide) en Brasil y la Guayana Francesa, por citar algunos ejemplos en Sudamérica. Además, la resistencia al Temefos (organofosforado) se ha reportado en Brasil, la Guayana Francesa y el Caribe (7,8).

En países como Brasil, Argentina, México y Cuba, se ha implementado el uso de controladores biológicos basados en hongos y bacterias como una alternativa para reemplazar los

plaguicidas químicos. Uno de estos agentes biológicos es la bacteria *Bacillus thuringiensis* (1,2).

Es por ello que la incorporación gradual de controladores biológicos en los programas de control del mosquito *Aedes aegypti* es de gran importancia, ya que representan una opción más sustentable y respetuosa con el entorno, en el control de *Aedes aegypti* (1).

La combinación de insecticidas con una sustancia sinérgica en concentraciones adecuadas parece ayudar a contrarrestar la resistencia a los insecticidas y maximizar su eficacia (4,9). También se puede considerar una combinación de estrategias biológicas y no biológicas en controlar estos vectores, no solo en la fase de adultos, sino también en la de larvas. Algunas formas biológicas son el pez larvívoro *Poecilia reticulata*, y la bacteria entomopatógena, *Bacillus thuringiensis israelensis*, para destruir el revestimiento intestinal de las larvas de mosquitos y la bacteria *Wolbachia*, que causa esterilidad a través de incompatibilidad citoplasmática (7,10).

En varios programas de control de mosquitos, se ha comprobado la eficacia de *Bacillus thuringiensis* contra muchas especies, y han demostrado también ser amigables con el medio ambiente. Ya que este agente biológico ha sido ampliamente utilizado en muchos países tropicales y europeos contra los mosquitos que aparecen más en las inundaciones y los deshielos, y ha logrado controlarlos a través de la aplicación de varias toneladas de diversas formulaciones cada año (9).

Una serie de problemas ambientales y factores biológicos juegan un papel importante en la eficacia del *Bacillus thuringiensis*. La experiencia con el tratamiento de rutina ha demostrado que una dosis apropiada para cada situación específica tiene efectos tanto ecológicos como económicos (4,9). Por lo que deben conocerse las condiciones específicas en las que se trabajará con *Bacillus thuringiensis* (Bt), con el fin de que su efectividad sea la máxima posible.

Considerando que el *Aedes aegypti* tiene predilección por los ambientes calurosos y con altos grados de exposición a ultravioleta, el presente trabajo busca evaluar la influencia del *Bacillus thuringiensis* y el *Bacillus thuringiensis* expuesto a la radiación ultravioleta en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti*.

1.2 Objetivos

Objetivo General

- Determinar el efecto del *Bacillus thuringiensis* y el *Bacillus thuringiensis* expuesto a la radiación ultravioleta en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti* expuestas.

Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial como agente larvicida e inhibidor de adultos vivos del *Aedes aegypti*, mediante la comparación de seis concentraciones diferentes.
- Comparar el efecto del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial frente a las cepas de laboratorio *Bacillus thuringiensis kurstaki* y *Bacillus thuringiensis israelensis*, como agentes larvicidas del *Aedes aegypti*, mediante tres concentraciones diferentes.
- Evaluar el efecto del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial, expuesto previamente a radiación ultravioleta, como agente larvicida e inhibidor de adultos vivos del *Aedes aegypti*, mediante la comparación de tres concentraciones expuestas diferentes.

1.3 Hipótesis

Hipótesis general

- El *Bacillus thuringiensis*, y el *Bacillus thuringiensis* expuesto a la radiación ultravioleta modifican el ciclo de vida del *Aedes aegypti*, mediante un efecto larvicida e inhibidor de adultos vivos.

Hipótesis específicas

- Hipótesis específica 1
 - El *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial tiene efecto larvicida e inhibidor de adultos vivos del *Aedes aegypti*.
- Hipótesis específica 2
 - El efecto del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial es mayor al de las cepas de laboratorio *Bacillus thuringiensis kurstaki* y *Bacillus thuringiensis israelensis*, como agente larvicida del *Aedes aegypti*.
- Hipótesis específica 3
 - El *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial, expuesto previamente a radiación ultravioleta, tiene un menor efecto larvicida e inhibidor de adultos vivos del *Aedes aegypti*, en comparación con el *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial no expuesto.

1.4 Justificación de la investigación

El dengue genera alrededor de 390 millones de casos al año, resultando en un problema de salud pública (1,2). Los casos de chikunguya, zika y fiebre amarilla se han propagado también durante la última década. Lo cual puede fundamentarse por factores

que permiten la dispersión y proliferación del *Aedes aegypti*, como el sobrecalentamiento global, el aumento de la densidad poblacional, la implementación ineficaz de los programas de control vectorial, de abastecimiento de agua y gestión de desechos (4,5). En el actual contexto del cambio climático asociado al Fenómeno del Niño, estas patologías infecciosas metaxénicas se convierten en un reto mayor en nuestro país (12).

El Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades (CDC Perú) declaró el 2023 una alerta epidemiológica de brote de dengue de gran magnitud debido al Fenómeno del Niño Costero. Además, hasta la semana N° 34 (cuarta semana de agosto) del 2023, se había notificado 242 055 casos de dengue en el Perú, así también, se reportaron 325 casos fallecidos (11,12).

Más allá de la morbimortalidad en la población que causan las enfermedades transmitidas por vectores, existe un impacto económico global de estas que, para el caso del dengue, se estima en aproximadamente 9 mil millones de dólares en pérdidas económicas anuales (13,14).

Por tanto, es de vital importancia comprender el impacto de diversos reguladores de crecimiento, biológicos y químicos, sobre el ciclo de vida del *Aedes aegypti*. Además, es importante mantener la vigilancia de la resistencia del mosquito a estos agentes (9,10).

La resistencia desarrollada hacia insecticidas químicos y sus efectos colaterales en el medio ambiente obligan a buscar nuevos enfoques del control del vector, tales como el uso de agentes biológicos como el *Bacillus thuringiensis*. Considerando su regulación por factores físicos como la radiación ultravioleta, la temperatura y el pH. Estas condiciones pueden ser simuladas en laboratorios y permitirían obtener resultados que aporten al control del vector (3).

La introducción del *Bacillus thuringiensis* a mediano plazo podría representar una alternativa respetuosa con el medio ambiente y económicamente viable para el empleador. A largo plazo, esta medida facilitaría la reducción de la resistencia a insecticidas químicos, además de mantener los esfuerzos en curso para combatir el control de enfermedades metaxénicas transmitidas por *Aedes aegypti* en nuestro país.

Otro objetivo que nuestro estudio persiguió fue registrar la influencia de un agente físico como la radiación ultravioleta, en condiciones de laboratorio, sobre el *Bacillus thuringiensis*. Con el fin de encontrar información que sirva como guía para su uso en el campo.

Esta investigación empleó un producto comercial del *Bacillus thuringiensis* por su fácil acceso e inmediata disponibilidad para la población en general. Es importante comprobar la acción larvicida e inhibidora del surgimiento de adultos vivos de estos productos, ya que la mayoría de estudios publicados ha reportado resultados de cepas de laboratorio.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Rebaza-Sánchez et al. (2020) evaluaron el efecto larvicida del *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis* y *Beauveria bassiana* sobre larvas del tercer estadio de *Aedes aegypti*. Emplearon doce grupos experimentales y dos grupos de control, cada uno con 3 réplicas que incluyó 25 larvas de en 100 mL de agua destilada. Seis grupos experimentales fueron

de *B. thuringiensis* H-14 var. *israelensis* en concentraciones de 670, 1683, 4247, 10619, 26673 y 67000 esporas/mL, con su respectivo grupo control, donde observaron un 50% de mortalidad a las 8 horas; y un 100% a las 24. Para el caso de *B. bassiana*, fueron seis grupos experimentales cuyas concentraciones se describieron como 4×10^8 , 1×10^9 , 2.5×10^9 , 6.3×10^9 , 1.6×10^{10} y 4×10^{10} conidios/mL, también con un grupo control, donde registraron una mortalidad del 50% a los 7 días y del 100% a los 9 días. Concluyeron que *B. thuringiensis* H-14 var. *israelensis* y *B. bassiana*, con las concentraciones utilizadas, mostraron una alta actividad larvicida contra *A. aegypti*. (15).

En el estudio realizado por Becker et al. (1992), se evaluaron los factores ambientales que tienen influencia en la eficacia de los agentes de control microbiano para el manejo de mosquitos. Se enfocaron en cuatro de estos: la temperatura del agua, la densidad de larvas, la exposición a la luz solar y el efecto de los filtradores asociados. Para llevar a cabo la investigación, se utilizó *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* como agente de control microbiano. Los experimentos se llevaron a cabo en condiciones de laboratorio y en condiciones de semicampo en Europa, y se estudiaron diferentes estadios de los mosquitos *Aedes vexans*, *Aedes aegypti* y *Culex pipiens*. El objetivo fue analizar cómo estos factores ambientales afectan la eficacia del control microbiano en el manejo de las poblaciones de mosquitos. Los bioensayos realizados a baja temperatura (5 °C) arrojaron valores de LC 50 y LC90 10 veces más altos en comparación con los realizados a alta temperatura (25 °C). La eficacia del Bti disminuyó de forma lineal con el aumento de la densidad larvaria, es decir, la competencia por la ingesta de alimentación por filtración resultó en una menor mortalidad de larvas de mosquitos después de las aplicaciones con Bti.

Además, encontraron que luz del sol puede reducir la eficacia de Bti (2).

En la investigación desarrollada por Blas-Cerdán et al. (2017), se evaluó el efecto larvicida de una variante mutante de *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* (Bti) H-14 en larvas del tercer estadio de *A. aegypti*. Compararon la actividad biológica de una Bti comercial como grupo control (2000 ppm) frente a 3 formulaciones de Bti mutante a concentraciones de 3000, 4000 y 5000 ppm. Las formulaciones se aplicaron en recipientes que contenían 100 mL de agua destilada y 25 larvas para cada concentración. Después de 40 horas, evaluaron la mortalidad larvaria, donde observaron que la concentración de 4000 ppm mostró la mayor acción larvicida, con diferencias significativas ($p < 0,05$) en comparación con las otras dosis. Concluyeron que no hay una correlación directa entre la concentración empleada del Bti mutante y su actividad biológica sobre las larvas en el tercer estadio de *A. aegypti* (16).

Soares Da Silva y col., en 2015, evaluaron el uso de *Bacillus thuringiensis* aislado en el estado de Amazonas, en Brasil, para el control biológico del vector del dengue *Aedes aegypti*. De 25 muestras de suelo recolectadas en nueve municipios. Se obtuvieron 484 colonias bacterianas, de las cuales 57 (11,78%) fueron identificadas como *B. thuringiensis*. Seis aislamientos, IBt-03, IBt-06, IBt-07, IBt-28, IBt-30 y BtAM-27 mostraron actividad insecticida, y solo BtAM-27 presenta los cinco genes investigados cry4Aa, cry4Ba, cry10Aa, cry11Aa y cry11Ba. El IBt-07 y el IBt-28, con menor los valores de CL50 mostraron igual toxicidad en comparación con los estándares. Los aislamientos de *B. thuringiensis* de Amazonas constituyen nuevos medios potenciales de control biológico para *A. aegypti*, debido a su efecto larvicida actividad y la posibilidad de que también puedan contener nuevas combinaciones de toxinas (17).

Zavaleta et al. (2010), elaboraron un insecticida cuyo componente activo fue *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis* (Bti), el cual fue cultivado en un medio que usó sanguaza como fuente proteica. Se evaluó la acción biológica de esta preparación sobre larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio, campo simulado y campo real en el distrito de Laredo durante los años 2008 y 2009. Se formó 7 grupos para los ensayos de laboratorio y 5 grupos para los ensayos de campo simulado. Cada grupo se conformó de 25 larvas en un recipiente de 100 ml de agua destilada; mientras que los grupos de campo incluyeron 200 larvas por recipiente. Se llevó a cabo en el centro poblado La Merced. Registraron la mortalidad larvaria en diferentes momentos, donde que el preparado de Bti elaborado a base de sanguaza mostró una alta capacidad biocida. Se reportó una mortalidad total de larvas de *A. aegypti* en condiciones de laboratorio y campo simulado en menos de 24 horas. Para el campo real, realizaron una encuesta entomológica antes y después de la aplicación del preparado. Se determinó un índice métrico disminuido en un 99.8% después de la aplicación a una dosis de 5 mL/50 L durante 24 horas de exposición. Concluyeron que el Bti cultivado en sanguaza presentó una alta acción larvicida sobre *Aedes aegypti* en el distrito de Laredo bajo condiciones de campo (5).

Si bien múltiples estudios señalan la eficacia de los larvicidas basados en el *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, el estudio de Carvalho en 2021 buscó analizar el impacto del uso de estos larvicidas en 29 generaciones de *Aedes aegypti*. Lo que reportó fue que las hembras de *A. aegypti* sometidas a estos larvicidas demostraron tasas más altas de infección por el virus del Zika. Sin embargo, no alteró otros parámetros de su ciclo de vida como la fecundidad, fertilidad, tiempo de desarrollo hasta etapa adulta, peso de las pupas, entre otros (18).

Un estudio realizado por Carvalho et al en 2018 reportó que el uso a largo plazo de larvicidas con *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* no conllevó a una mayor susceptibilidad a este u otros larvicidas, y tampoco conllevó a una mayor resistencia en *Aedes aegypti*, ni resistencia cruzada (19).

Davis et al, en el año 2021 realizó un estudio con *Bacillus thuringiensis israelensis* como un cebo de azúcar tóxico contra la forma adulta del mosquito *Aedes aegypti* y se encontró una mortalidad promedio del 97% a las 48 horas desde su aplicación, lo que la perfila como una estrategia viable para implementarla dentro de las estrategias y programas actuales de control de mosquitos contra adultos de estas tres especies de mosquitos (20).

Seth et al en 2016, realizó un estudio de varias fases en Camboya entre 2005 y 2011 y fue el segundo informe que confirmó que la aplicación de larvicidas con la cepa AM65-52 de Bti suprimió la población adulta del vector del dengue en la temporada alta en las áreas tratadas y también afectó la transmisión del dengue en estas áreas de Camboya (21).

Respecto a los diferentes métodos de uso del Bacillus, el estudio de Ahmad en 2020 tuvo como objetivo determinar la efectividad de Bti (VectoBac®) WG usando varias aplicaciones en edificios de gran altura. Se aplicaron tres grados diferentes de Bti en tres edificios de gran altura en Bandar Saujana Putra, se utilizaron una máquina ULV, un nebulizador y un rociador a presión. La eficacia del tratamiento con Bti se midió analizando los datos de vigilancia de la ovitrampa recopilados (POI y mLT) antes y después del tratamiento. En general, la especie *Aedes albopictus*, tanto en ambientes interiores como exteriores, mostró una reducción. La reducción de la densidad se observa mediante el uso de nebulizadores en entornos al aire libre para *Aedes albopictus* (% de reducción de POI = 87,4 %; % de

reducción de MLT = 93,8 %). El soplador de niebla arrojó resultados significativamente más altos en comparación con otras aplicaciones de larvicidas; el orden de mayor a menor fue nebulizador>pulverizador a presión>ULV. Se puede concluir que cada aplicación produce diferentes grados de efectividad en la reducción del *Aedes sp.* en diferentes entornos ambientales (22).

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Aedes aegypti*

Aedes aegypti es uno de los principales mosquitos vectores del dengue. Este insecto originario de África, habita regiones tropicales y subtropicales, con características urbanas y con un ciclo único: hombre - *A. aegypti* – hombre. Con una gran propagación en territorios con el mismo clima en todo el mundo, lo cual se ha relacionado a las migraciones humanas en masa (23).

El dengue es una enfermedad prevalente en zonas tropicales, y el control de su expansión es un problema importante de salud pública. Anualmente se presentan más de 50 millones de casos a nivel mundial. Esta enfermedad se transmite por la hembra del mosquito, cuyo hábito alimenticio de tipo hematófago, favorece la propagación del virus. El ciclo biológico del *Aedes aegypti* presenta dos etapas diferentes por el medio de supervivencia: la fase acuática de huevo, larva y pupa; y la fase aérea de adulto (ver figura 1) (23).

El huevo

Sus huevos son tersos y en forma de cigarro. Estos son depositados por encima del nivel del agua, en las paredes del recipiente. En la ovipostura son blancos, pero de inmediato

cambian a un color negro brillante. Si el ambiente es favorecido por el calor y la humedad, son fecundados en 48 h, pero este intervalo puede extenderse hasta 5 días si la temperatura disminuye. Pueden permanecer viables incluso en largos períodos de desecación, lo cual representa una de las principales dificultades para su control. En algunos casos, la eclosión ocurre en los primeros 15 minutos después del contacto con el agua y para otros es requerido ser mojados varias veces (4).

La larva

Viven solo en el agua y les corresponden la fase de alimentación y crecimiento. Son fácilmente distinguibles porque se mantienen verticales en la superficie y nadan con un movimiento de tipo serpentino. Su anatomía consta de dos espinas laterales en el tórax y una hilera recta de siete a doce escamas en el octavo segmento abdominal. Su desarrollo es influenciado por la temperatura, la cantidad de alimento y la densidad larvaria del recipiente donde se encuentren. En condiciones óptimas, la fase larva dura 5 días, pero comúnmente va de 7 a 14 días (24).

Una gran cantidad de recipientes desechados (latas, neumáticos, botellas) sirven como sitio de reproducción; sin embargo, condiciones adversas como la lluvia puede causar desecación y rebosamiento, lo que lleva a la mortalidad de las larvas.

El periodo de larva comprende los estadios I al IV. Destacándose que los tres primeros son los más voraces, estas larvas dependen más del alimento disponible en el agua del recipiente natural o artificial donde habiten.

Este periodo dura de 5 a 7 días si las condiciones de alimento son favorables, y además la temperatura se aproxima a los 27°

C. Sin embargo, puede llegar a tardarse de 10 a 15 días en condiciones comunes (4).

La pupa

Las pupas también exhiben una naturaleza acuática, pero estas no presentan actividad alimentaria. Su propósito radica en llevar a cabo la transición metamórfica desde el estado larval hasta el adulto. Estas se mantienen en la superficie del agua gracias a su capacidad intrínseca de flotación, lo cual favorece el proceso de emergencia del insecto adulto. La fase pupal perdura durante un lapso de dos a tres días, a menos que se vea alterada por influencias ambientales (4,24).

El adulto

Eta final y reproductiva del *Aedes aegypti*, este mosquito es de tonalidad oscura, presenta bandas blancas en la base de sus segmentos dorsales y un característico diseño en forma de lira en el mesonoto, ubicado en la sección del tórax del insecto.

En entornos de laboratorio, los adultos de *A. aegypti* pueden mantenerse vivos durante periodos de varios meses. No obstante, en su hábitat natural, su esperanza de vida se reduce drásticamente a tan solo unas pocas semanas. Muchos individuos adultos perecen al momento de emerger o poco después, si bien la tasa de supervivencia diaria se mantiene constante. Con una tasa de mortalidad diaria del 10%, aproximadamente la mitad de los mosquitos fallecerá durante la primera semana, y el 95% habrá perecido dentro del primer mes (4).

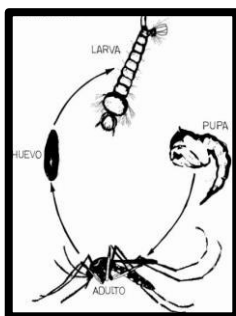


Figura 1 Ciclo de vida del *Aedes aegypti*. Fuente: Chico P. & Hidalgo, F. Ciclo de Vida *Aedes aegypti* y manifestaciones clínicas del dengue. ACTA PEDIATR MÉX 2001; 22(2): 114-117

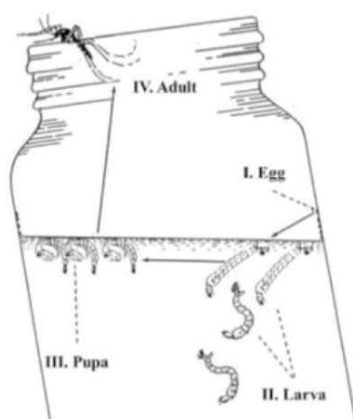


Figura 2 Ciclo de vida del mosquito de *Aedes aegypti* en relación con una fuente de agua. Fuente: Fernández, David. Persistencia y reconstitución de la actividad biológica de extractos almacenados de *Bacillus thuringiensis israelensis* después de 40 años contra larvas de *Aedes aegypti*. 2021

2.2.2. Resistencia del *Aedes aegypti* a los insecticidas

El uso de insecticidas químicos es uno de los componentes críticos en la actividad de control de *Aedes*. Se utilizan los insecticidas para controlar las especies de *Aedes* a través de fumigaciones espaciales, materiales tratados con insecticidas, larvicidas y fumigaciones residuales (10).

Sin un manejo adecuado, los mosquitos pueden desarrollar resistencia que puede afectar el control del dengue. La resistencia a los insecticidas se ha convertido en un desafío esencial que enfrentan muchos países con dengue endémico. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado

registrar la resistencia del insecticida como parte de la vigilancia entomológica integrada para optimizar las actividades de control del dengue. Desafortunadamente, no toda la información de resistencias está publicada por las agencias de control de vectores en todos los países. Esta escasez de información publicada evita un análisis completo de la amenaza regional de la resistencia a los insecticidas (10,25).

La resistencia a los insecticidas es de hecho una carga para los profesionales de los programas de control porque aumentará el tiempo y el costo de gestión de vectores, especialmente durante un brote. Además, los sectores agrícolas también se verán afectados. La carga acumulativa de la transmisión del dengue, la pérdida agrícola y el riesgo ambiental puede tener un impacto socioeconómico significativo en un país (26,27).

La resistencia cruzada ocurre cuando la resistencia a un insecticida confiere resistencia a otro tipo de insecticida. Esto es debido a la probabilidad de compartir un modo de acción similar entre los insecticidas, frente a lo que el vector desarrolla un mecanismo, que le confiere múltiples resistencias. Por ejemplo, la resistencia cruzada entre los piretroides (Metoflutrina, Permetrina, Deltamerina y Daletrina) (28) y el DDT. Con el tiempo, el uso no planificado y frecuente de insecticidas ha llevado al desarrollo de resistencia a los insecticidas en mosquitos. Como consecuencia, esta situación limitará las opciones de insecticidas eficaces para el control de vectores (29).

Los mecanismos de resistencia a los piretroides incluyen las mutaciones en el gen del canal de sodio sensible al voltaje (resistencia en el sitio objetivo) y resistencia a insecticidas mediada por el metabolismo. El canal de sodio sensible al voltaje (Vssc) gen comprende cuatro dominios homólogos, y cada uno de ellos contiene seis subunidades hidrofóbicas. Las mutaciones

que se producen en el gen Vssc están vinculadas a la resistencia a la caída (kdr) en muchos insectos vectores de enfermedades. en estudios seleccionados (28). Se ha encontrado que la detección de estas mutaciones conferiría la resistencia del canal de sodio a los piretroides (28–30).

La resistencia metabólica es causada por una sobreexpresión o cambio conformacional de enzimas que intervienen en los procesos de metabolismo, secuestro y excreción de los insecticidas. Las enzimas metabólicas implicadas pertenecen a grandes genes familias que son monooxigenasas del citocromo P450, glutatión S-transferasas y carboxilo/colinesterasa. La desintoxicación mediada por la monooxigenasa (CYP) del citocromo P450 es uno de los mecanismos primarios de resistencia a los piretroides (31).

2.2.3. *Bacillus thuringiensis*

El *Bacillus thuringiensis* es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, ubicada naturalmente en la flora del suelo. Presenta la capacidad de producir esporas y toxinas específicas para ciertas familias de insectos como los dípteros. Cuenta con una fase vegetativa y una exponencial. Sin embargo, cuando el suplemento de nutrientes se termina, ésta entra en una fase de esporulación, donde se sintetizan las proteínas toxigénicas en forma de cristales. Luego de finalizada la esporulación, las células se rompen completamente y se liberan esporas y cristales paraesporales (32,33).

Por un largo tiempo se creyó que esta bacteria solo afectaba a los lepidópteros, ya que solo se encontraron cepas activas de esta bacteria en este grupo de insectos. Sin embargo, De Barjac describió la acción altamente específica en contra de mosquitos de los géneros *Cúlex*, *Anopheles* y *Aedes* (7).

Los cristales son protoxinas, formadas con un complejo glucoproteína-endotoxina de alto peso molecular. Su forma puede ser bipiramidales, cúbicas, esféricas o compuestas. La endotoxina solo es efectiva cuando es consumida por insectos que tienen receptores específicos en las membranas de sus células epiteliales del intestino medio para unirse a esta toxina (34).

Durante la fase de esporulación, la bacteria produce un cuerpo de inclusión citoplásmico paraesporal (o cristal) que contiene principalmente las proteínas insecticidas CryIVA, CryIVB, CryIVD y CytA, (30).

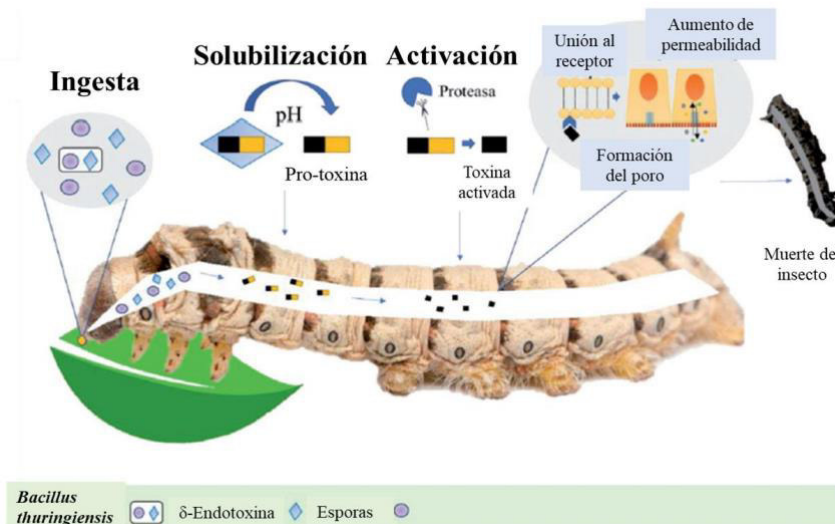


Figura 3 Mecanismo de acción de las toxinas Cry y Cyt del *Bacillus thuringiensis* sobre las larvas de *Aedes aegypti*. Fuente: Fernández, David. Persistencia y reconstitución de la actividad biológica de extractos almacenados de *Bacillus thuringiensis israelensis* después de 40 años contra larvas de *Aedes aegypti*. 2021.

Desde el primer reporte de Ishiwata en 1902 de una infección por *Bombyx mori*, seguido por la descripción de Berliner, *Bacillus thuringiensis* se ha convertido en el principal microorganismo utilizado en el control biológico. Su uso para combatir invertebrados de interés humano aumentó debido al incremento de la demanda de alimentos libres de pesticidas químicos,

además de la necesidad de implementar prácticas agrícolas menos dañinas para el medio ambiente (25,26).

Sin embargo, los mecanismos de acción de estos productos no se han dilucidado por completo. Hay dos modelos propuestos: el primero es que Bt provoca un desequilibrio osmótico en respuesta a la formación de poros en una membrana celular, y el segundo es que provoca una apertura de canales iónicos que activan el proceso de muerte celular. Por otro lado, existen diversas formas en las que se puede desarrollar la resistencia a Bt: cambios en los receptores que no reconocen la toxina Cry, la síntesis de transportadores de membrana que eliminan los péptidos del citosol y el desarrollo de mecanismos reguladores que interrumpen la producción de receptores de toxinas (33).

Además del potencial para la formulación de bioplaguicidas y el uso en el desarrollo de cultivos genéticamente modificados, estudios recientes con Bt han discutido aplicaciones prometedoras en otras ramas de la ciencia. Por ejemplo, se ha encontrado que las parasporinas, toxinas de Bt que no tienen efecto entomopatógeno, podrían presentar un efecto citotóxico sobre las células alteradas por algunos cánceres. Esto demuestra el potencial del microorganismo y abre nuevas oportunidades para futuras aplicaciones (33,35).

Las proteínas insecticidas vegetativas (Vip3) secretadas por *Bacillus thuringiensis*, hoy en día se consideran la nueva generación de toxinas Bt insecticidas debido a sus diferentes estructuras y propiedades moleculares con respecto a las proteínas Bt 3-D Cry clásicas. Las toxinas Vip3 ya han sido introducidas en cultivos Bt para controlar plagas de lepidópteros. Sin embargo, poco se sabe aún acerca de su modo de acción (32,36,37).

Para la obtención del *Bacillus thuringiensis*, comúnmente se utiliza el medio comercial TPH, sin embargo, en nuestro país se

ha logrado su obtención con otros medios, incluso a base de espárragos con similares valores de efectividad (38).

2.2.4. Radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) se extiende desde 100 a 400 nm en el espectro de longitud de onda y consiste en UVA (315-400 nm), UVB (280-315 nm) y UVC (100-280 nm). Los gases como el ozono, el vapor de agua, el oxígeno y el dióxido de carbono absorben la mayor parte de la radiación UVC y aproximadamente el 90% de la radiación UVB, mientras que la radiación UVA es absorbida en menor medida. Como resultado, la mayor parte de la radiación UV que llega a la superficie terrestre es UVA, con una pequeña cantidad de UVB. El índice UV solar mundial (IUV) es una medida de la intensidad de la radiación UV en la superficie terrestre y se expresa como un valor mayor que cero. Cuanto mayor sea el valor del IUV, mayor será la probabilidad de daño en la piel y los ojos, y más rápido se producirá dicho daño(39).

3. MÉTODOS

3.1 Diseño de estudio

El presente estudio tiene un diseño experimental ya que se aplica una intervención. Además, es de tipo controlado, ya que realizamos las comparaciones con un grupo control al cual no se le aplicó intervención alguna.

3.2 Variables

Nuestras variables independientes son la concentración de *Bacillus thuringiensis*, y la concentración de *Bacillus thuringiensis* expuesto a la radiación ultravioleta.

Nuestras variables dependientes constan del número de larvas, pupas, y adultos vivos, muertos o moribundos y adultos con envoltura pupal diario. A partir de estas construimos la variable muertos totales que constituyó a los muertos de todos los estadios más los adultos que surgieron con envoltura pupal ya que estos tampoco evolucionaron nunca a adulto vivo.

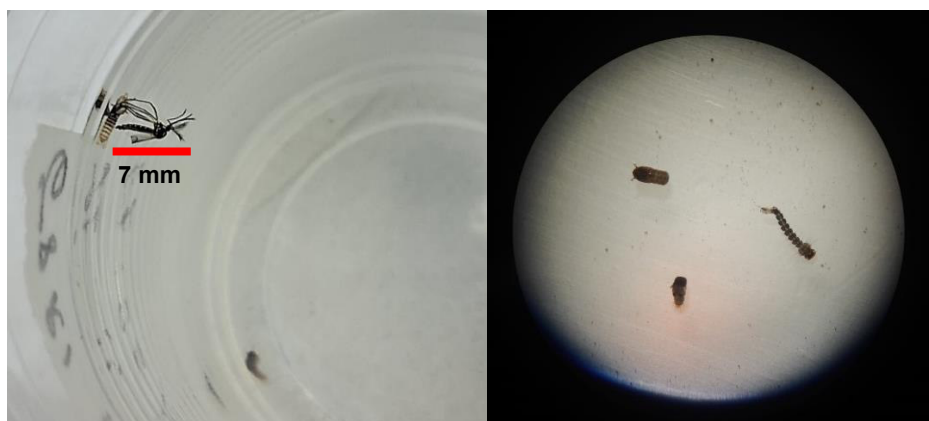


Figura 4 Adulto con envoltura pupal, pupas y larva.

A la izquierda, el adulto con envoltura pupal (7 mm) en la superficie y pupa muerta al fondo del contenedor. A la derecha, 2 pupas y una larva en estadio IV, vistas con estereoscopio a magnitud x10.

Fuente: Elaboración propia

3.3 Unidad de análisis

La unidad de análisis es el ciclo biológico del *Aedes aegypti*.

3.4 Espacio y condiciones del ambiente

El presente trabajo fue realizado en el ambiente designado como "Insectario 1", perteneciente al Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión", ubicado en la Ciudad Universitaria de la UNMSM. El cual se encuentra equipado con las condiciones de higiene y bioseguridad necesarias para el trabajo experimental. Además de cumplir con estándares para la correcta reproducción de vectores. Incluyendo ambientes que cumplen con las condiciones para mantener la seguridad del personal del insectario y mantener un correcto manejo de desechos (40).



Figura 5 Edificio donde se ubica el área de Entomología Médica del Instituto de Medicina Tropical "Daniel Alcides Carrión" – UNMSM. Fuente: Elaboración propia



Figura 6 Áreas del insectario 1, donde se realizó el experimento. Fuente: Elaboración propia

Las condiciones en las que se mantuvo el insectario fueron una temperatura de 27 ± 2 °C, una humedad relativa del $75 \pm 10\%$ y una iluminación adecuada. La temperatura y humedad fueron medidas con 2 termohigrómetros ubicados en cada esquina del ambiente de maduración larvaria. Si la temperatura bajaba de los valores requeridos se utilizó un calefactor para aumentarla.



Figura 7 Ambiente de maduración larvaria del insectario donde se realizaron los experimentos. Fuente: Elaboración propia.

3.5 Población, muestra y muestreo del estudio

La población de estudio es el *Aedes aegypti*, en estadio de larva III y IV de la cepa Rupa Rupa “B”, obtenidos en la provincia de Huánuco. Los cuales se desarrollaron a adultos como cepa “salvaje” en el ambiente del Insectario 1 del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” de UNMSM. Los huevos obtenidos de esta cepa “salvaje” pasaron a generar la generación F1. Estos huevos F1 se eclosionaron para obtener a la población de mosquitos que se incluyó en nuestro estudio (F2).

El tamaño de la muestra fue de 80 larvas para cada grupo experimental, valor indicado en la Guía “Monitoreo y control de la resistencia a los insecticidas en las poblaciones de mosquitos *Aedes*” de la OMS. Cada grupo experimental incluyó 4 réplicas y cada réplica incluyó 20 larvas, según lo indicado por la misma guía.

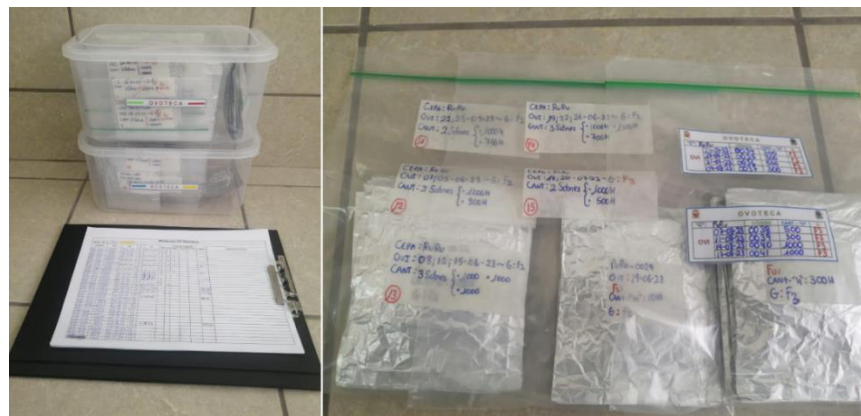


Figura 8 **Ovoteca donde se almacenaron los huevos de *Aedes aegypti* hasta su eclosión.** Leyenda: Al lado izquierdo contenedor de ovoteca y hoja de registro de fecha de eclosión. Al lado derecho los sobres que contienen los huevos de *Aedes aegypti* cepa Rupa Rupa. Fuente: Elaboración propia.

El tipo de muestreo utilizado fue aleatorio simple, el cual se detalla en una sección posterior.

3.6 Crianza y eclosión de *Aedes*

La eclosión de los huevos de *Aedes aegypti* cepa Rupa Rupa "B" se realizó en recipientes nuevos de plástico de 30 x 15 cm aproximadamente, debidamente higienizados y con un contenido de agua destilada de 500 ml. En estos se colocaron los huevos en las ovitrampas para su eclosión y se administró como alimento un cuarto de pastilla de levadura de cerveza cada 48-72 h, para el desarrollo desde huevo a larva estadio 3 o 4. Luego de alcanzado este estadio, se realizó el paso de 20 larvas a un táper de plástico de 8 x 8 cm mediante aleatorización.

Cuando una larva en estadio IV pasaba al estadio de pupa en los táperes, se la incluía en vasos de plástico rotulados de manera idéntica a su respectivo táper. Estos vasos contenían 45ml de agua de clorada sin adición de comida, ya que en este estadio no hay alimentación.

Los vasos, que contenían a las pupas, fueron ingresados a jaulas de 35x25x30 cm, confeccionadas a base de tecnopor y organza para la crianza de los futuros adultos. Los machos se alimentaron con agua azucarada y las hembras, por su hábito hematófago, se alimentaron de ratones de laboratorio, de la cepa BALB/c.

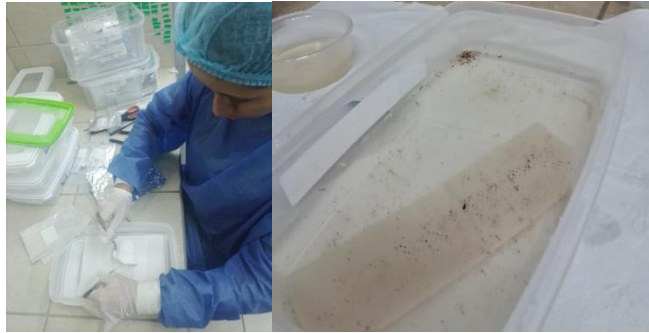


Figura 9. Eclosión de huevos de *Aedes aegypti*. Leyenda: Imagen izquierda colocación de huevos en taper de eclosión. Imagen derecha: Larvas de estadio II y III al tercer día luego de la eclosión. Fuente: Elaboración propia.



Figura 10 Táper correspondiente a una réplica observada en el día 10 de su conteo diario luego de empezada la mortalidad larvaria. Fuente: Elaboración propia.



Figura 11 Crianza de las pupas y los adultos de *Aedes aegypti* en una jaula preparada con Tecnopor y organza, luego del conteo diario de los grupos experimentales. Fuente: Elaboración propia



Figura 12 Conteo diario de larvas, pupas y los adultos vivos y muertos en taperes de los grupos experimentales. Fuente: Elaboración propia.

3.7 Aleatorización

Tomando como referencia el táper donde se eclosionaron los huevos de *Aedes*, se demarcaron nueve cuadrantes tal como se muestra en la figura 2 para seleccionar las larvas. Utilizamos un generador de números aleatorios con valores del 1 al 9 y se seleccionó una larva del cuadrante cuyo número salió elegido. Este procedimiento se repitió hasta conseguir las 20 larvas en cada táper. Para asegurar la presencia de larvas en todos los cuadrantes, se agitaba levemente el táper de forma esporádica.



Figura 13 Aparato de aleatorización para la selección de larvas del III-IV estadio con demarcación de cuadrantes del 1 al 9. Fuente: Elaboración propia

3.8 Obtención del *Bacillus thuringiensis*

Utilizamos *Bacillus thuringiensis kurstaki*, aislado del producto comercial "*Bacillus thuringiensis*" en una presentación en polvo de la marca "Hojita Noma". Las cepas de *B. thuringiensis kurstaki* y *B. thuringiensis israelensis* de laboratorio se obtuvieron de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Marcos.



Figura 14 *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial utilizado. Presentación de 100g, marca "Hojita Noma", costo comercial 13 soles. Fuente: Elaboración propia.



Figura 15 *Bacillus thuringiensis kurstaki* y *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio. Fuente: Elaboración propia

3.9 Preparación del complejo espora-cristal del *Bacillus thuringiensis*

Las cepas del *Bacillus thuringiensis* se inocularon en 10 mL de caldo Tripticasa Soya (TSB) con pH 7 a 28 °C en agitación a 160 rpm por 18 horas. Al finalizar el tiempo, este cultivo fue transferido a un matraz con 90 mL de TSB y se incubó en las mismas condiciones durante 48 horas. Este cultivo fue centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos. El pellet fue resuspendido en solución salina estéril (0.85% NaCl) y homogenizado usando un vórtex. Este procedimiento se repitió tanto para el cultivo del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial aislado desde el producto en polvo, el *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio y el *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio.

3.10 Recuento de esporas del cultivo

Para encontrar el número de esporas del Btk-c comercial se colocó 1 gramo del producto en 9 mL de solución salina estéril. Luego se mezcló utilizando un vórtex por 2 minutos y se sometió la dilución a shock térmico. Se realizaron diluciones decimales seriadas hasta la concentración 10^{-4} . Finalmente, se inocularon por diseminación, utilizando una espátula de Drigalsky, 100 μ L de las últimas tres diluciones en agar TSA y se incubaron a 28°C por 24 horas, luego de lo cual se realizó el conteo de colonias.

Para las cepas de laboratorio, una alícuota de la biomasa resuspendida fue sometida a shock térmico. Para esto, se incubó a 80 °C por 15 minutos en un baño María y luego fueron enfriadas en hielo. Se realizaron diluciones decimales seriadas hasta la concentración 10^{-3} . Luego se inocularon por diseminación, con espátula de Drigalski, 100 μ L de las últimas dos diluciones en placas con agar TSA y se incubaron a 28 °C por 24 horas, luego de lo cual se realizó el conteo de colonias a través de microscopía y conteo por campo.



Figura 16 *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial, pesaje previo uso

Finalmente, se realizó el recuento de esporas de las diluciones obtenidas a través de un conteo por campo mediante microscopía.

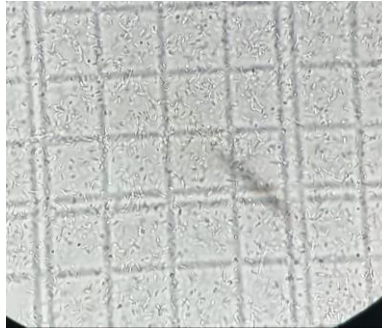


Figura 17 Imagen de las esporas evaluadas en el microscopio para su conteo por campo. Fuente: Elaboración propia

3.11 Cálculo de las concentraciones de esporas

3.11.1 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* comercial (Btk-c)

Se analizó una muestra del producto comercial denominado “*Bacillus thuringiensis*” para determinar el número de esporas por gramo del Btk-c (esp/g) en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

A partir de la concentración efectiva indicada por el distribuidor (3 g/L), se convirtió a las unidades g/ml para obtener el número de esporas en 1 ml (esp/ml). El cual representa la unidad que se usó para graduar la concentración en todos los grupos.

De esta forma, al conocer el número de esp/ml equivalente a las esp/g indicadas en la dosis del distribuidor, realizamos 5 concentraciones diferentes extra a emplear en los grupos. Estas constituyeron 2, 4, 6, 10 y 20 veces la concentración original indicada por el distribuidor.

3.11.2 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* y var. *israelensis* de laboratorio (Btk-I y Bti)

Se obtuvo un volumen aproximado de 20 mililitros de cada cepa después del recuento de esporas realizado en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

El volumen de cada cepa incluyó un número de esporas por ml (esp/ml), el cual fue utilizado como referencia para calcular otras concentraciones de esporas, de tal forma que sean aproximadas o similares a las utilizadas en investigaciones previas a la nuestra, tanto para Btk-I y Bti, así como a las concentraciones obtenidas del Btk-c con fines de comparar su efectividad. Por lo que ejecutamos una operación matemática para determinar el número de esporas por réplica en cada grupo, de la siguiente forma: Se multiplicó el número de esp/ml en el volumen dado por un factor de dilución deseado, luego el resultado se dividió entre el número de táperes (réplicas) que se usaron por grupo, siendo en nuestro caso 4, y finalmente, lo obtenido se dividió entre 50 ml (volumen total de cada réplica).

3.12 Grupos experimentales

Contamos con 17 grupos experimentales, de los cuales, 15 fueron sometidos al tratamiento con *Bacillus thuringiensis* sin o con exposición previa a radiación ultravioleta y 2 grupos controles con agua dechlorada. Cada grupo experimental constó en 4 réplicas de un táper de 50 ml de volumen con 20

larvas de *Aedes aegypti* en estadio III-IV de la cepa Rupa Rupa. Este volumen consistió en agua de cloro para los grupos controles y, para los otros 15 grupos, se colocó un volumen en diferentes cantidades de *Bacillus thuringiensis* y el resto se completó con agua de cloro. A cada tálamo que contenía una réplica se le colocó 0.25 g de alimento (levadura de cerveza) cada 48 horas.

La distribución de los grupos experimentales se realizó así. 2 grupos controles (uno para los grupos donde se comparó la efectividad entre la cepa comercial y las cepas de laboratorio, y otro para los grupos que incluyeron exposición a radiación UV). Empleamos 6 grupos de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* comercial (Btk-c) a diferentes concentraciones de esporas, por su uso difundido como control de plagas, con la finalidad de comparar la diferencia de su acción biológica entre distintas concentraciones. Para la menor concentración de esporas, se tuvo como referencia la dosis efectiva en gramos por litro, indicada por el proveedor.

Además, este Btk-c fue comparado frente a 2 cepas más de *Bacillus thuringiensis* de laboratorio. Estas fueron el mismo *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* de laboratorio (Btk-l) y el *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti). Para ello, usamos 3 grupos con distintas concentraciones de esporas de Btk-l y 3 grupos con concentraciones diferentes de esporas de Bti.

Finalmente, empleamos 3 grupos de las concentraciones de Btk-c para exponerlos a una irradiancia de 119.3 uW/cm² de luz UV-A y UVB en el IRUVAB, con el objetivo de comparar su efectividad frente a los grupos con igual concentración de esporas sin exposición previa a radiación ultravioleta. En cada grupo, se hizo seguimiento hasta que la última larva muriera o pase a estadio adulto, con el fin de registrar datos

en los estadios de larvas, pupas y adultos. Cada táper de réplica se registró tal como se observa en la figura 15.

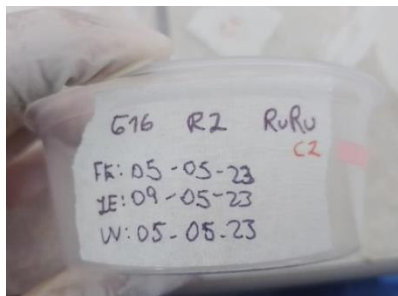


Figura 18 Rotulación utilizada para cada taper (réplica) de los grupos experimentales. Fuente: Elaboración propia

A continuación, se detalla cada grupo experimental:

- El grupo (1) con agua de clorada, que corresponde al grupo control de larvas.
- El grupo (2) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki comercial* en grado 1 de concentración como lo sugiere el distribuidor, con 7 800 esp/ml
- El grupo (3) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki comercial* en grado 2 de concentración, con 15 600 esp/ml
- El grupo (4) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki comercial* en grado 4 de concentración, con 31 200 esp/ml
- El grupo (5) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki comercial* en grado 6 de concentración, con 46800 esp/ml
- El grupo (6) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki comercial* en grado 10 de concentración, con 78 000 esp/ml

- El grupo (7) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial en grado 20 de concentración, con 156 000 esp/ml
- El grupo (8) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio con una concentración de 10700 esp/ml.
- El grupo (9) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio con una concentración de 26750 esp/ml.
- El grupo (10) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio con una concentración de 32100 esp/ml.
- El grupo (11) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio con una concentración de 10750 esp/ml.
- El grupo (12) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio con una concentración de 17200 esp/ml.
- El grupo (13) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio con una concentración de 37800 esp/ml.
- El grupo (14) correspondiente al segundo control con agua declorada.
- El grupo (15) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial en grado 1 de concentración, que fue expuesta previamente a la radiación ultravioleta.
- El grupo (16) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial en grado 2 de concentración, que fue expuesta previamente a la radiación ultravioleta.
- El grupo (17) con una suspensión de *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial en grado 3 de

concentración, que fue expuesta previamente a la radiación ultravioleta.

Se registró la mortalidad larvaria cada 2 horas desde la exposición hasta las 12 horas y luego cada 24 horas hasta llegar a 14 días o que todas las larvas hayan evolucionado al estadio adulto o muerto.

3.13 Inoculación del *Bacillus thuringiensis* a las larvas de *A. aegypti*

Utilizamos el Btk comercial que indica una dilución de 3 gramos en un litro de agua para nuestra concentración 1 de Btk-c. Luego se preparó las concentraciones de Btk-c por 2, 4, 6, 10 y 20 veces la recomendada por el distribuidor. Realizamos la preparación en 200 ml de agua destilada por cada grupo de concentración y luego se realizó la repartición para vaciar 50 ml en cada táper donde se colocó 20 larvas, ya que hubo 4 réplicas por cada grupo experimental.



*Figura 19. Inoculación del *Bacillus thuringiensis* a cada réplica midiendo su volumen con una pipeta.* Fuente: Elaboración propia

3.14 Exposición a la radiación ultravioleta

Para la simulación con radiación UVA- UVB, utilizamos un dispositivo en forma de cámara microondas perteneciente

al área del insectario denominada IRUVAB. Colocamos un soporte de plástico a 18 cm de la fuente de luz dada por las lámparas UV-A y UV-B para sostener los táperes con Btk-c expuestos por 12 horas. La irradiancia recibida fue 119.13 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$, medida a través de un radioespectrofotómetro (Anexo 4), medición que se realizó en el laboratorio de Física de la Facultad de Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Value List	
SmallX:	0.2295
SmallY:	0.1966
SmallZ:	0.5739
ColorTemp:	7.727E+5 Kelvin
Dominant Wavelength:	470.01 nm
Energy Emitted (Inside):	253.84 μJoule Range [nm]:186.90 - 1100.10
Power Received:	269.01 μWatt Range [nm]:380.00 - 780.00
Irradiance:	119.13 $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$ Range [nm]:280.00 - 400.00
Luminous Intensity:	264.08 Candela Dist.[m]:1.000 - Geo [sr]:12.566
Illuminance:	264.08 Lux
Center Wavelength:	206.53 nm Range [nm]:200.00 - 280.00

Figura 20. Características de la irradiancia emitida por el IRUVAB a 18 cm de la fuente de luz, medidas por el radioespectrofotómetro. Fuente: Elaboración propia



Figura 21 IRUVAB conectado a radioespectrofotómetro para medición de la irradiancia UVA-B emitida en la cámara a 18 cm de la fuente de la lámpara UV. Fuente: Elaboración propia.



Figura 22 Inspección del correcto funcionamiento del IRUVAB en el ambiente del insectario. Fuente: Elaboración propia.

3.15 Recolección de datos

Registramos los datos de las actividades del insectario diariamente a través de una bitácora. Aquí constó el registro de fechas de eclosión, fechas de colocación de alimentos, entre otras actividades relacionadas al cuidado diario del ambiente y de los grupos experimentales.

Además, utilizamos una ficha de recolección de datos para registrar el valor de la temperatura, usando un termómetro digital; así como el número de larvas, pupas, adultos, vivos y muertos, y adultos con envoltura pupal que se encontraban en cada táper. Ver Anexo 1 (Ficha de recolección de datos utilizada).

3.16 Técnica e instrumentos

Los procedimientos para las pruebas en larvas fueron llevados a cabo de acuerdo con la guía de Monitoreo y control de la resistencia a los insecticidas en las poblaciones de mosquitos *Aedes aegypti*, proporcionada por la OMS. Para la simulación radiación UV se utilizó el IRUVAB, el cual

fue sometido a diversas pruebas previas a su uso, determinándose la distancia adecuada a la cual deberíamos colocar nuestros táperes para la exposición del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial por 12 horas.

3.17 Análisis e interpretación de datos

Los reguladores del crecimiento de insectos tienen una acción retardada en las larvas tratadas. *Bacillus thuringiensis* y el *Bacillus thuringiensis* expuesto a la radiación ultravioleta fueron los reguladores del crecimiento (IGR) en nuestros experimentos. La mortalidad se evaluó cada 2 horas por las primeras 12 horas y luego diariamente hasta la aparición de los adultos, o la muerte en etapas inmaduras. Nos aseguramos de realizar un recuento inicial exacto de las larvas debido al comportamiento caníbal y escurridizo que pueden presentar luego de períodos de exposición larga. Se proporcionó a las larvas alimento en intervalos de dos días hasta que finalizó la prueba. El efecto sobre los mosquitos se expresó en términos media, desviación estándar y porcentaje promedio, tanto de larvas muertas como de adultos vivos.

Expusimos a las larvas del tercer o cuarto estadio a 6 grados de concentración de *Bacillus thuringiensis kurstaki* de uso comercial, determinándose cuáles fueron los grupos con efectos larvicidas con diferencias estadísticamente significativas. Además, expusimos 3 grupos de diferentes concentraciones de *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio y 3 grupos de diferentes concentraciones de *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio.

Al final del período de observación, se calculó el impacto del IGR teniendo en cuenta el número de larvas que no lograron convertirse en adultos viables. Por cada concentración e

intensidad, los mosquitos adultos que no se hayan separado completamente de la envoltura pupal, las larvas y pupas moribundas y muertas se consideran como “afectados”. El número de larvas que lograron convertirse en adultos también pudo contarse a partir de las ecdisis o envolturas pupales vacías. La prueba terminó para cada grupo experimental cuando todas las larvas o las pupas en los controles han muerto o se han convertido en adultos.

Se combinaron los datos de todos los grupos de cada grado de concentración. El porcentaje de conversión a mosquito adulto se calculó sobre la base del número de larvas expuestas. Adicionalmente, se calculó la IA% usando la siguiente fórmula (anexo 2):

$$IA\% = 100 - (\% \text{ de adultos que emergieron en lotes tratados} / \% \text{ de adultos que emergieron en lotes de control}) \times 100$$

Se calcularon estimadores estadísticos fundamentales como la media y desviación estándar para describir la distribución de los resultados. Además, se realizó un análisis para examinar la relación entre las concentraciones de *Bacillus thuringiensis* y la mortalidad de las larvas de *Aedes aegypti*. Para evaluar posibles diferencias significativas, se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) para los seis diferentes grupos de concentración de Btk-c y se realizó una comparación de promedios utilizando la Prueba de Comparación Múltiple de promedios Tukey; finalmente se realizó un análisis para calcular la U de Mann Whitney de la comparación entre el grupo de Btk-c expuesto y no expuesto a la radiación ultravioleta. Establecimos para los análisis un nivel de significancia de 0.05 o inferior. Todo el análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software STATA 14.2 y Microsoft Excel 2019. Estos procedimientos estadísticos permitieron

obtener conclusiones significativas y confiables a partir de los datos recopilados.

Los datos obtenidos permitieron calcular el promedio de mortalidad para cada concentración, y posteriormente se realizó un análisis para determinar los valores de DL50 y DL90 (anexo 2).

El estudio se llevó a cabo siguiendo un diseño experimental aleatorizado, donde cada concentración fungió como un grupo experimental. El objetivo principal de este enfoque fue evaluar la actividad del *Bacillus thuringiensis* en condiciones de laboratorio.

3.18 Aspectos éticos

La presente investigación experimental con mosquitos *Aedes* involucró solo especímenes sanos, nacidos en el insectario y no involucró a seres humanos. En primer lugar, se garantizó el bienestar animal durante todo el proceso experimental, lo que incluyó proporcionarles un ambiente adecuado, alimento, y minimizar cualquier estrés y cumplir con todas las normas éticas establecidas para la investigación con animales. Además, se consideró el posible impacto ambiental de la liberación de mosquitos en términos de salud pública y medio ambiente. En específico nuestros ambientes contaron con todas las medidas de seguridad para evitar el escape de algún mosquito, además de tener un protocolo de eliminación inmediata de cualquier mosquito que escapó de su jaula.

Finalmente, cumplimos con el nivel de responsabilidad ética y rigor científico necesarios, regidos principalmente por el principio de beneficencia, al investigar el ciclo de vida de este

vector de enfermedades que cobran la vida de miles de personas a nivel mundial cada año.

Nuestro protocolo fue aprobado por el Comité de ética de San Fernando, con el Código de Estudio N°0041 (Anexo 3).

4 RESULTADOS

GRUPO CONTROL

El porcentaje de adultos emergidos en los grupos controles fue mayor al 90%, específicamente 98.75% para el primer grupo control y 97.5% para el segundo grupo control, motivo por el que no fue necesario ajustar los resultados con la fórmula de Abbott planteada en la Guía de la OMS.

GRUPOS DE BACILLUS THURINGIENSIS (Btk-c, Btk-I y Bti)

Efecto biológico del Btk-c en el ciclo de vida de las larvas de *A. Aegypti*

En todos los grupos con *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial (Btk-c) se logró mortalidad larvaria, a diferencia del grupo control donde no se registraron larvas muertas. Se identificó una progresión de la mortalidad larvaria a medida que aumentó el número de esporas por mililitro de concentración utilizado en la mayoría de los grupos. La excepción fue el grupo de 7800 esp/ml, en el cual el efecto larvicida fue mayor que en el grupo de 15600 esp/ml; sin embargo, este último sí lo superó en muertos totales (incluyendo

mueritos en otros estadios como pupas y adultos). Encontramos un 100% de muertos totales a partir de la concentración de 15600 esp/ml (15600 esp/ml; 31200 esp/ml; 46800 esp/ml; 78000 esp/ml y 156000 esp/ml), lo que demuestra que el Btk-c ejerció su efecto no solo larvicida, sino afectó a las larvas para llevarlas a morir en el estadio pupa o adulto o emerger como adulto con envoltura pupal, lo cual evitó su pase a adulto sano y posible vector de enfermedades (Tabla 1 y Figura 23).

Tabla 1 Desenlaces por grupo a 6 diferentes concentraciones de Btk-comercial (esp/ml) en larvas del estadio III-IV de *Aedes aegypti*

GRUPO	LARVAS MUERTAS (media±SD)	LARVAS MUERTAS (% promedio)	MUERTOS TOTALES* (media ± SD)	MUERTOS TOTALES* (% promedio)	ADULTOS VIVOS (media ± SD)	ADULTOS VIVOS (% promedio)	p valor
Control	0,00	0	1.5 ± 1	7,50	19±0.82	95,00	<0.001
7800 esp/ml	12.9 ± 4.50	63,6	17.17 ± 1.65	85,85	3.29±1.80	16,45	
15600 esp/ml	10 ± 3.46	50	20 ± 0	100,00	0,00	0,00	
31200 esp/ml	15.5 ± 2.65	77,5	20 ± 0	100,00	0,00	0,00	
46800 esp/ml	17.5 ± 1.73	87,5	20 ± 0	100,00	0,00	0,00	
78000 esp/ml	18.43 ± 0.54	92,1	20 ± 0	100,00	0,00	0,00	
156000 esp/ml	20 ± 0	100	20 ± 0	100,00	0,00	0,00	

Legenda: esp/ml: esporas por mililitro. Se considera n=20 por ser el número de larvas en cada táper de réplica. *Incluye muertos en todos sus estadios desde larvas III-IV. Fuente: Elaboración propia

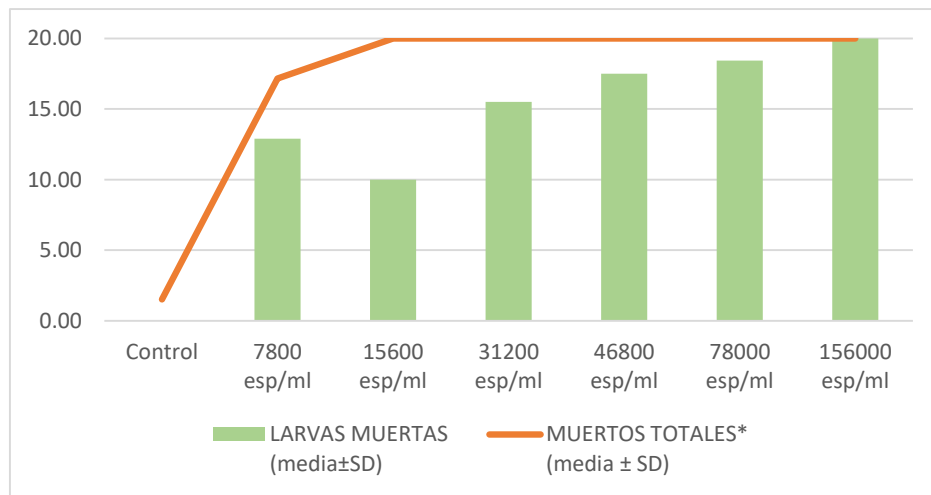


Figura 23 Acción del Btk-c en larvas de *A. aegypti* a diferentes concentraciones. Legenda: esp/ml: esporas por mililitro. n=20 por ser el número de larvas en cada réplica. *Muertos totales incluye muertos en todos sus estadios desde larvas III. Fuente: Elaboración propia

En casi todas las concentraciones se evitó totalmente el pase a adulto vivo, excepto con la menor concentración (calculada a partir de la indicación de su distribuidor), donde se registró la presencia de un promedio de 3.29 de adultos vivos en cada réplica, es decir

el 16.45% del total de larvas expuestas sí logró llegar al estadio de adulto vivo (Tabla 1).

Tabla 2 Número promedio de larvas muertas del III-IV estadio de *Aedes aegypti*, expuestas a diferentes concentraciones de *Bacillus thuringiensis* (esp/ml) evaluadas cada 2 horas y diariamente

GRUPO	BTK-c (esp/ml)						BTK laboratorio (esp/ml)			BTI laboratorio (esp/ml)				
	Control	7800	15600	31200	46800	78000	156000	10700	26750	32100	10750	17200	37800	
2h	0	0.13	0.00	0.00	0.00	1.13	0.38	0,00	0	0	0	0	0	0
4h	0	0.46	0.00	0.00	0.00	2.13	0.75	0,5	0	0	0,25	0	1	1
6h	0	0.25	0.00	0.00	0.00	2.88	1.63	0,75	0	0,25	0,25	0	1	1
8h	0	0.92	0.00	0.00	0.00	4.25	2.00	1	0,5	1	0,25	0	1	1
10h	0	1.00	0.00	0.00	0.00	5.25	6.75	1	0,5	1	0,25	0	1	1
12h	0	1.00	0.00	0.00	0.00	5.25	7.00	1	0,5	1	0,25	0	1	1
24h	0	2.88	0.00	0.00	0.25	9.04	19.50	1	1,5	1	0,25	0	1	1
2 día	0	4.83	0.5	0.75	1	12.25	20.00	1	2	1	0,25	0	1	1
3 día	0	6.58	2.25	1.5	2.5	15.50	-	1	2	1	0,5	0	1	1
4 día	0	8.38	4.25	2.25	5	16.83	-	1	2	1	0,5	0	1	1
5 día	0	9.13	4.5	2.75	5.75	17.50	-	1	2	1	0,5	0,25	1	1
6 día	0	9.96	6.25	4.75	7.75	17.75	-	1	2	1	1,25	0,25	1	1
7 día	0	10.25	6.75	5.25	8.5	17.88	-	1	2	1	1,25	0,25	1	1
8 día	0	10.25	7.25	5.75	10.75	17.50	-	1.5	2	1	1,25	0,25	1	1
9 día	0	10.67	7.5	5.75	12.75	18.00	-	1.5	2	1	1,25	0,5	1	1
10 día	0	10.67	8.25	7.75	15.5	18.25	-	1.5	2.25	1	1.5	1	1.5	1.5
11 día	0	10.79	8.5	9	15.75	18.25	-	1.5	2.25	1	1.5	1	1.5	1.5
12 día	0	10.92	8.75	10	16.5	18.25	-	1.5	2.25	1	1.5	1	1.5	1.5
13 día	0	11.04	8.75	11.25	17	18.25	-	1.75	2.25	1	1.5	1	1.5	1.5
14 día	0	11.42	9.25	12.25	17.25	18.25	-	1.75	2.25	1	1.5	1	1.5	1.5

Legenda: esp/ml: esporas por mililitro. Btk-c: *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial. Btk-l: *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio. Bti: *Bacillus thuringiensis israelensis* de laboratorio.
Fuente: Elaboración propia

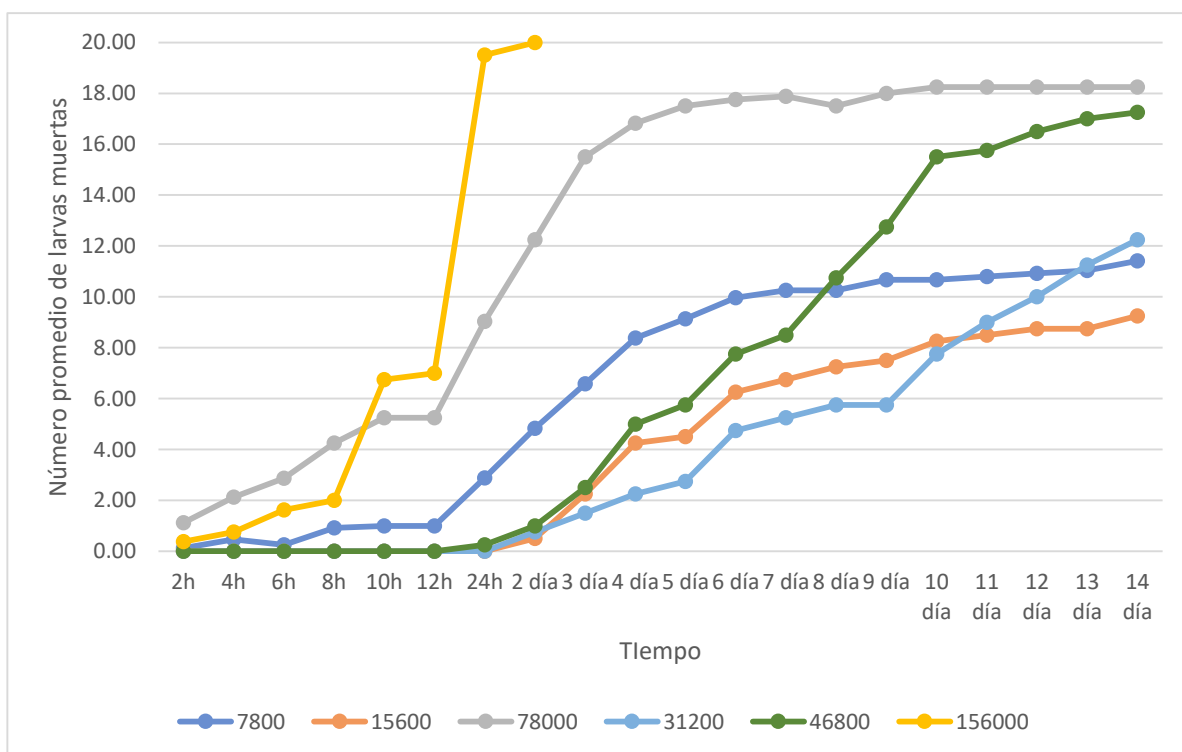


Figura 24 Larvas muertas en el tiempo con Btk-c a 6 concentraciones de esporas/ml

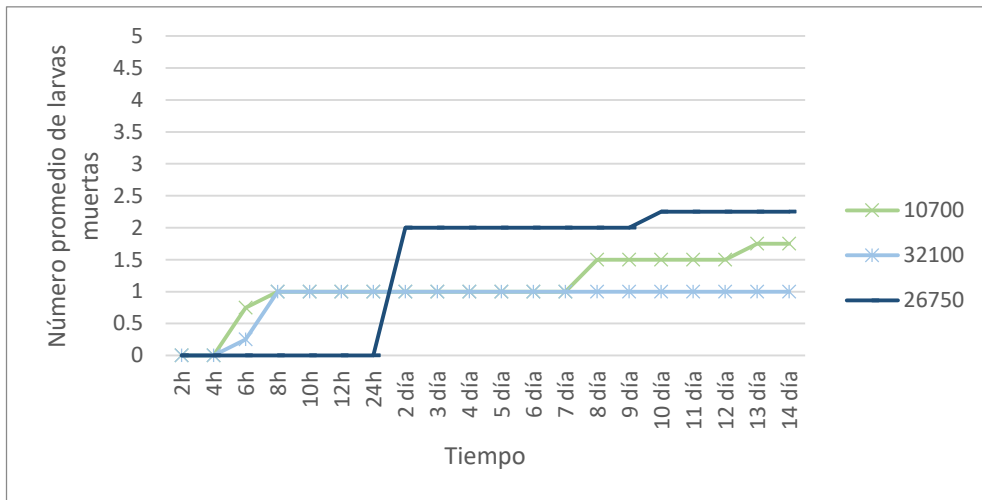


Figura 25 Larvas muertas en el tiempo con Btk-I a 3 concentraciones de esporas/ml

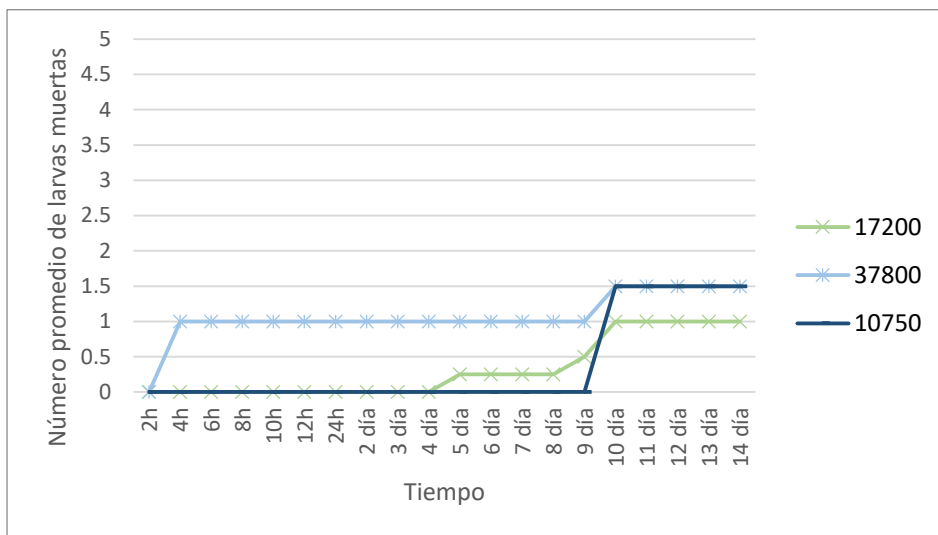


Figura 26 Larvas muertas en el tiempo con Bti a 3 concentraciones de esporas/ml.

Se encontró el mayor número de larvas muertas a las 24 horas con la concentración de 156 000 esp/mL y en este grupo todas las larvas habían muerto para las 48 horas. El grupo de 78 000 esp/ml alcanzó una mortalidad larvaria mayor al 50% a las 48 horas después del inicio de la exposición. Mientras que para el grupo de menor concentración (7800 esp/ml), transcurrieron 7 días para alcanzar el 50% de mortalidad larvaria (Tabla 2 y Figuras 24-26).

Tabla 3 Análisis de Varianza para la mortalidad de larvas del III-IV estadio de *Aedes aegypti* expuestas a diferentes concentraciones de Btk-c en condiciones de laboratorio

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Entre grupos	397.798319	5	79.5596639	11.42	<0.001
Intra grupos	195.142857	28	6.96938776		

Leyenda: Btk-c: *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial. Fuente: Elaboración propia

Realizamos también un análisis de varianza de mortalidad larvaria, intra y entre grupos para las diferentes concentraciones de Btk-c, el cual se presenta en la Tabla 3. En relación con la mortalidad larvaria de *A. aegypti* frente a la acción bioinsecticida de las diferentes concentraciones de Btk-c se presentaron diferencias significativas entre los grupos, con un nivel de significancia de 0.05, $F=11.42$, $p<0.001$, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 4 Comparación de distintas concentraciones de *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial frente a cantidad de larvas muertas de estadio III-IV de *Aedes aegypti* mediante la prueba Tukey

Tratamiento	Tukey HSD	Tukey HSD
Par comparado	p-valor	Significancia
A vs B	0.571	No significativo
A vs C	0.547	No significativo
A vs D	0.072	No significativo
A vs E	0.004	** $p<0.01$
A vs F	0.001	** $p<0.01$
B vs C	0.064	No significativo
B vs D	0.005	** $p<0.01$
B vs E	0.001	** $p<0.01$
B vs F	0.001	** $p<0.01$
C vs D	0.883	No significativo
C vs E	0.500	No significativo
C vs F	0.090	No significativo
D vs E	0.900	No significativo
D vs F	0.622	No significativo
E vs F	0.839	No significativo

Leyenda: A:7800 esp/ml . B: 15600 esp/ml.C:31200 esp/ml. D: 46800 esp/ml. E: 78000 esp/ml. F:156000 esp/ml. Fuente: Elaboración propia

Para estudiar más a detalle la diferencia entre los grupos, se realizó un análisis post hoc de los datos obtenidos mediante la comparación de las distintas concentraciones de Btk-c empleando la prueba Tukey la cual realiza comparaciones por pares de grupos (Tabla 4). Esta evidenció la existencia de diferencias significativas

entre los tratamientos con la concentración de 7800 esp/ml y 78000 esp/ml; 7800 esp/ml y 156000 esp/ml; 15600 esp/ml y 46800 esp/ml; 15600 esp/ml y 78000 esp/ml; y 15600 esp/ml y 156000 esp/ml, el resto de las relaciones no presentaron diferencias significativas en sus efectos para mortalidad larvaria. De forma que los grupos con efectos significativos y diferentes entre sí fueron el de 7800 esp/ml, 15600 esp/ml y 78000 esp/ml.

Comparación entre el efecto biológico del Btk-c, Btk-l y Bti en el ciclo de vida de las larvas de *A. aegypti*

Luego, se comparó el efecto del Btk-c, con el de la misma cepa *Bacillus thuringiensis kurstaki*, pero de laboratorio (Btk-l). Aquí, la concentración de 32100 esp/ml de Btk-l alcanzó la unidad de larvas muertas a las 8h, mientras que una concentración similar de 31200 esp/ml de Btk-c alcanzó esta misma cantidad de al menos una larva muerta en promedio, después de 48 a 72 horas de exposición. Sin embargo, encontramos que en todos los grupos de Btk-c, la mortalidad larvaria después de 7 días de exposición fue mayor que la de Btk-l en el mismo lapso. (ver Tabla 2)

Por otro lado, en la comparación de Btk-c y *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), encontramos que para el grupo de 10750 esp/ml, el inicio de la mortalidad fue a partir de las 4h de exposición, mientras que una concentración de esporas menor de Btk-c, de 7800 esp/ml, comenzó su efecto larvicida a partir de las 2 horas de exposición. No obstante, para el grupo de Btk-c de 15600 esp/ml, el inicio de la mortalidad larvaria se vio demorado hasta las 48 horas; mientras que para una concentración similar (17 200 esp/ml) de Bti, este efecto larvicida no se evidenció durante los primeros 5 días de exposición.

Finalmente, al comparar el Btk-l y Bti, se observó que una dosis de 37800 esp/ml de Bti llegó a una mortalidad larvaria de al menos 1 larva muerta en promedio, después de 4 horas de exposición, en

contraste con una concentración de 31200 esp/ml el Btk-I, la cual llegó a la misma cifra recién a las 6h de exposición. (Tabla 2). En un trabajo experimental como este, que plantea medir y comparar el efecto de un agente biológico sobre el vector *Aedes aegypti*, se calculó también su dosis letal media (DL50) y su dosis letal máxima (DL90) (ver Anexo 3).

GRUPOS DE BTK-C EXPUESTOS A LA RADIACIÓN UV EN LAS LARVAS DE AEDES AEGYPTI (Btk-c-UV)

Efecto del Btk-c expuesto a radiación ultravioleta en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti*

Al comparar los grupos de Btk-c expuestos previamente a radiación UV (Btk-c-UV) frente a los grupos sin exposición previa a radiación UV (Btk-c), obtuvimos lo siguiente:

Tabla 5 Desenlaces por grupo de Btk-comercial (esp/ml) expuesto y no expuesto a la radiación UV en larvas del estadio III-IV de *Aedes aegypti*

GRUPO	LARVAS MUERTAS (media±SD)	LARVAS MUERTAS (% promedio)	p valor	MUERTOS TOTALES* (media ± SD)	MUERTOS TOTALES* (% promedio)	p valor	ADULTOS VIVOS (media ± SD)	ADULTOS VIVOS (% promedio)	p valor
Control	0.13 ± 0.25	0,65		1.43 ± 1.27	7,14		18.6 ± 1.27	92,90	
7800 esp/ml	12.9 ± 4.50	63,6	0,0116	17.17 ± 1.65	85,85	0,161	3.29 ± 1.80	16,45	0,128
7800 esp/ml + UV	6.88 ± 2.81	34,4		15.13 ± 0.18	75,63		4 ± 1.69	20,00	
15600 esp/ml	10 ± 3.46	50	0,2784	20 ± 0	100,00	-	0	0	-
15600 esp/ml + UV	5 ± 1.41	25		20 ± 0	100,00		0	0	
78000 esp/ml	18.43 ± 0.54	92,1	0,0169	20 ± 0	100,00	-	0	0	-
78000 esp/ml +UV	19.5 ± 0.73	97,5		20 ± 0	100,00		0	0	

Leyenda: esp/ml: esporas por mililitro. Btk-c: *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial. UV: Irradiancia de 119 uw/cm². Se considera n=20 por ser el número de larvas en cada táper de réplica. *Incluye muertos en todos sus estadios desde larvas III-IV. Fuente: Elaboración propia

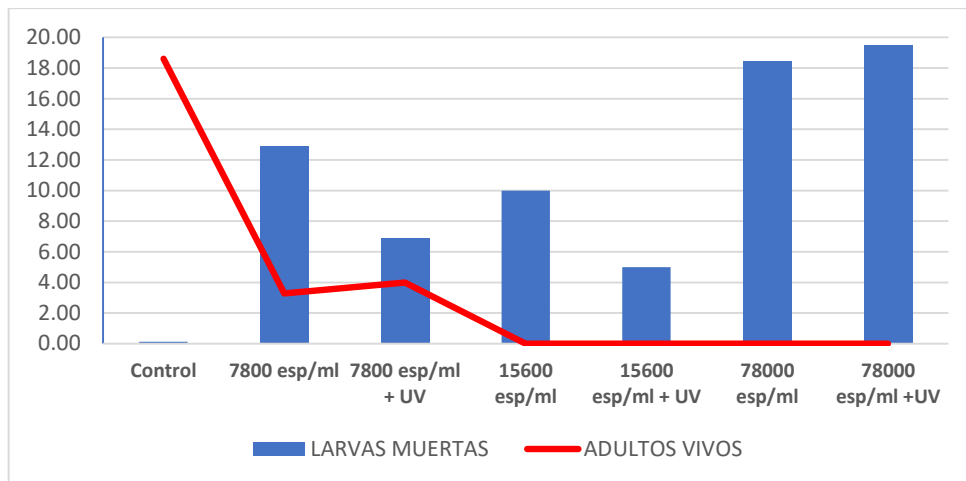


Figura 27 Acción del Btk-c expuesto y no expuesto a la radiación UV. Leyenda: esp/ml esporas por mililitro, n=20 por ser el número de larvas en cada réplica. Fuente: Elaboración propia

Respecto a la menor concentración de esporas (7800 esp/ml, obtenido según la indicación del distribuidor), el grupo Btk-c-UV mostró una reducción de actividad larvicida del 29.2%. Además, el porcentaje de muertos totales disminuyó en 10.22%. Así mismo, el promedio de adultos vivos aumentó en 3,55%, lo que nos indica un mayor grado de afectación de la radiación UV sobre el Btk-c disminuyendo su actividad larvicida y permitiendo el aumento del pase a adultos, quienes finalmente son los vectores de enfermedades (Tabla 5 y Figura 27).

Con la concentración de 15600 esp/ml, el grupo Btk-c-UV redujo el efecto larvicida del Btk-c en 25%. Los muertos totales se mantuvieron en 100% y no se registraron adultos vivos, lo cual representa que con una concentración 2 veces la indicada por el distribuidor, la radiación UV afecta la acción biológica del Btk-c respecto a su efecto larvicida, pero no afecta su efecto pesticida sobre otros estadios, ya que se encontró una mortalidad total (Tabla 5).

Finalmente, respecto a la mayor concentración de 78000 esp/ml, el grupo Btkc-UV aumentó la mortalidad larvaria en 5.4%, los muertos totales permanecieron en 100% y no se registraron adultos vivos, lo cual indica que con una concentración 10 veces la indicada por el

distribuidor, la radiación UV no reduce la acción larvicida del Btk-c, sin afectación en otro estadio (Tabla 5).

Tabla 6 Número promedio de larvas muertas del III-IV estadio de *Aedes aegypti*, expuestas a diferentes concentraciones de Btk-c previamente expuesto a UV, evaluadas cada 2 horas y diariamente

GRUPO/ TIEMPO	CONTROL	7800 esp/ml	7800 esp/ml + UV	15600 esp/ml	15600 esp/ml + UV	78000 esp/ml	78000 esp/ml +UV
2h	0	0.13	0.25	0.00	0.00	1.13	1
4h	0	0.46	0.38	0.00	0.25	2.13	2.25
6h	0	0.25	0.50	0.00	0.50	2.88	3.375
8h	0	0.92	0.75	0.00	0.75	4.25	3.5
10h	0	1.00	0.75	0.00	1.50	5.25	5.375
12h	0	1.00	1.00	0.00	2.75	5.25	6.75
24h	0	2.88	2.50	0.00	2.75	9.04	10
2 día	0.13	4.83	3.13	0.5	2.75	12.25	12.5
3 día	0.13	6.58	3.88	2.25	3.00	15.50	14.375
4 día	0.13	8.38	6.00	4.25	3.25	16.83	15.75
5 día	0.13	9.13	6.50	4.5	3.75	17.50	16.25
6 día	0.13	9.96	6.63	6.25	4.00	17.75	17.375
7 día	0.13	10.25	5.88	6.75	4.25	17.88	18
8 día	0.13	10.25	5.88	7.25	4.25	17.50	18.125
9 día	0.13	10.67	5.88	7.5	4.75	18.00	18.875
10 día	0.13	10.67	6.00	8.25	5.00	18.25	18.5
11 día	0.13	10.79	6.00	8.5	5.00	18.25	19
12 día	-	10.92	7.00	8.75	5.00	18.25	19
13 día	-	11.04	-	8.75	-	18.25	20
14 día	-	11.42	-	9.25	-	18.25	-

Leyenda: esp/ml: esporas por mililitro. Btk-c: *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial. UV: Irradiancia de 119 uw/cm². Se considera n=20 por ser el número de larvas en cada táper de réplica. Fuente: Elaboración propia

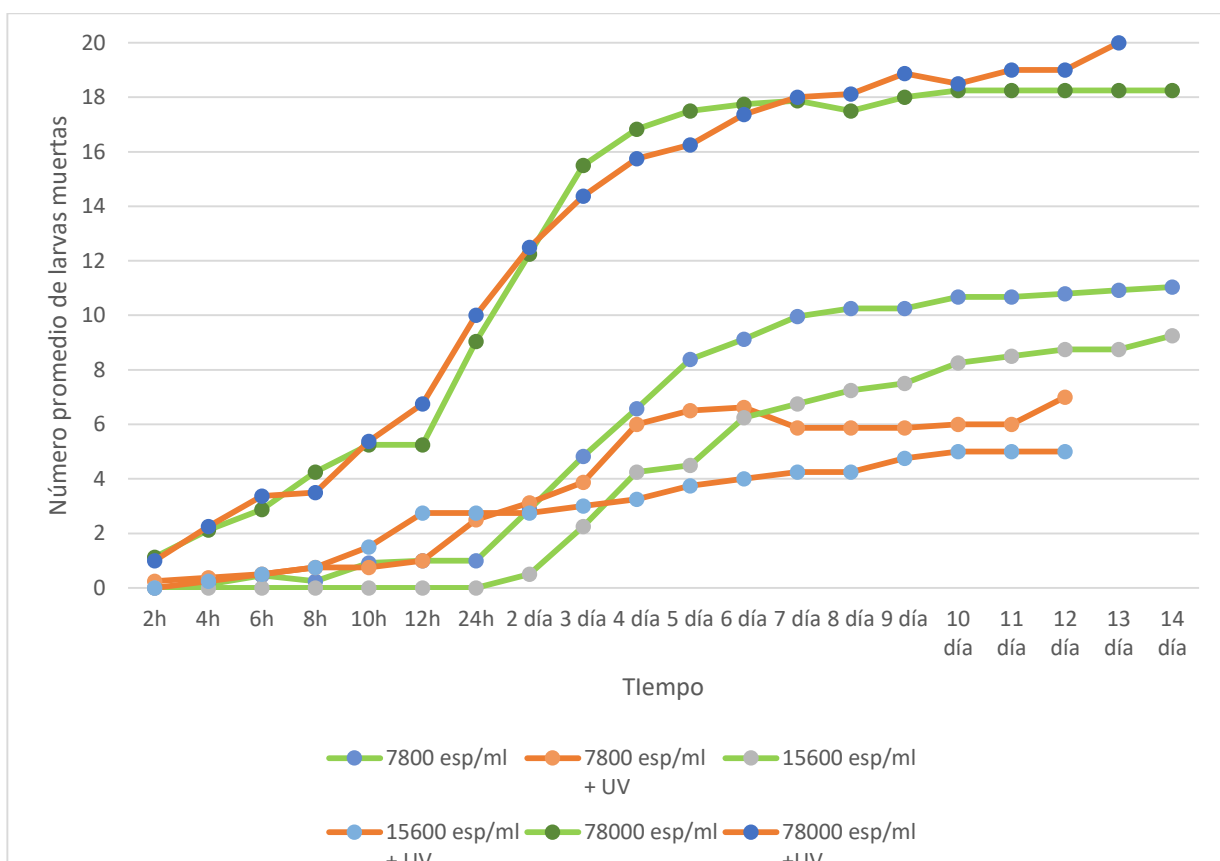


Figura 28 Larvas muertas en el tiempo con Btk-c con y sin exposición a UV

Con la menor concentración de esporas (7800 esp/ml), a los 7 días el Btk-c-UV alcanzó un promedio de 5.88 larvas muertas, mientras que el Btk-c alcanzó 10.25 de larvas muertas en un mismo tiempo, un equivalente aproximado al 50% de la mortalidad larvaria. Es decir, el Btk-c-UV demoró más tiempo en alcanzar un mayor promedio de larvas muertas. Así mismo, vimos que en el día 12 se cerró el grupo de Btk-c-UV hasta un promedio de 7 larvas muertas, lo que significa que el resto de larvas pasaron a pupas y hasta adultos eventualmente (ver tablas 5 y 6, y figura 28).

Con la concentración de 15600 esp/ml, observamos que el grupo de Btk-c-UV culminó en 12 días con un promedio de 5 larvas muertas, lo cual quiere decir que el resto de las larvas pasaron a pupas y hasta adultos eventualmente (ver tablas 5 y 6), mientras que el grupo Btk-c llegó a un promedio de 8.75 de larvas muertas

en el mismo tiempo, lo cual representa que el Btk-c-UV alcanzó un menor efecto larvicida dentro de un periodo similar (ver tabla 6).

Con la mayor concentración de 78000 esp/ml, notamos que el grupo Btk-c-UV obtuvo un promedio de 20 larvas muertas en 13 días, mientras que el Btk-c alcanzó un promedio de 18.25 larvas muertas en 14 días, lo que indica que, para esta concentración, la radiación UV no afectó la acción biológica del Btk-c (tabla 6).

5 DISCUSIÓN

En el presente estudio los autores evidenciaron que el *Bacillus thuringiensis* (Bt) y el *Bacillus thuringiensis* expuesto a la radiación UV ejercen un efecto regulador en el ciclo de vida del *Aedes aegypti*.

La literatura reporta que el *Bacillus thuringiensis* genera complejos esporas-cristal que incorporan toxinas, principalmente Cry y Cyt (7), que cuentan con receptores en el epitelio intestinal de insectos como el *Aedes aegypti* (41). De esta manera, cuando las larvas consumen esta bacteria, el efecto paralizante en su sistema digestivo puede llevar a un desenlace fatal (42). Se ha documentado que estas toxinas son susceptibles a la radiación ultravioleta, ya que dicha radiación puede provocar la pérdida de su capacidad para degradar las células epiteliales del sistema digestivo del insecto al que están expuestas (43).

En nuestros ensayos, se pudo evidenciar la acción del *Bacillus thuringiensis* (cepa comercial y de laboratorio) como larvicida y su utilidad para disminuir el porcentaje de adultos vivos en todos los

grupos en los que se aplicó. Sin embargo, el Btk-c expuesto a la radiación ultravioleta experimenta una reducción significativa en su capacidad larvicida en comparación con los grupos de larvas tratados con Btk-c no expuesto a la radiación ultravioleta. Por otro lado, factores físicos como la temperatura y la radiación ultravioleta tienen la capacidad de influir en el metabolismo celular y la supervivencia del *Aedes aegypti* (44).

Efecto del *Bacillus thuringiensis* en el ciclo de vida del *Aedes aegypti*

Los resultados presentados también nos han mostrado que el *Bacillus thuringiensis* ejerce un efecto regulador en el ciclo de vida del *Aedes aegypti* en diferentes estadios (larvas III-IV, pupas y adultos). Nuestros experimentos se realizaron con 2 cepas: *Bacillus thuringiensis krustaki* (Btk), en una presentación de producto comercial (Btk-c) y otra obtenida de laboratorio (Btk-l), y *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). Se encontró que este Bacillus posee actividad larvicida significativa para los grupos expuestos al Btk-c, con la concentración de 15 6000 esp/ml se alcanzó el 100% de mortalidad larvaria a las 48 horas, lo cual se condicen con los hallazgos obtenidos por Couch y Ross (45), quienes señalan que el mayor efecto larvicida de *Aedes aegypti* se produce entre las 24 y 48 horas después de la exposición a Bti. Con los grupos expuestos a Btk-l, se alcanzó un promedio de 2,25 larvas muertas con una concentración de 26750 esp/ml en 14 días, y con respecto a los grupos expuestos a Bti, se obtuvo un promedio de 1,5 larvas muertas con una concentración de 10750 y 37800 esp/ml en el mismo periodo de seguimiento.

Rodriguez Quiroz y col. encontraron la mayor eficacia a las 72 horas a una concentración de 66240 esp/mL en un trabajo donde se utilizó Bti mutante (46); sin embargo, Rebaza-Sánchez y col. demostraron la mortalidad al 100% a las 24 horas con 6 concentraciones de Bti

que emplearon (670; 1683; 4247; 10619; 26673; 67000 esp/mL), donde se observó la máxima respuesta con 67000 esp/ml a las 6 horas (15).

Hemos comparado también el efecto larvicida entre cepas. Observamos que con 7800 esp/ml, el Btk-c produce un promedio de 11.42 larvas muertas en 14 días de seguimiento. Con las cepas del laboratorio, podemos evaluar que, en concentraciones similares, 10700 esp/ml de Btk-l y 10750 esp/ml de Bti, el promedio de larvas muertas durante un mismo intervalo de seguimiento para Btk-l fue 1.75 y para Bti fue 1.5, lo cual favorece al Btk-l; sin embargo, notamos que la actividad larvicida de las cepas de laboratorio es bastante menor con respecto a la cepa Btk-c.

Podemos explicar que una menor actividad biológica de las cepas de laboratorio frente a la cepa comercial puede deberse a que las concentraciones empleadas de las cepas de laboratorio no han sido suficientes para cubrir el consumo de la densidad larvaria expuesta, por lo que probablemente las concentraciones usadas alcanzaron un pico de agotamiento, sin que llegue a aproximarse al efecto larvicida producido por las concentraciones usadas de la cepa comercial. Esto concuerda con el trabajo realizado por Corbillón-Corraspita y col, quienes evaluaron los factores bióticos sobre la acción del Bti contra *Aedes aegypti*, donde demostraron que la densidad larvaria y la actividad larvicida del Bti siguen una relación inversa, además de explicar que a mayor densidad larvaria, es mayor la competencia por el consumo de la bacteria y podría agotarse, lo que podría sugerirnos que la concentración de *Bacillus thuringiensis* requiere un ajuste acorde a la densidad larvaria (47).

Corbillón-Corraspita et al. también encontraron mayor actividad larvicida del *Bacillus thuringiensis* sobre los estadios larvarios más tempranos al comparar entre el II, III y IV (47). En nuestro estudio, usamos larvas en estadios III y IV, siendo estas larvas de mayor estadio menos susceptibles al efecto de las toxinas producidas por

el Bt. La necesidad de un ajuste de concentración acorde a la densidad larvaria y al transcurso del tiempo sería ideal (48,49).

Además se observó una correlación positiva dosis-respuesta entre la concentración de Btk-c y el promedio del porcentaje de mortalidad larvaria, excepto con la concentración de 15600 esp/ml, lo cual concuerda con los resultados encontrados por Rebaza-Sánchez y col., quienes demostraron una relación directa de dosis – respuesta (8), mientras que Blas-Cerdán y col. no encontraron una relación directa entre la actividad larvicida y la concentración de la bacteria, ya que la mayor mortalidad significativa se encontró con 4000 ppm de Bti mutante, cuando sus experimentos emplearon 3000, 4000 y 500 ppm de la bacteria (14).

Otros resultados que encontramos con Btk-c, Btk-l y Bti, fueron los porcentajes de muertos totales y adultos vivos. Fernández Chapa registró los datos del porcentaje de pupación y el porcentaje de adultos emergentes para evaluar la acción de los extractos de Bti almacenados por 40 años sobre *Aedes aegypti* (50). No solamente se demostró la acción larvicida, sino que se registró el 100% de muertos totales desde 15600 esp/ml de Btk-c y no se encontró ningún adulto vivo a partir de la misma concentración. Con la concentración indicada por el distribuidor, se registró un promedio de 3.29 adultos vivos. Se desprende que el Btk-c ejerce un efecto biológico en el ciclo de vida de *Aedes aegypti* desde larvas III-IV, lo cual puede explicarse por la persistencia de las toxinas del *Bacillus thuringiensis* en otros estadios del *Aedes aegypti*, es decir, su actividad biológica no solo se limitaría a su efecto larvicida, sino también sobre las pupas y los adultos, además de actuar como un regulador del crecimiento del vector (51). Esta información es significativa ya que el control biológico que ejerce el Btk-c no solo se limita a estadios tempranos del *Aedes aegypti*, sino hasta adultos, quienes finalmente son los vectores transmisores de las enfermedades (52).

Al llevar a cabo el Análisis de Varianza dentro de los grupos experimentales (registrados en las tablas 5 y 6), se destacó la presencia de discrepancias significativas entre las diversas concentraciones de Btk-c aplicadas en los grupos sujetos a distintas dosis. Mediante la implementación de la prueba de Comparación Múltiple de promedios Tukey, fuimos capaces de discernir los pares de concentraciones que mostraban diferencias significativas entre sí. Las discrepancias observadas en los grupos experimentales se atribuyen a las propiedades de las toxinas generadas por el Btk-c. Se infiere que, a medida que la concentración del Btk-c aumenta, se produce una mayor disponibilidad de estas toxinas para inducir la muerte de las larvas. En consecuencia, la tasa de mortalidad se encuentra influenciada por diversos factores, tales como la solubilidad de las proteínas Cry, la actividad de las proteasas presentes en el intestino medio y las características de los receptores.

Efecto del *Bacillus thuringiensis*, expuesto a radiación ultravioleta, en el ciclo de vida del *Aedes aegypti*

Nuestros experimentos nos demostraron que el *Bacillus thuringiensis kurstaki* en su presentación comercial (Btk-c) expuesto a la radiación ultravioleta A y B (Btk-c-UV) ejerce un efecto larvicida menor que el Btk-c no expuesto a la radiación UV.

Con la concentración de 7800 esp/ml del Btk-c-UV, se registró una mortalidad larvaria de 34.4% equivalente a un promedio de 6.88 larvas muertas, respectivamente, en un periodo de 14 días. Sin embargo, con la misma concentración de esporas del Btk-c, sin exposición a radiación UV, se obtuvo un efecto larvicida de 63,6% equivalente a un promedio de 12,9 larvas muertas, en el mismo tiempo de seguimiento.

Cuando se trabajó con 15600 esp/ml del Btk-c-UV, se encontró un efecto larvicida de 25%, que significó un promedio de 5 larvas

muertas, en un intervalo de 14 días. En contraste, con igual concentración de esporas del Btk-c, sin exposición a radiación UV, se halló una mortalidad larvaria de 50%, equivalente a un promedio de 10 larvas muertas, en el mismo periodo.

Al evaluar el efecto 78000 esp/ml del Btk-c-UV, se obtuvo una mortalidad larvaria de 97.5% que representó un promedio 19,5 larvas muertas en 14 días de seguimiento, pero con una similar concentración de esporas del Btkc, sin exposición radiación UV, se encontró una actividad larvicida de 92,1%, equivalente a un promedio de 18,43 larvas muertas, en un igual intervalo de tiempo.

Notamos que con las concentraciones de 7800 y 15600 esp/ml, el Btk-c-UV con una irradiancia de 119,3 uW/cm² por 12 horas, reduce su efecto larvicida en 29,2% y 25%, en comparación al Btk-c sin exposición a radiación UVA y UVB, por lo que interpretamos que la radiación ultravioleta tipo A y B reduce la actividad biológica del *Bacillus thuringiensis* contra las larvas del *Aedes aegypti*. Esto es consistente con los resultados encontrados por Maldonado Blanco et al., quienes compararon el efecto de la radiación ultravioleta con exposición de 24, 48 y 72 horas a una irradiancia de 75 mW a 254 nm de longitud de onda sobre la actividad larvicida en extractos formulados con factores de protección ultravioleta (bloqueadores solares) y no formulados de Bti, donde registraron una reducción de hasta el 46% de mortalidad de larvas de *Aedes aegypti* en los extractos no formulados de Bti (53). También nuestros resultados guardan relación con los encontrados por Myasnik et al., quienes hallaron una mayor susceptibilidad del Btk al UVB, en un rango de 280-330 nm, al evaluar su efecto larvicida contra lepidópteros, en comparación con el Bti, cuyas esporas fueron más resistentes al UVB (54).

En contraste con nuestros hallazgos, Salcedo Gonzáles realizó una investigación para evaluar la eficacia del Bti comercial (VectoBac-WG) en tres concentraciones (0,03, 0,06 y 0,13 mg/L) luego de ser

sometido a tres tiempos de exposición solar (1, 2 y 3 horas) sobre larvas estadio cuatro de *Culex quinquefasciatus*. Los autores encontraron que con 2 y 3 horas de exposición, existió un efecto estadísticamente mayor ($p < 0,05$) al compararlo al Bti expuesto 1 hora, al registrar la mortalidad a las 24 y 48 horas. Además, sus DL50 disminuyeron conforme el tiempo de exposición solar aumentaba, por lo que concluyeron que la actividad larvicida del Vectobac-WG no disminuyó cuando fue expuesta hasta a 3 horas a la radiación solar (55). Así mismo, Huamaní Román desarrolló un estudio para demostrar el efecto larvicida del VectoBac-WG en las concentraciones de 0,28; 0,57; 1,13 y 2,26 mg/L sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* del IV estadio, donde compararon la exposición y no a la radiación solar de este producto comercial. El autor encontró que la mortalidad larvaria aumentó significativamente ($p < 0,05$) a medida que se incrementó la concentración; sin embargo, no se halló significancia ($p > 0,05$) cuando comparó los grupos expuestos y no a la radiación solar del VectoBac-WG (56).

Leong et al. estudiaron los factores que afectan la persistencia de *Bacillus thuringiensis* en el campo, donde concluyeron que la radiación solar afecta la viabilidad y la patogenicidad del *Bacillus thuringiensis* (52). Así también, Ramírez et. al realizaron un estudio orientado a mantener la acción del complejo spora-toxina del Bti al encapsularlo dentro de carboximetilcelulosa de aluminio (CMC) utilizando agentes fotoprotectores contra la luz ultravioleta. En esa investigación, hallaron que la eficacia de Bti expuesto a la radiación ultravioleta ascendió hasta el 88% en los grupos con CMC, frente a un grupo de Bti que no fue encapsulado. Al microencapsular el complejo spora-toxina utilizando carboximetilcelulosa de aluminio en combinación con rojo ponceau, verde malaquita o rojo congo como agentes de fotoprotección, y posteriormente someterlo a una exposición a la luz ultravioleta durante un período de 24 horas, se lograron tasas de mortalidad del 23%, 50%, 60% y 88%

respectivamente, en larvas del tercer estadio de *Aedes aegypti* (57). Puztai et al estudiaron el mecanismo de inactivación de los cristales del *Bacillus thuringiensis* por la luz solar. Sus resultados demostraron que el rango de 300-380 nm del espectro solar provoca daños en los cristales por un fenómeno de degradación que se explica por la presencia de cromóforos exógenos y endógenos, mediante la producción de especies reactivas de oxígeno, tras la exposición a la radiación solar (43). Otro mecanismo de acción fue investigado por Xue et al., quienes concluyeron que la inactivación del complejo espora-cristal se produce por daño en las enzimas responsables de la reparación del ADN, implicadas en conferir resistencia contra la radiación ultravioleta (58). Se ratifica así que la radiación ultravioleta afecta la acción de las toxinas del complejo esporas-cristal del *Bacillus thuringiensis*, las cuales pueden ser protegidas mediante mecanismos de encapsulación.

Al comparar también otros estadios entre el Btk-c y Btkc-UV a la concentración de 7800 esp/ml, notamos que con 7800 esp/ml de Btkc-UV, hubo un aumento de 3,55 % de adultos vivos. En contraste a ello, encontramos que con las concentraciones de 15600 y 78000 esp/ml de Btkc-UV, no se registraron adultos vivos. Se infiere que la radiación UVA y UVB a un nivel de irradiancia de 119,3 uW/cm² reduce la actividad biológica del Btk-c con la concentración efectiva indicada por el distribuidor porque hubo más larvas que llegaron hasta adultos vivos, pero con concentraciones 2 y 10 veces la anterior no se notaron cambios, sino que se registró el 100% de mortalidad en larvas, pupas y adultos. Estos datos significan que la actividad biológica del producto comercial “*Bacillus thuringiensis*”, según su concentración indicada, puede afectarse por la radiación ultravioleta.

Por lo tanto, la susceptibilidad del Btk-c a la radiación ultravioleta tipo A y B se demuestra para una concentración de 7800 esp/ml (indicada por el producto) y 15600 esp/ml (2 veces la anterior) por su reducción en su actividad larvicida. El aumento del porcentaje de

adultos vivos solo se observó para la concentración indicada por el producto. Sin embargo, con una concentración 10 veces la indicada por el distribuidor, expuesta a una misma irradiancia por el mismo tiempo, se mantiene el efecto larvicida y afectación en el estadio adulto del *Aedes aegypti*. Se desprende que la concentración empleada del Btk-c, los componentes que conservan el producto comercial, el nivel de irradiancia y el tiempo de exposición a la radiación ultravioleta afectan también la sensibilidad del *Bacillus thuringiensis* y por lo tanto pueden mantener su actividad biológica contra el ciclo de vida de *Aedes aegypti* (55,56).

Implicancia de los resultados en salud pública

En el año 2023, el Ministerio de Salud del Perú aprobó la implementación de la Norma Técnica de Salud, enfocada en la Vigilancia Entomológica y Control del *Aedes aegypti*, así como también la supervisión de la introducción del *Aedes albopictus* en el ámbito nacional. Este documento abarca de manera exhaustiva la gestión del vector *Aedes aegypti*, con un énfasis particular en el control larvario (59).

Este tipo de control se ejecuta a nivel domiciliario mediante la inspección minuciosa de recipientes con acumulación de agua, con el propósito de identificar posibles criaderos del vector. Las estrategias de control larvario se categorizan en tres modalidades distintas: física, química y biológica. El enfoque físico involucra la limpieza y la eliminación de potenciales criaderos a través del adecuado manejo de los recipientes. Por su parte, el enfoque químico implica la aplicación de larvicidas en recipientes que presentan dificultades para el recambio de agua. En cuanto al enfoque biológico, se recurre al uso de organismos depredadores o patógenos, como el *Bacillus thuringiensis*. La relevancia de estos métodos radica en que se ha reportado una menor resistencia de parte del *Aedes*, y a que permiten su aplicación en recipientes donde los larvicidas químicos no serían viables, debido a que no

representan un riesgo para el agua destinada al consumo humano (8,13,59).

Entre los organismos biológicos de especial consideración, el *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) se destaca, si bien no se establece un valor de referencia específico para su uso, se recomienda su aplicación en dosis que oscilen entre 1 y 5 mg/L (60). Sin embargo, para su uso es esencial que la preparación del Bti cumpla con los más rigurosos estándares de calidad y se ajuste a las normativas de higiene, además de cumplir con las especificaciones establecidas por el Programa de Evaluación y Pruebas de Productos para la Salud Pública de la Organización Mundial de la Salud (WHO Pesticide Evaluation Scheme, WHOPES) (61).

Respecto a la efectividad del *Bacillus thuringiensis*, para la OMS, el *Aedes* es susceptible a un plaguicida comercial cuando este logra una mortalidad mayor al 98% en las primeras 24 horas post-exposición; siendo valores entre 90% y 97% indicativos de una posible resistencia y que demandan una repetición de la prueba.(62) Los mecanismos de resistencia a plaguicidas son múltiples, y en los últimos años se han reportado algunos mecanismos de resistencia del Bt. Estos tendrían como diana los receptores de la pared intestinal de las larvas de mosquito mediante mutaciones que impidan la ingesta de las toxinas por parte de las larvas. Un estudio sobre los mecanismos genéticos de la resistencia del Bti al *Aedes aegypti* identificó que los genes que codifican la caderina y las enzimas peptidasas se encontraban mutados en los *Aedes* con resistencia al Bti (33). Otro mecanismo de resistencia encontrado ha sido la expresión de una menor cantidad de los receptores de membrana para la toxina Cry en las cepas de *Aedes aegypti* resistentes a Bt, la cual es la que conlleva a la muerte de la larva.

Finalmente, es relevante destacar la necesidad continua de investigar el impacto de la exposición a la radiación ultravioleta, al *Bacillus thuringiensis* y al *Bacillus thuringiensis* previamente expuestos a la radiación UV en las generaciones sucesivas de estos mosquitos *Aedes*.

Wang y colaboradores analizaron los efectos subletales ocasionados por la exposición al *Bacillus thuringiensis* H-14 en la siguiente generación de larvas expuestas a esta bacteria. Este estudio implicó la exposición a Bt H-14 en larvas en el cuarto estadio de *Aedes aegypti*, con un seguimiento tanto hasta su fase de adultos (etapa parental), como en su generación subsiguiente (F1 o descendencia). Se observó una disminución estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en las tasas de supervivencia de las larvas, pupas y adultos de *A. aegypti* expuestos, tanto en la etapa parental como en la de cría del grupo tratado, en comparación con el grupo de control. Asimismo, se constató una disminución en la producción de huevos en el grupo tratado en comparación con el grupo de control. Por último, se observó que las crías de adultos expuestos requerían un período mayor para completar su desarrollo desde el estado de huevo hasta el estado de adulto. Estos resultados de reducción en la cantidad de huevos producidos y en la prolongación del periodo de desarrollo en las crías ofrecen ventajas complementarias que confirman la idoneidad del Bti para el control de los mosquitos (63). Por otro lado, Carvalho et al estudió la exposición prolongada de larvas de *Aedes aegypti* a Bti, y encontró que esta exposición no alteró la mayoría de los parámetros biológicos evaluados, salvo que las hembras mostraron una mayor susceptibilidad vectorial al virus del Zika. Esto en una población con un trasfondo de exposición a Bti durante varias generaciones, pero no con una exposición previa de las hembras analizadas durante la fase larvaria. (64)

Limitaciones

El presente estudio experimental ha presentado una perspectiva en cuanto a las interacciones entre el *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial, la radiación ultravioleta y el ciclo de vida del *Aedes aegypti*. Sin embargo, es importante destacar que el estudio presenta ciertas limitaciones que requieren consideración al interpretar sus resultados y conclusiones.

En primer lugar, las condiciones de laboratorio en las que se llevó a cabo el experimento podrían no representar fielmente el entorno natural en el que el *Aedes aegypti* se desarrolla, sobre todo en un país con climas y microclimas tan diversos como el Perú. Los factores ambientales, como la variabilidad de la temperatura, humedad y disponibilidad de recursos, si bien se encontraban medidos por sensores en cada ambiente y fueron modificados en lo posible por el uso de aire acondicionado y calefactores, podrían no haber sido completamente controlados, lo que limita la extrapolación directa de los resultados a situaciones de campo.

Además, solo se estudió a la generación expuesta, lo que podría haber impedido la identificación de consecuencias a largo plazo, sobre todo en las siguientes generaciones de *Aedes aegypti* (F3).

Por último, se debe tener en cuenta que la interacción entre el Btk-c y la radiación ultravioleta es intrincada y podría estar influenciada por variables desconocidas o no consideradas en este estudio. Factores no controlados podrían haber ejercido un impacto imprevisto en los resultados y la comprensión de la relación subyacente.

En resumen, si bien este estudio experimental proporciona información valiosa, es necesario reconocer las limitaciones inherentes al diseño y ejecución del estudio. La consideración de estas limitaciones permitirá una interpretación más precisa y una contextualización adecuada de los resultados obtenidos.

6 CONCLUSIONES

- El *Bacillus thuringiensis* y el *Bacillus thuringiensis* previamente expuesto a la radiación ultravioleta modificaron el ciclo de vida de la cepa Rupa Rupa B de *Aedes aegypti*, a partir de su estadio larvario III.
- El *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial requirió una concentración de veinte veces la recomendada por el proveedor para lograr el 100% de mortalidad larvaria y ningún adulto vivo en el menor tiempo posible. Mientras que, con la concentración recomendada por el proveedor, se logró un efecto larvicida máximo del 62,9% y se inhibió el desarrollo del 83,57% de adultos vivos de *Aedes aegypti*, potenciales vectores de enfermedades.
- El *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial con la concentración indicada por el proveedor ejerció un efecto larvicida superior al de las cepas de laboratorio (*Bacillus thuringiensis israelensis* y *Bacillus thuringiensis kurstaki* de laboratorio) con concentraciones hasta cuatro veces mayores.
- Al exponer la concentración de *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial indicada por el proveedor a la radiación ultravioleta, su efecto larvicida se redujo en 29,2% y se permitió el desarrollo de un 3,55% más adultos vivos de *Aedes aegypti*, lo cual desfavorece el control biológico vectorial.

7 RECOMENDACIONES

- Se sugiere la implementación del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial en lugares con alta infestación de *Aedes aegypti*, especialmente en áreas donde la cepa Rupa Rupa B sea predominante.
- Es posible mejorar la efectividad del Btk-c mediante la selección de una concentración adecuada. Si se necesita una respuesta inmediata y completa (ej. durante brotes), se sugiere aumentar la concentración. Sin embargo, se recomienda explorar la factibilidad y seguridad de emplear concentraciones superiores a las recomendadas por el proveedor.
- Se recomienda priorizar el uso del *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial y mantener una vigilancia constante de su eficacia, considerando su fácil acceso en comparación con las cepas de laboratorio. Además de evaluar su efectividad en condiciones de campo.
- Considerando la compleja interacción entre el *Bacillus thuringiensis kurstaki* comercial y la radiación ultravioleta, debe evaluarse el entorno de aplicación. Instalar estructuras de sombra o emplear agentes de protección UV disminuiría el efecto perjudicial del UV sobre la eficacia del Btk-c.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcalde Mosqueira J, Roldán Rodríguez J, Saravia Cueva V, Collantes Silva L. Efecto Biocida de diferentes concentraciones de *Metarhizium anisopliae* ccb-le302 y *Beauveria Bassiana* CCB-LE265 sobre larvas III de *Aedes Aegypti*. UCV - Sci ISSN 2077-172X, ISSN-e 2410-891X, Vol 6, Nº 1, 2014, págs 33-41 [Internet]. 2014 [citado 18 de agosto de 2023];6(1):33–41. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6181540&info=resumen&idioma=SPA>
2. Becker N, Zgomba M, Ludwig M, Petric D, Rettich F. Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* treatments. *J Am Mosq Control Assoc* [Internet]. 1 de septiembre de 1992 [citado 18 de agosto de 2023];8(3):285–9. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/1357088>
3. Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D, Pérez O. Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. *Rev Cuba med trop* [Internet]. 2004 [citado 18 de agosto de 2023]; Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol56_1_04/mtr08104.htm
4. Patricia D, Aldama C, De Jesús Hidalgo García DF, En L, Rosa G, Carmen D, et al. Ciclo de vida del *Aedes aegypti* y manifestaciones clínicas del dengue. [Informe]. 2001;22(2):114–7.
5. Zavaleta Espejo GG. Evaluación de la capacidad biocida de *Bacillus thuringiensis* h-14 var. *israelensis* cultivado en sanguaza sobre larvas de *Aedes aegypti* en el distrito de Iaredo la Libertad – Peru, 2008 - 2009. 2010.
6. Torres-Flores JM, Reyes-Sandoval A, Salazar MI. Dengue Vaccines: An Update. *BioDrugs* [Internet]. 1 de mayo de 2022

- [citado 18 de agosto de 2023];36(3):325–36. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35608749/>
7. Schnepf E, Crickmore N, Rie J Van, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, et al. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiol Mol Biol Rev* [Internet]. septiembre de 1998 [citado 18 de agosto de 2023];62(3):775. Disponible en: [/pmc/articles/PMC98934/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35608749/)
 8. INS. MINSA. Guía de Práctica Clínica para la Atención de Casos de Dengue en el Perú. [Internet]. 2016. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/authenticated%2C administrator%2C editor/publicaciones/2018-09-17/GUIA DE PRACTICA CLINICA DENGUE - VERSION EXTENSA.pdf>
 9. Toma L, Severini F, Di Luca M, Bella A, Romi R. Seasonal patterns of oviposition and egg hatching rate of *Aedes albopictus* in Rome. *J Am Mosq Control Assoc* [Internet]. 1 de marzo de 2003 [citado 18 de agosto de 2023];19(1):19–22. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/12674530>
 10. Gobatto V, Giani SG, Camassola M, Dillon AJP, Specht A, Barros NM. *Bacillus thuringiensis* isolates entomopathogenic for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Braz J Biol* [Internet]. 2010 [citado 18 de agosto de 2023];70(4):1039–46. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21180911/>
 11. MINSA V de S publica. Sala situacional de Dengue. [Internet] 2023. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/sala-situacional-dengue/diaria/>
 12. MINSA V de S publica. Riesgo de presentación de brotes de gran magnitud de dengue, en regiones del país por fenómeno del Niño Costero [Internet]. Lima; 2023. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/alertas/alertas_202310_22_084834.pdf

13. INS. Versión extendida de la Guía de práctica clínica de dengue: documento basado en evidencias. [Guía]. 2018.
14. Blas-Cerdán W, Zavaleta-Espejo G, Saldaña-Jiménez J, Blas-Roeder W, Deyvi Meléndez-Rodríguez Y. Artículo Original Efecto biocida de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante sobre larvas III de *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio Biocidal effect of *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutant on larvae III of *Aedes aegypti*. REBIOL. 2017;37(2):14–21.
15. Rebaza Sánchez N, Zavaleta Espejo G, Blas Cerdán W, Saldaña Jiménez J, Pedro Huaman J. Actividad larvívica de *Bacillus thuringiensis* h-14 var. israelensis y *Beauveria bassiana* sobre *Aedes aegypti* larvívica activity of *Bacillus thuringiensis* h-14 var. israelensis and *Beauveria bassiana* on *Aedes aegypti*. Rev Investig Científica REBIOL, ISSN-e 2313-3171, Vol 40, N° 1, 2020 (Ejemplar Dedic a Rev Investig CIENTÍFICA (REBIOL)), págs 53-68 [Internet]. 2020 [citado 18 de agosto de 2023];40(1):53–68. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8143261&info=resumen&idioma=ENG>
16. Blas-Cerdán W, Zavaleta-Espejo G, Saldaña-Jiménez J, Blas-Roeder W, Deyvi Meléndez-Rodríguez Y. Efecto biocida de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. israelensis mutante sobre larvas III de *Aedes aegypti* bajo condiciones de laboratorio. REBIOL [Internet]. 2017 [citado 18 de agosto de 2023];37(2):14–21. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/2137>
17. Soares-da-Silva J, Pinheiro VCS, Litaiff-Abreu E, Polanczyk RA, Tadei WP. Isolation of *Bacillus thuringiensis* from the state of Amazonas, in Brazil, and screening against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). Rev Bras Entomol [Internet]. 2015 [citado 18

de agosto de 2023];59(1):01–6. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rbent/a/BvHxDG6NRj7nN6RG6mgnPdb/abstract/?lang=en>

18. Carvalho K da S, Guedes DRD, Crespo MM, de Melo-Santos MAV, Silva-Filha MHNL. *Aedes aegypti* continuously exposed to *Bacillus thuringiensis* svar. *israelensis* does not exhibit changes in life traits but displays increased susceptibility for Zika virus. *Parasites and Vectors* [Internet]. 1 de diciembre de 2021 [citado 18 de agosto de 2023];14(1):1–13. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-021-04880-6>
19. Carvalho KDS, Crespo MM, Araújo AP, Da Silva RS, De Melo-Santos MAV, De Oliveira CMF, et al. Long-term exposure of *Aedes aegypti* to *Bacillus thuringiensis* svar. *israelensis* did not involve altered susceptibility to this microbial larvicide or to other control agents. *Parasites and Vectors* [Internet]. 29 de diciembre de 2018 [citado 18 de agosto de 2023];11(1):1–11. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-3246-1>
20. Davis J, Bibbs CS, Müller GC, Xue R-D. Evaluation of *Bacillus thuringiensis israelensis* as toxic sugar bait against adult *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *J Vector Ecol* [Internet]. 19 de junio de 2021 [citado 18 de agosto de 2023];46(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35229579/>
21. Setha T, Chantha N, Benjamin S, Socheat D. Bacterial Larvicide, *Bacillus thuringiensis israelensis* Strain AM 65-52 Water Dispersible Granule Formulation Impacts Both Dengue Vector, *Aedes aegypti* (L.) Population Density and Disease Transmission in Cambodia. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 14 de septiembre de 2016 [citado 18 de agosto de 2023];10(9):e0004973. Disponible en:

<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004973>

22. Zaki ZA, Dom NC, Alhothily IA. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Treatment on *Aedes* Population Using Different Applications at High-Rise Buildings. *Trop Med Infect Dis* [Internet]. 1 de mayo de 2020 [citado 18 de agosto de 2023];5(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32370071/>
23. Kraemer MUG, Reiner RC, Brady OJ, Messina JP, Gilbert M, Pigott DM, et al. Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Nat Microbiol* [Internet]. 1 de mayo de 2019 [citado 18 de agosto de 2023];4(5):854–63. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30833735/>
24. Casas-Martínez M, Tamayo-Domínguez R, Bond-Compeán JG, Rojas JC, Weber M, Ulloa-García A. Oogenic development and gonotrophic cycle of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in laboratory. *Salud Publica Mex* [Internet]. 1 de julio de 2020 [citado 18 de agosto de 2023];62(4):372–8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32549081/>
25. Satoto TBT, Satrisno H, Lazuardi L, Diptyanusa A, Purwaningsih, Rumbiwati, et al. Insecticide resistance in *Aedes aegypti*: An impact from human urbanization? *PLoS One* [Internet]. 1 de junio de 2019 [citado 18 de agosto de 2023];14(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31233517/>
26. Richoux GM, Yang L, Norris E, Jiang S, Linthicum KJ, Bloomquist JR. Resistance-Breaking Insecticidal Activity of New Spatial Insecticides against *Aedes aegypti*. *J Agric Food Chem* [Internet]. 25 de agosto de 2021 [citado 18 de agosto de 2023];69(33):9684–92. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34387470/>
27. Guedes RNC, Beins K, Navarro Costa D, Coelho GE, Bezerra HS da S. Patterns of insecticide resistance in *Aedes aegypti*: meta-

- analyses of surveys in Latin America and the Caribbean. *Pest Manag Sci* [Internet]. 1 de junio de 2020 [citado 18 de agosto de 2023];76(6):2144–57. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31957156/>
28. Granada Y, Mejía-Jaramillo AM, Zuluaga S, Triana-Chávez O. Molecular surveillance of resistance to pyrethroids insecticides in Colombian *Aedes aegypti* populations. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 1 de diciembre de 2021 [citado 18 de agosto de 2023];15(12):e0010001. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0010001>
29. Smith LB, Sears C, Sun H, Mertz RW, Kasai S, Scott JG. CYP-mediated resistance and cross-resistance to pyrethroids and organophosphates in *Aedes aegypti* in the presence and absence of *kdr*. *Pestic Biochem Physiol* [Internet]. 1 de octubre de 2019 [citado 18 de agosto de 2023];160:119–26. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31519246/>
30. Harburguer L, Gonzalez P V., Zerba E. First Report of Adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Resistance to Pyrethroids in Argentina. *J Med Entomol* [Internet]. 1 de enero de 2022 [citado 18 de agosto de 2023];59(1):372–5. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34617566/>
31. Vontas J, Katsavou E, Mavridis K. Cytochrome P450-based metabolic insecticide resistance in *Anopheles* and *Aedes* mosquito vectors: Muddying the waters. *Pestic Biochem Physiol* [Internet]. 1 de noviembre de 2020 [citado 18 de agosto de 2023];170. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32980073/>
32. Bel Y, Ferré J, Hernández-Martínez P. *Bacillus thuringiensis* Toxins: Functional Characterization and Mechanism of Action. *Toxins (Basel)* [Internet]. 1 de diciembre de 2020 [citado 18 de agosto de 2023];12(12). Disponible en:

/pmc/articles/PMC7763903/

33. Melo ALDA, Soccol VT, Soccol CR. *Bacillus thuringiensis*: mechanism of action, resistance, and new applications: a review. *Crit Rev Biotechnol* [Internet]. 3 de marzo de 2016 [citado 18 de agosto de 2023];36(2):317–26. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25264571/>
34. Tyrell DJ, Bulla LA, Andrews RE, Kramer KJ, Davidson LI, Nordin P. Comparative biochemistry of entomocidal parasporal crystals of selected *Bacillus thuringiensis* strains. *J Bacteriol* [Internet]. 1981 [citado 18 de agosto de 2023];145(2):1052–62. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7462158/>
35. Hassan MR, Azit NA, Fadzil SM, Ghani SRA, Ahmad N, Nawi AM. Insecticide resistance of Dengue vectors in South East Asia: a systematic review. *Afr Health Sci* [Internet]. 2021 [citado 18 de agosto de 2023];21(3):1124–40. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35222575/>
36. Velasquez C. L-F, Rojas T. DS, Cerón S. JA, Velasquez C. L-F, Rojas T. DS, Cerón S. JA. Proteínas de *Bacillus thuringiensis* con actividad citotóxica: Parasporinas. *Rev Colomb Biotecnol* [Internet]. 1 de julio de 2018 [citado 18 de agosto de 2023];20(2):89–100. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752018000200089&lng=en&nrm=iso&tlng=es
37. Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dusfour I, et al. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 20 de julio de 2017 [citado 18 de agosto de 2023];11(7). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28727779/>
38. Vargas V F, Roldán R J, Zavaleta E G, Gil F M, Ampuero R C, Burga A, et al. Producción de *Bacillus thuringiensis* H-14 var.

- Israelensis utilizando espárrago (*Asparagus officinalis*) y su uso potencial para el control de la Malaria en la Libertad- Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2001 [citado 18 de agosto de 2023];18(3–4):82–9. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342001000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
39. OMS, Comisión Internacional de Protección contra la Radiación no Ionizante . ÍNDICE UV SOLAR MUNDIAL. Guía práctica [Guía]. 2003. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42633/9243590073.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
40. OPS. Orientaciones para la estructuración de laboratorios de entomología en salud pública [Informe]. Washington DC; 2019. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51690/9789275321010_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
41. Mendoza-Almanza G, Esparza-Ibarra EL, Ayala-Luján JL, Mercado-Reyes M, Godina-González S, Hernández-Barrales M, et al. The Cytocidal Spectrum of *Bacillus thuringiensis* Toxins: From Insects to Human Cancer Cells. *Toxins* 2020, Vol 12, Page 301 [Internet]. 6 de mayo de 2020 [citado 18 de agosto de 2023];12(5):301. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6651/12/5/301/htm>
42. Lacey LA. BACILLUS THURINGIENSIS SEROVARIETY ISRAELENIS AND BACILLUS SPHAERICUS FOR MOSQUITO CONTROL. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[133:BTSIAB\]20CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[133:BTSIAB]20CO;2) [Internet]. 1 de julio de 2007 [citado 18 de agosto de 2023];23(sp2):133–63. Disponible en: https://bioone.org/journals/journal-of-the-american-mosquito-control-association/volume-23/issue-sp2/8756-971X_2007_23_133_BTSIAB_2.0.CO_2/BACILLUS-THURINGIENSIS-SEROVARIETY-ISRAELENIS-AND-

BACILLUS-SPHAERICUS-FOR-MOSQUITO-
CONTROL/10.2987/8756-
971X(2007)23[133:BTSIAB]2.0.CO;2.full

43. Puzstai M, Fast P, Gringorten L, Kaplan H, Lessard T, Carey PR. The mechanism of sunlight-mediated inactivation of *Bacillus thuringiensis* crystals. *Biochem J* [Internet]. 1 de enero de 1991 [citado 18 de agosto de 2023];273(1):43–7. Disponible en: [/biochemj/article/273/1/43/35973/The-mechanism-of-sunlight-mediated-inactivation-of](#)
44. Villena OC, Momen B, Sullivan J, Leisnham PT. Effects of ultraviolet radiation on metabolic rate and fitness of *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* mosquitoes. *PeerJ* [Internet]. 2018 [citado 18 de agosto de 2023];6(12). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30588410/>
45. Couch TL, Ross DA. Production and utilization of *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnol Bioeng* [Internet]. 1 de julio de 1980 [citado 18 de agosto de 2023];22(7):1297–304. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bit.260220703>
46. Rodríguez Quiroz K, Zavaleta Zavaleta L, Portal Reyes J, Zavaleta Espejo G, Blas Cerdán W, Rodríguez Quiroz K, et al. Efecto bioinsecticidal de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *israelensis* mutante sobre *Aedes aegypti*. *Arnaldoa* [Internet]. 2022 [citado 18 de agosto de 2023];29(2):235–46. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992022000200235&lng=es&nrm=iso&tlng=es
47. Corbillón Porraspita CO, González Rizo A, Menéndez Díaz Z, Companioni Ibañez A, Bruzón Águila RY, Díaz Pérez M, et al. Influencia de factores bióticos sobre la eficacia de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev Cubana Med Trop* [Internet]. 2012 [citado 18 de agosto de 2023];64(3):235–43. Disponible en: [73](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-</div><div data-bbox=)

07602012000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

48. OMS. Guideline specifications for bacterial larvicides for public health. Report of the WHO Informal Consultation, 28–30 April 1999, WHO/HQ, Geneva [Internet]. 1999 [citado 18 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/who-cds-cpc-whopes-99.2>
49. Boisvert M, Boisvert J. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Target and Nontarget Organisms: A Review of Laboratory and Field Experiments. <https://doi.org/10.1080/095831500750016361> [Internet]. 2010 [citado 18 de agosto de 2023];10(5):517–61. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/095831500750016361>
50. FERNÁNDEZ CHAPA DD. PERSISTENCIA Y RECONSTITUCIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS ALMACENADOS DE *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* DESPUÉS DE 40 AÑOS CONTRA LARVAS DE *Aedes aegypti* [Internet]. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN; 2021. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/21298/1/1080314902.pdf>
51. OPS. Monitoreo y manejo de la resistencia a los insecticidas en las poblaciones de mosquitos *Aedes*. Orientación provisional para entomólogos; 2016 [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/monitoreo-manejo-resistencia-insecticidas-poblaciones-mosquitos-aedes-orientacion>
52. Leong KLH, Cano RJ, Kubinski AM. Factors Affecting *Bacillus thuringiensis* Total Field Persistence. *Environ Entomol* [Internet]. 1 de octubre de 1980 [citado 18 de agosto de 2023];9(5):593–9. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1093/ee/9.5.593>

53. Guadalupe Maldonado Blanco Mar, LUIS JESTS GALAN woNG I, cRtsTtNA RODRfGUEZ pADILLA I, HUMBERTO QUIROZ MARTiNEZTI cNro. EVALUATION OF POLYMER-BASED GRANULAR FORMULATIONS OF BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENIS AGAINST LARVAL AEDES AEGYPTI IN THE LABORATORY. *Journal Am Mosq Control Assoc.* 2002. 18(4):2–2.
54. Myasnik M, Manasherob R, Ben-Dov E, Zaritsky A, Margalith Y, Barak Z. Comparative sensitivity to UV-B radiation of two *Bacillus thuringiensis* subspecies and other *Bacillus* sp. *Curr Microbiol* [Internet]. 2001 [citado 18 de agosto de 2023];43(2):140–3. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s002840010276>
55. Ciencias Biológicas F DE, Salcedo González B. Efecto de un preparado comercial de *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis* expuestas a diferentes tiempos de radiación solar, sobre larvas de *Culex quinquefasciatus*. *Univ Nac San Cris Huamanga* [Internet]. 2018 [citado 18 de agosto de 2023]; Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2768>
56. Huamanga DE, De F, Biologicas C, De Formacion E, De Biologia P. Efecto de un larvicida comercial en base a *Bacillus thuringiensis* H-14 var. *Israelensis*, sometido a radiación solar sobre *Culex quinquefasciatus* del IV estadio. *Univ Nac San Cris Huamanga* [Internet]. 2015 [citado 18 de agosto de 2023]; Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2257>
57. Ramirez-Lepe M, Escudero-Abarca BI. Protection of the spore-toxin complex of *Bacillus thuringiensis* serovar *Israelensis* from ultraviolet irradiation with aluminum-CMC encapsulation Probiotic potential of Mexican fermented drinks from agave View project Norovirus View project. 2003 [citado 18 de agosto de 2023];

- Disponible en:
<https://www.researchgate.net/publication/282880162>
58. Xue Y, Nicholson WL. The two major spore DNA repair pathways, nucleotide excision repair and spore photoproduct lyase, are sufficient for the resistance of *Bacillus subtilis* spores to artificial UV-C and UV-B but not to solar radiation. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 1996 [citado 18 de agosto de 2023];62(7):2221–7. Disponible en:
<https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.62.7.2221-2227.1996>
59. Ministerio de Salud . Norma Técnica de Salud para la Vigilancia Entomológica y Control de *Aedes aegypti*, Vector de arbovirosis y la vigilancia del ingreso de *Aedes albopictus* en el territorio nacional [Internet]. Lima; 2023. Disponible en:
http://www.digesa.minsa.gob.pe/DCOVI/RM_228-2023-MINSA.pdf
60. Ochoa G, Arrivillaga J. *Bacillus thuringiensis*: Avances y perspectivas en el control biológico de *Aedes aegypti*. *Boletín Malariol y Salud Ambient* [Internet]. 2009 [citado 18 de agosto de 2023];49(2):181–91. Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
61. who. Guías para la calidad del agua de consumo humano: cuarta edición que incorpora la primera adenda [Internet]. [citado 18 de agosto de 2023]. Disponible en:
<https://apps.who.int/iris/handle/10665/272403>
62. OMS. Procedimientos para evaluar la susceptibilidad a los insecticidas de los principales mosquitos vectores de las Américas [Internet]. 2013. Disponible en:
<https://www.paho.org/es/documentos/procedimientos-para-evaluar-susceptibilidad-insecticidas-principales-mosquitos-vectores>

63. Wang LY, Jaal Z. Sublethal Effects of *Bacillus thuringiensis* H-14 on the Survival Rate, Longevity, Fecundity and F1 Generation Developmental Period of *Aedes aegypti*. *Dengue Bull.* 2005;29. Disponible en <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/164049/dbv29p192.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
64. Carvalho K da S, Guedes DRD, Crespo MM, de Melo-Santos MAV, Silva-Filha MHNL. *Aedes aegypti* continuously exposed to *Bacillus thuringiensis* svar. israelensis does not exhibit changes in life traits but displays increased susceptibility for Zika virus. *Parasit Vectors* [Internet]. 1 de diciembre de 2021 [citado 19 de agosto de 2023];14(1). Disponible en: </pmc/articles/PMC8317411/>

ANEXOS

ANEXO N°1. Ficha de recolección de datos de cada grupo experimental

Hora de inicio		2 HORAS	4 HORAS	6 HORAS	8 HORAS	10 HORAS	12 HORAS	24 HORAS	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	DÍA 9	DÍA 10	DÍA 11	DÍA 12	DÍA 13	DÍA 14	TOTAL		
	Ambiente	T: agua																						
	Vivos	Larva																						
		Pupa																						
		Adulto																						
	Afectados	Moribundo																						
Muerto																								
R1	Adulto con envoltura pupal																							
	Ambiente	T: agua																						
	Vivos	Larva																						
		Pupa																						
		Adulto																						
	Afectados	Moribundo																						
Muerto																								
R2	Adulto con envoltura pupal																							
	Ambiente	T: agua																						
	Vivos	Larva																						
		Pupa																						
		Adulto																						
	Afectados	Moribundo																						
Muerto																								
R3	Adulto con envoltura pupal																							
	Ambiente	T: agua																						
	Vivos	Larva																						
		Pupa																						
		Adulto																						
	Afectados	Moribundo																						
Muerto																								
R4	Adulto con envoltura pupal																							

ANEXO N°2. TABLAS ADICIONALES DE COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DEL AEDES AEGYPTI EXPUESTO A BACILLUS THURINGIENSIS

Tabla 7 Características de la afectación del Btk-c en cada estadio del ciclo de vida del *Aedes aegypti*

GRUPO	LARVAS		PUPAS		ADULTOS				MUERTOS*		TEMPERATURA (media ± SD)	DURACIÓN DE GRUPO (media)
	LARVAS MUERTAS (media±SD)	LARVAS MUERTAS (%)	PUPAS MUERTAS (media±SD)	PUPAS MUERTAS (%)	ADULTOS MUERTOS* (media±SD)	ADULTOS MUERTOS (%)	ADULTOS VIVOS (media±SD)	ADULTOS VIVOS (%)	MUERTOS TOTALES (media±SD)	MUERTOS TOTALES (%)		
Control	0,00	0	0,25 ± 0,5	1,25	0,75 ± 0,3	3,75	19±0,82	95,00	1,5 ± 1	7,50	25,5 ± 0,25	11,25
7800 esp/ml	12,9 ± 4,50	64,5	4 ± 3,56	20	0,29 ± 0,76	1,45	3,29±1,80	16,45	17,17 ± 1,65	85,85	25,4 ± 0,77	13,125
15600 esp/ml	10 ± 3,46	50	9 ± 4,24	45	1 ± 1,41	5	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	25,7 ± 1,27	17,25
31200 esp/ml	15,5 ± 2,65	77,5	4,3 ± 2,87	21,25	0,25 ± 0,5	1,25	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	25,60 ± 1,39	19,5
46800 esp/ml	17,5 ± 1,73	87,5	2,5 ± 1,73	12,5	0,00	0	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	25,60 ± 1,28	13,75
78000 esp/ml	18,43 ± 0,54	92,1	1,44 ± 0,5	7,2	0,14 ± 0,38	0,7	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	26,51 ± 1,11	8,29
156000 esp/ml	20 ± 0	100	0	0	0,00	0	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	26,04 ± 0,90	1,375

Leyenda: esp/ml: esporas por mililitro. Se considera n=20 por ser el número de larvas en cada táper de réplica. IA: Inhibición de aparición de adultos de *Aedes aegypti*. *Incluye muertos en todos sus estadios desde larvas III-IV. Fuente: Elaboración propia

Tabla 8 Dosis letales (esporas/mL) al 50% (DL50) y 90% (DL90) de *Bacillus thuringiensis*

	BTK comercial		BTK laboratorio		BTI laboratorio	
	DL 50	DL 90	DL 50	DL 90	DL 50	DL 90
48h	68800 esp/ml	134000 esp/ml	10800 esp/ml	14700 esp/ml	13490 esp/ml	11400 esp/ml
96h	60500 esp/ml	74500 esp/ml	10750 esp/ml	14650 esp/ml	13500 esp/ml	11400 esp/ml

Leyenda: esp/ml: esporas por mililitro. Se considera n=20 por ser el número de larvas en cada táper de réplica. *Incluye muertos en todos sus estadios desde larvas III-IV. Fuente: Elaboración propia

Tabla 9 Desenlaces de las larvas en estadio III-IV de *A. aegypti* con Btk-c previamente expuesto a UV

GRUPO	LARVAS		PUPAS		ADULTOS				MUERTOS*		TEMPERATURA (media ± SD)	DURACIÓN DE GRUPO (media)
	LARVAS MUERTAS (media±SD)	LARVAS MUERTAS (%)	PUPAS MUERTAS (media±SD)	PUPAS MUERTAS (%)	ADULTOS MUERTOS* (media±SD)	ADULTOS MUERTOS (%)	ADULTOS VIVOS (media±SD)	ADULTOS VIVOS (%)	MUERTOS TOTALES (media±SD)	MUERTOS TOTALES (%)		
Control	0,13 ± 0,25	0,65	0,14 ± 0,38	0,7	1,14 ± 1,46	5,7	18,57±1,27	92,85	1,46 ± 0,29	7,30	25,02 ± 0,80	10,5
7800 esp/ml	12,9 ± 4,50	64,5	4 ± 3,56	20	0,29 ± 0,76	1,45	3,29±1,80	16,45	17,17 ± 1,65	85,85	25,4 ± 0,77	13,125
7800 esp/ml + UV	7 ± 2,56	35	4,88 ± 0,89	24,4	3,5 ± 1,07	17,5	4,63 ± 1,69	23,15	15,38 ± 1,83	76,90	26,08 ± 0,72	9,5
15600 esp/ml	10 ± 3,46	50	9 ± 4,24	45	1 ± 1,41	5	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	25,7 ± 1,27	17,25
15600 esp/ml + UV	7,5 ± 2,52	37,5	10,5 ± 2,64	52,5	2 ± 2,16	10	0,00	0,00	5,175 ± 1,12	88,25	25,42±0,53	11,3
78000 esp/ml	18,43 ± 0,54	92,1	1,44 ± 0,5	7,2	0,14 ± 0,38	0,7	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	26,51 ± 1,11	8,29
78000 esp/ml +UV	19,5 ± 0,73	97,5	0,5 ± 0,76	2,5	0,00	0,00	0,00	0,00	20 ± 0	100,00	26,29± 1,55	9,125

Leyenda: esp/ml: esporas por mililitro. Se considera n=20 por ser el número de larvas en cada táper de réplica. IA: Inhibición de aparición de adultos de *Aedes aegypti*. *Incluye muertos en todos sus estadios desde larvas III-IV. Fuente: Elaboración propia

ANEXO N°3. ACTA DE APROBACIÓN DE COMITÉ DE ÉTICA



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN
"Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo"



ACTA DE EVALUACIÓN ÉTICA DE ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN (AEE-CEI)

CÓDIGO DE ESTUDIO N°: 0041-2022

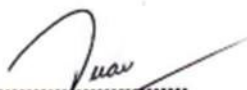
En Lima, a los ocho días del mes de mayo, en Sesión del COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN, previa evaluación del Proyecto de Tesis titulado: "**Influencia de la radiación ultravioleta y el Bacillus thuringiensis en el ciclo de la vida de las larvas de Aedes aegypti**" presentados por **Silvana Lucero Loli Guevara** con código 16010274 y **Jean Paul Pérez Orellana** con código 16010291 de la escuela profesional de medicina humana, para optar el Título Profesional de Médico Cirujano en la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

ACUERDA:

Dar por **APROBADO** dicho Proyecto, considerando que se ha cumplido satisfactoriamente con las recomendaciones en aspectos Científicos Técnicos y Éticos para la investigación en seres humanos.


"El presente documento tiene vigencia a partir de la fecha y expira el 7 de mayo de 2024"

Lima, 08 de mayo de 2023


.....
JUAN CARLOS OCAMPO ZAGARRA
PROFESOR DE LA FACULTAD DE
MEDICINA DE SAN FERNANDO
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
CÓDIGO PROFESIONAL: 643679
CUIP: 43048 RNE: 27548

Dr. Juan Carlos Ocampo Zagarra
Presidente del CEI/FM/UNMSM

ANEXO N°4. CERTIFICADO DE LA OPERATIVIDAD DEL EQUIPO DE LUZ ULTRAVIOLETA (IRUVAB)



Calibration Certificate

Irradiance Calibration Report:
AvaSpec-ULS2048XL-RS-EVO-UA

Calibrated Spectrometer Specification:

Spectrometer:

Model	: AvaSpec-ULS2048XL-RS-EVO-UA
Description	: Fiber Optic Spectrometer, 75 mm AvaBench, 2048 pixel back-thinned CCD detector, USB3/Ethernet interface
Grating	: UA - 300 lines/mm
Bandwidth	: from 200 nm to 1100 nm
Options Installed	: DCL-UV/VIS-200, Slit-25-RS, OSC-UA
Serial Number	: 2010110U1

Calibrated with:

Fiber optic cable: FC-UVIR200-2-ME with snr#: 2009098 and a CC-VIS/NIR diffuser


Calibration Reference Specification:

Reference Laboratory:

UV Transfer standard supplied by: LOT Quantum Design GmbH

VIS/NIR Transfer standard supplied by: NIST

Traceability to:

UV calibration:  Physikalisch-Technische Bundesanstalt Germany	VIS/NIR calibration:  National Institute of Standards and Technology Test No: 685/289682-17
---	---

Accreditation number: D-PL-17776-01-00
Report number: 23446
Calibration number: 5062-PTB-08

Filename: AvaSpec UVVIS USB2 XL irradi certificate.doc	Version: 1.1
Created by: kenryn	Page 1 of 4
Created on: 24 april 2012	
Last changed: 23 november 2022	
Changed by: marling	
Checked by: marling	
Status: Released	



Lightsource Specification:

UV Lightsource:

Type: Deuterium DOS 850 TJ

Power supply:

Type: Heraeus Noblelight PSD 188
Official output: 84.264 VDC 1 A @ 230V
Measured output: 30.0 mA +/- 0.3%

VIS/NIR Lightsource:

Type: Wolfram Halogen 6390 - DZA

Power supply:

Type: Agilent Technologies E3632A
Official output: 0-15 VDC / 0-7 A @ 230V
Measured output: 2.779A +/- 0.2% +10mA

Calibration Setup:

Calibration Specifications:

UV calibration:

Range: 200 - 400 nm, UVMIS/NIR – Deuterium & Halogen
Calibrated for: 200 - 400 nm
Calibration data units: $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ ($1 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm} = 0,01\text{W}/\text{m}^2/\text{nm}$)
Data resolution: 5 nm

VIS/NIR calibration:

Range: 350 - 1100 nm, VIS/NIR – Halogen
Calibrated for: 350 - 1100 nm
Calibration data units: $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ ($1 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm} = 0,01\text{W}/\text{m}^2/\text{nm}$)
Data resolution: 5 nm

Filename: Avantes UVMIS USB2 XL irradi certificate.doc
Created by: kmym
Created on: 24 april 2012
Last changed: 23 november 2022
Changed by: marljg
Checked by: marljg
Status: Released

Version: 1.1
Page 2 of 4



Light entrance calibration specifications:

Entrance: CC-VIS/NIR
Sample port diameter: 3900 μm

UV Reference Calibration Specifications:

Calibration distance: 0.04865 m
(distance = CC-VIS/NIR -> reference lightsource)

Lightsource settings:

Time to stabilize: ≥ 15 min
Current: 300 mA +/- 0.3%

Last calibration:

Last calibration: 17-03-2022

Transferstandard:

Last calibration: 28-05-2020

VIS/NIR Reference Calibration Specifications:

Calibration distance: 0.07891m
(distance = CC-VIS/NIR -> reference point source)

Lightsource settings:

Time to stabilize: ≥ 15 min
Current: 2.779 A +/- 0.2%

Last calibration:

Last calibration: 11-11-2022

Transferstandard:

Last calibration: 01-06-2020

Filename: Avantes UVVIS USB2 XL Inad certificate.doc
Created by: ken/ryl
Created on: 24 april 2012
Last changed: 25 november 2022
Changed by: mat/ing
Checked by: mat/ing
Status: Released

Version: 1.1
Page 3 of 4



Calibration uncertainties:

Following Uncertainties $\Delta E_{UV}/E_{UV}$ are valid for following ranges:

Wavelength Range (nm)	UV reference relative calibration uncertainties of the source +/- (%)
200 - 240	10%
240 - 350	8%
350 - 400	10%

Following Uncertainties $\Delta E_{VIS}/E_{VIS}$ are valid for following ranges:

Wavelength range (nm)	VIS/NIR reference relative calibration uncertainty of the source +/- (%)
350-1100	5.0%

Notes:

Irradiance:

USB2/EVO Spectrometers for which the Irradiance Calibration has been done, are supplied with the Irradiance data - that will be used to convert the Scope data to the Absolute Irradiance data - stored in the Eeprom.

Tip:

Do not forget to save a dark spectrum before measuring in irradiance mode.

Addendums:

Stored on USB-Stick and EEProm

Date: 23-11-2022

Calibrated by: N. Verkerk

Signature

Filename: AvaspecUVVIS USB2 XL Irad certificate.doc
Created by: kmn/mj
Created on: 24 april 2012
Last changed: 23 november 2022
Changed by: marjmg
Checked by: marjmg
Status: Released

Version: 1.1
Page 4 of 4

Calibration Certificate

Irradiance Calibration Report:

AvaSpec-ULS2048XL-RS-EVO-UA

Calibrated Spectrometer Specification:

Spectrometer:

Model : AvaSpec-ULS2048XL-RS-EVO-UA
Description : Fiber Optic Spectrometer, 75 mm AvaBendh,
2048 pixel back-thinned CCD detector, USB/Ethernet interface
Grating : UA - 300 lines/mm
Bandwidth : from 200 nm to 1100 nm
Options Installed : DCL-UVVIS-200, Slit-25-RS, OSC-UA
Serial Number : 2010110U1

Calibrated with:

Fiber optic cable: FC-UVIR200-2-ME with snr: 2009098 and a AVASPHERE-50-IRRAD

Calibration Reference Specification:

Reference Laboratory:

UV Transfer standard supplied by: LOT Quantum Design GmbH

VIS/NIR Transfer standard supplied by: NIST

Traceability to:

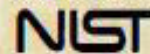
UV calibration:



Physikalisch-Technische Bundesanstalt
Germany

Accreditation number: D-PL-17776-01-00
Report number: 23446
Calibration number: 5062-PTB-08

VIS/NIR calibration:



National Institute of Standards and Technology

Test No: 68 5/289682-17

Filename: AvaSpec UVVIS USB2 XL final certificate.doc
Created by: kenny
Created on: 24 april 2012
Last changed: 29 november 2022
Changed by: martijn
Checked by: martijn
Status: Released

Version: 1.1
Page: 1 of 4



Lightsource Specification:

UV Lightsource:

Type: Deuterium DOS 650 T.J

Power supply:

Type: Heraeus Noblelight PSD 186
Official output: 84-264 VDC 1 A @ 230V
Measured output: 300 mA +/- 0.3%

VIS/NIR Lightsource:

Type: Wolfram Halogen 6390 - DZA

Power supply:

Type: Agilent Technologies E3632A
Official output: 0-15 VDC / 0-7A @ 230V
Measured output: 2.779A +/- 0.2% +10mA

Calibration Setup:

Calibration Specifications:

UV calibration:

Range: 200 - 400 nm, UV/VIS/NIR – Deuterium & Halogen
Calibrated for: 200 - 400 nm
Calibration data units: $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ ($1 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm} = 0,01 \text{W}/\text{m}^2/\text{nm}$)
Data resolution: 5 nm

VIS/NIR calibration:

Range: 350 - 1100 nm, VIS/NIR - Halogen
Calibrated for: 350 - 1100 nm
Calibration data units: $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ ($1 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm} = 0,01 \text{W}/\text{m}^2/\text{nm}$)
Data resolution: 5 nm

Filename: Avantes LMVIS USB2 XL irradiance certificate.doc
Created by: kenny
Created on: 24 april 2012
Last changed: 25 november 2022
Changed by: marling
Checked by: marling
Status: Released

Version: 1.1
Page 2 of 4



Light entrance calibration specifications:

Entrance: AVASPHERE-50-IRRAD
Sample port diameter: 10000 μm

UV Reference Calibration Specifications:

Calibration distance: 0.07891 m
(distance = AVASPHERE-50-IRRAD -> reference lightsource)

Lightsource settings:

Time to stabilize: ≥ 15 min
Current: 300 mA $\pm 0.3\%$

Last calibration:

Last calibration: 17-03-2022

Transfer standard:

Last calibration: 28-05-2022

VIS/NIR Reference Calibration Specifications:

Calibration distance: 0.07891 m
(distance = AVASPHERE-50-IRRAD -> reference pointsource)

Lightsource settings:

Time to stabilize: ≥ 15 min
Current: 2.779 A $\pm 0.2\%$

Last calibration:

Last calibration: 11-11-2022

Transfer standard:

Last calibration: 01-06-2020

Filename: Avantes UVVIS USB2 XL Inad certificate.doc
Created by: hamyn
Created on: 24 april 2012
Last changed: 23 november 2022

Changed by: martijn
Checked by: martijn
Status: Released

Version: 1.1
Page 3 of 4



Calibration uncertainties:

Following Uncertainties $\Delta E_{\lambda}/E_{\lambda}$ are valid for following ranges:

Wavelength Range (nm)	UV reference relative calibration uncertainties of the source +/- (%)
200 - 240	10%
240 - 350	9%
350 - 400	10%

Following Uncertainties $\Delta E_{\lambda}/E_{\lambda}$ are valid for following ranges:

Wavelength range (nm)	VIS/NIR reference relative calibration uncertainty of the source +/- (%)
350-1100	5,0%

Notes:

Irradiance:

USB2/EVO Spectrometers for which the Irradiance Calibration has been done, are supplied with the Irradiance data - that will be used to convert the Scope data to the Absolute Irradiance data - stored in the EEPROM.

Tip:

Do not forget to save a dark spectrum before measuring in irradiance mode.

Addendums:

Stored on USB-Stick

Date: 23-11-2022

Calibrated by: N. Verkerk

Signature: _____

Filename: Avantes UVVIS USB2 XL irradi certificate.doc

Created by: janny

Created on: 24 april 2012

Last changed: 23 november 2022

Changed by: marlijn

Checked by: marlijn

Status: Released

Version: 1.1

Page 4 of 4

ANEXO N°5. AUTORIZACIÓN DE LA DIRECCIÓN DEL INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “DANIEL ALCIDES CARRIÓN” DE LA UNMSM



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “Daniel Alcides Carrión”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”



Lima, 29 de agosto de 2023

Oficio N°095/IMT-FM/2023

Dr.
PEDRO GUSTAVO VALENCIA VÁSQUEZ
Director del DA. Microbiología Médica
Asesor de Tesis
FM-UNMSM
Presente. -

Asunto: TRABAJO DE TESIS

De mi mayor consideración:

Es grato dirigirme a usted, para saludarlo cordialmente y, al mismo tiempo, informar que se autorizó el permiso de uso del laboratorio de Entomología-Bioterio para estudios de la tesis titulada “Influencia de la radiación ultravioleta y el Bacillus thuringiensis en el ciclo de vida de las larvas de Aedes aegypti” por la testista Silvana Lucero Loli Guevara, hasta el término del mismo.

Sin otro particular, sea propicia la oportunidad para reiterarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente,



Revista: Agilamiento por 107133
PUMA 1666 PAU/2019/08/2023 aut
Módulo: Box 4 Módulo del documento
Fecha: 26/08/2023 12:41:52 -0500

DRA. NORA REYES PUMA
Directora
Instituto de Medicina Tropical “Daniel A. Carrión”
Facultad de Medicina-UNMSM



NRPlcm

Calle: José Santos Chocoma N°199-Bellavista Callao - 0197000- Anexo 4401 - 4402 - Ingreso Pta. N° 8 (Av. Cobresal)
Email: imtc@imta.med@unmsm.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "Daniel Alcides Carrión"
"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"



Lima, 29 de agosto de 2023

Oficio N°004/IMT-FM/2023

Dr.
PEDRO GUSTAVO VALENCIA VÁSQUEZ
Director del DA. Microbiología Médica
Asesor de Tesis
FM-UNMSM
Presente. -

Asunto: TRABAJO DE TESIS

De mi mayor consideración:

*Es grato dirigirme a usted, para saludarlo cordialmente y, al mismo tiempo, informar que se autorizó el permiso de uso del laboratorio de Entomología-Bioterío para estudios de la tesis titulada "Influencia de la radiación ultravioleta y el *Bacillus thuringiensis* en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti*" por el tesisista Marlon Jean Paul Pérez Orellana, hasta el término del mismo.*

Sin otro particular, sea propicia la oportunidad para reiterarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente,

 UNMSM Perú: Aprobado por 001133
PUMA 1999 PAU 201400230 w4
Puma 2022/08/01/010002

DRA. NORA REYES PUMA
Directora
Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión"
Facultad de Medicina-UNMSM



NR/tem

Calles: José Santos Chocano Nº199-Bellavista Callao - 6197000-Ancash 4401 - 4402 - Ingreso Pta. Nº 8 (Av. Colón)
Email: imtc@fcm.med.unmsm.edu.pe

ANEXO N°6. RESOLUCIÓN DECANAL DE APROBACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS



Firmado digitalmente por PCEBETA
GONZALEZ Luis Enrique PNR
20180902001 aut
Módulo: Sign el actor del documento
Fecha: 03.05.2023 20:39:26 -0500

Lima, 03 de Mayo del 2023

RESOLUCIÓN DECANAL N° 001655-2023-D-FM/UNMSM

Visto el expediente digital N° UNMSM-20230030652, de fecha 10 de abril de 2023 de la Facultad de Medicina, sobre aprobación de Proyecto de tesis

CONSIDERANDO:

Que, mediante Resolución de Decanato N° 1569-D-FM-2013 ratificada con Resolución Rectoral N° 01717-R-2016 de fecha 19 de abril de 2016, se aprueba el Reglamento para la Elaboración de Tesis para optar el Título Profesional en las Escuelas Académico Profesionales de la Facultad de Medicina, que en su **Capítulo I. Introducción, Art. 2:** establece que: *"La tesis debe ser un trabajo inédito de aporte original, por la cual se espera que los estudiantes adquieran destrezas y conocimientos que los habiliten para utilizar la investigación como un instrumento de cambio, cualquiera sea el campo del desempeño"* así mismo, en su **Capítulo VI: Del Asesoramiento de la tesis:** Art. 28 establece que: *"La Dirección de la EAP con la opinión favorable del Comité de Investigación, solicitará a la Dirección Académica la Resolución Decanal respectiva para proceder a su ejecución";*

Que, mediante Oficio N°000532-2023-EPMH-FM/UNMSM, la Directora de la Escuela Profesional de Medicina Humana; eleva el Informe de la Mg. Vilma Ruth Bejar Castillo, profesora principal del Departamento Académico de Microbiología Médica, referente al Proyecto de Tesis (trabajo experimental) titulado "Influencia de la radiación ultravioleta y el *Bacillus thuringiensis* en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti*" presentado por los estudiantes Loli Guevara Silvana Lucero con código de matrícula 16010274 y Pérez Orellana Marlon Jean Paul código de matrícula 16010291, para optar el Título Profesional de Médico Cirujano(a); informa que el Proyecto de Tesis mencionado se encuentra APTO para ser ejecutado; por lo que, la Dirección de la escuela Profesional de Medicina Humana en concordancia al Art. 7, del Reglamento de Tesis vigente, autoriza de forma excepcional por tratarse de un trabajo experimental, su ejecución bajo la autoría de los estudiantes ya mencionados y su posterior sustentación para optar el Título Profesional de Médico Cirujano(a). Por lo que solicito, emitir la Resolución de Decanato respectiva incluyendo el nombre del asesor de la tesis Mg. Pedro Gustavo Valencia Vásquez con código 088862, docente principal del Departamento Académico de Microbiología Médica; y;

Estando a lo establecido por el Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y las atribuciones conferidas por la Ley Universitaria N°30220;

SE RESUELVE:

1° Aprobar el Proyecto de Tesis, según detalle:

Estudiantes: Loli Guevara Silvana Lucero Código de matrícula N° 16010274 Pérez Orellana Marlon Jean Paul Código de matrícula N° 16010291 E.P. de Medicina Humana	Título del Proyecto de Tesis: <i>Influencia de la radiación ultravioleta y el Bacillus thuringiensis</i> en el ciclo de vida de las larvas de <i>Aedes aegypti</i>
Asesor: Mg. Pedro Gustavo Valencia Vásquez Código docente: 088862	



Encargar a la Escuela Profesional de Medicina Humana el cumplimiento de la presente resolución.

Firmado digitalmente por
PERONAZO GILBERTO VERA DE
PELLA Rosa Juana PNR
20180902001 aut
Módulo: Sign v° 8°
Fecha: 03.05.2023 18:27:25

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: <https://spagd.unmsm.edu.pe/verifica/inicio.do> e ingresando el siguiente código de verificación: QJBUTOT



ANEXO N°7. RESOLUCIÓN DECANAL DE MODIFICACIÓN PARA AGREGAR CO-ASESOR



Firmado digitalmente por ROBERTA GONZALEZ LUIS ENRIQUE FAU
20148092822 usb
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 11/07/2023 14:42:55 -05:00

Lima, 11 de Julio del 2023

RESOLUCIÓN DECANAL N° 002615-2023-D-FM/UNMSM

Visto el expediente digital, N° UNMSM-20230058840 de fecha 03 de julio de 2023 de la Facultad de Medicina, sobre rectificación e inclusión de co-asesor en la Resolución Decanal N° 001655-2023-D-FM/UNMSM

CONSIDERANDO:

Que, de conformidad con el Texto Único Ordenado de la Ley N°27444 – Ley de Procedimiento Administrativo General – Decreto Supremo N°004-2019-JUS, Art. 212.1: Rectificación de errores: "Los errores material o aritmético en los actos administrativos pueden ser rectificadas con efecto retroactivo, en cualquier momento, de oficio o a instancia de los administrados, siempre que no se altere lo sustancial de su contenido ni el sentido de la decisión";

Que, mediante Resolución Decanal N° 001655-2023-D-FM/UNMSM de fecha 03 de mayo de 2023 aprueba el proyecto de tesis de los Bachilleres Silvana Lucero Loli Guevara y Marlon Jean Paul Pérez Orellana perteneciente a la Escuela Profesional de Medicina Humana titulado: Influencia de la radiación ultravioleta y el *Bacillus thuringiensis* en el ciclo de vida de las larvas de *Aedes aegypti*;

Que, mediante Oficio N°000870-2023-EPTM-FM/UNMSM, la Directora de la Escuela Profesional de Medicina Humana, solicita rectificación e inclusión en la Resolución Decanal N° 001655-2023-D-FM/UNMSM, en lo concerniente al grado académico e incluir un docente de la Facultad de Ciencias Biológicas como co-asesor para su proyecto de tesis.; y,

Estando a lo establecido por el Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y las atribuciones conferidas por la Ley Universitaria N°30220;

SE RESUELVE:

1° Rectificar la Resolución Decanal N° 001655-2023-D-FM/UNMSM de fecha 03 de mayo de 2023; en lo concerniente al grado académico e incluir un docente de la Facultad de Ciencias Biológicas como co-asesor para su proyecto de tesis; de acuerdo a lo detallado:

DICE:

Estudiantes: Loli Guevara Silvana Lucero

Pérez Orellana Marlon Jean Paul

Asesor: Mg. Pedro Gustavo Valencia Vásquez



Firmado digitalmente por
FERNANDEZ GUSTO VDA DE
PELLA ROSA JESUS FAU
20148092822 usb
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 11/07/2023 12:31:27 -05:00

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: <https://spsgd.unmsm.edu.pe/verifica/inicio.do> e ingresando el siguiente código de verificación: **ONJTSCE**





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América
FACULTAD DE MEDICINA
DECANATO

Debe decir:

Bachilleres: Loli Guevara Silvana Lucero

Pérez Orellana Marlon Jean Paul

Asesor: Mg. Pedro Gustavo Valencia Vásquez

Co-asesor: Mg. Mario Alcarraz Curi

Quedando vigente todo lo demás que ella contiene.

2º Encargar a la Escuela Profesional de Medicina Humana el cumplimiento de la presente resolución.

Regístrese, comuníquese, archívese.

DRA. ALICIA J. FERNÁNDEZ GHUSTI VDA. DE PELLA
VICEDECANA ACADÉMICA
LPG/mmb

DR. LUIS ENRIQUE PODESTÁ GAVILANO
DECANO

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: <https://spsgd.unmsm.edu.pe/verifica/inicio.do> e ingresando el siguiente código de verificación: **ONJTSCE**

