

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



PERFIL DE RESISTENCIA Y MUTACIÓN “kdr” ASOCIADA A INSECTICIDAS
PIRETROIDES EN *Aedes aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) DE VERACRUZ,
MÉXICO.

Por

MARIA CRISTINA BOBADILLA UTRERA

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN
ENTOMOLOGÍA MÉDICA

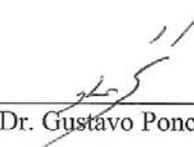
Noviembre, 2010

PERFIL DE RESISTENCIA Y MUTACIÓN “kdr” ASOCIADA A INSECTICIDAS
PIRETROIDES EN *Aedes aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) DE VERACRUZ,
MÉXICO.

Comité de Tesis



Director: Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez



Secretario: Dr. Gustavo Ponce García



Vocal: Dr. Humberto Quiróz Martínez



Vocal: Dr. Roberto Mercado Hernández



Vocal: Dr. Jaime Otilio González Pérez

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE DE FIGURAS	vi
INDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUCCION	1
2. HIPOTESIS	3
3. OBJETIVOS	4
4. ANTECEDENTES	5
4.1. <i>Aedes aegypti</i> : Biología, Importancia como Vector y Control	5
4.2. Situación epidemiológica del dengue en Veracruz	9
4.3. Control de <i>Aedes aegypti</i> (L).....	11
4.4. Insecticidas	14
4.4.1. Insecticidas piretroides	16
4.4.1.1 Modo de acción de los piretroides	18
4.5. Resistencia a Insecticidas	20
4.5.1. El bioensayo como método para detección de resistencia.....	22
4.5.2. Estudios de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas en mosquito	23
4.5.3. Resistencia “kdr” en el mosquito <i>Ae. aegypti</i>	54
5. METODO	58
5.1. Area de estudio	58
5.2. Material biológico.....	60
5.3. Bioensayos de susceptibilidad	61
5.3.1. Preparación de soluciones stock.....	61
5.3.2. Preparación de la botella.....	62
5.4. Detección de la frecuencia alélica de la mutación <i>Ile1,016</i>	65
5.4.1. Extracción de ADN y PCR.....	65
5.4.2. Frecuencia del alelo <i>Ile 1,016</i>	65
5.5. Análisis de resultados	65
5.5.1. Dosis tiempo, mortalidad	65
5.5.2. Análisis resistencia	66
5.5.3. Análisis frecuencia mutación "kdr" <i>Ile1,016</i>	67
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES	69
6.1. Susceptibilidad a fenotrina	69
6.1.1. DK_{50} para <u>fenotrina</u>	69
6.1.2. DL_{50} y DL_{95} para <u>fenotrina</u>	71

6.1.3. Resistencia a <u>fenotrina</u>	73
6.2. Susceptibilidad a <u>permetrina</u>	74
6.2.1. DK ₅₀ para <u>permetrina</u>	74
6.2.2. DL ₅₀ y DL ₉₅ para <u>permetrina</u>	76
6.2.3. Resistencia a <u>permetrina</u>	79
6.3. Susceptibilidad a <u>deltametrina</u>	80
6.3.1. DK ₅₀ para <u>deltametrina</u>	80
6.3.2. DL ₅₀ y DL ₉₅ para <u>deltametrina</u>	82
6.3.3. Resistencia a <u>deltametrina</u>	84
6.3.4. TDK ₅₀ y Tiempo letal medio TL ₅₀	85
6.4. Susceptibilidad a <u>cipermetrina</u>	89
6.4.1. DK ₅₀ para <u>cipermetrina</u>	89
6.4.2. DL ₅₀ y DL ₉₅ para <u>cipermetrina</u>	90
6.4.3. Resistencia a <u>cipermetrina</u>	92
6.5. Susceptibilidad a α - <u>cipermetrina</u>	93
6.5.1. DK ₅₀ para α - <u>cipermetrina</u>	93
6.5.2. DL ₅₀ y DL ₉₅ para α - <u>cipermetrina</u>	95
6.5.3. Resistencia a α - <u>cipermetrina</u>	96
6.6. Susceptibilidad a <u>z-cipermetrina</u>	97
6.6.1. DK ₅₀ para <u>z-cipermetrina</u>	97
6.6.2. DL ₅₀ y DL ₉₅ para <u>z-cipermetrina</u>	99
6.6.3. Resistencia a <u>z-cipermetrina</u>	101
6.6.4. TDK ₅₀ y Tiempo letal medio TL ₅₀	102
6.7. Susceptibilidad a λ - <u>cialotrina</u>	107
6.7.1. DK ₅₀ para λ - <u>cialotrina</u>	107
6.7.2. DL ₅₀ y DL ₉₅ para λ - <u>cialotrina</u>	109
6.7.3. Resistencia a λ - <u>cialotrina</u>	110
6.8. Susceptibilidad a <u>bifentrina</u>	112
6.8.1. DK ₅₀ para <u>bifentrina</u>	112
6.8.2. DL ₅₀ y DL ₉₅ para <u>bifentrina</u>	114
6.8.3. Resistencia a <u>bifentrina</u>	116
6.8.4. TDK ₅₀ y Tiempo letal medio TL ₅₀	117
6.9. Análisis de resistencia (knockdown) y resistencia postrecuperación	120
6.10. Resistencia "kdr"	128
6.10.1. Frecuencia de la mutación <i>Ile1016</i>	128
7. CONCLUSIONES.....	130
8. LITERATURA CITADA.....	132

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Mapa con los Municipios que año con año reportan casos de Fiebre con Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue en el estado de Veracruz.....	10
2. Situación epidemiológica del dengue en el estado de Veracruz.....	11
3. Cronología del descubrimiento de insecticidas	15
4. Patrones de resistencia cruzada.	21
5. Mutaciones asociadas a “kdr” en varias poblaciones de <i>Ae. aegypti</i>	57
6. Iniciadores específicos para alelos A o G en el codón 1,016 del gen del canal de sodio, asociados con la resistencia kdr en el mosquito <i>Aedes aegypti</i>	57
7. Estado de Veracruz, área de estudio.....	58
8. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>fenotrina</u>	70
9. Dosis Letal media (DL50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>fenotrina</u>	73
10. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>fenotrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.....	74
11. Dosis knockdown media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>permetrina</u>	76
12. Dosis Letal media (DL50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>permetrina</u>	78

13 Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>permetrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.	79
14. Dosis knockdown media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>deltametrina</u>	81
15. Dosis letal media (DL50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>deltametrina</u>	83
16. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>deltametrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.....	84
17. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>cipermetrina</u>	90
18. Dosis letal media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>cipermetrina</u>	92
19. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>cipermetrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.....	94
20. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes sub-poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a α -cipermetrina.....	96
21. Dosis letal media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a α - <u>cipermetrina</u>	94
22. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a α - <u>cipermetrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.....	97
23. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>z-cipermetrina</u>	99
24. Dosis letal media (LD50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>z-cipermetrina</u>	100
25. Factores de resistencia de las diferentes sub-poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>z-cipermetrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.....	101
26. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes sub-poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a λ - <u>cialotrina</u>	108

27. Dosis letal media (LD50), de las diferentes sub-poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>λ-cialotrina</u>	110
28. Factores de resistencia de las diferentes sub-poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>λ-cialotrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.....	111
29. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes sub-poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>bifentrina</u>	114
30. Dosis letal media (LD50), de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>bifentrina</u>	116
31. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> a <u>bifentrina</u> con base en la cepa susceptible New Orleans.....	117
32. Resistencia knockdown (DK ₅₀) y mortalidad (DL ₅₀) de siete sub-poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> de Veracruz, México a 8 insecticidas piretroides.....	123
33. Análisis de conglomerados para valores de mortalidad (DL ₅₀) vs resistencia (FR _{DL50}) postrecuperación y mortalidad (DK ₅₀) vs resistencia (FR _{DK50}) “knockdown”.	124
34. Análisis biplot para los valores de RR _{DK50} . El primer y segundo componentes principales están representados por los puntos para cada una de las 7 sub-poblaciones. Biplots están representados por flechas para los 8 piretroides.....	125
35. Análisis de regresión entre RR _{DL50} y RR _{DK50}	127

INDICE DE TABLAS

Tabla		Página
1. Coordenadas de ubicación del sitio donde se realizó la colecta del material biológico en las diferentes localidades		60
2. Insecticidas empleados para la determinación de susceptibilidad.		62
3. Ejemplo de preparación de solución stock a partir de cipermetrina (grado técnico).....		63
4. Ejemplo sobre cómo realizar la selección de volumen del stock para impregnar las botellas.....		64
5. Toxicidad con base en DK_{50} en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de <u>fenotrina</u> sobre adultos de <i>Ae. aegypti</i> de 7 localidades del estado de Veracruz.		69
6. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de <u>fenotrina</u> sobre adultos de <i>Ae. aegypti</i> de 7 localidades del estado de Veracruz.....		72
7. Toxicidad con base en DK_{50}^1 en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de <u>permetrina</u> sobre adultos de <i>Ae. aegypti</i> de 7 localidades del estado de Veracruz.....		75
8. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de <u>permetrina</u> sobre adultos de <i>Ae. aegypti</i> de 7 localidades del estado de Veracruz.....		77
9. Toxicidad con base en DK_{50}^1 en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de <u>deltametrina</u> sobre adultos de <i>Ae. aegypti</i> de 7 localidades del estado de Veracruz		80
10. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de <u>deltametrina</u> sobre adultos de <i>Ae. aegypti</i> de 7 localidades del estado de Veracruz.....		82
11. Valores de TDK_{50} y TL_{50} en horas y minutos que se obtuvieron en cada una de las subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> ante los diferentes insecticidas piretroides en la dosis más cercana a los valores de DK_{50} y DL_{50}		86

12. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a cipermetrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Veracruz.....	89
13. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} a <u>cipermetrina</u> sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. Aegypti</i> del estado de Veracruz.....	91
14. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a <u>α-cipermetrina</u> sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Veracruz.....	94
15. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} a <u>α-cipermetrina</u> sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. Aegypti</i> del estado de Veracruz.....	95
16. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a <u>z-cipermetrina</u> sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Veracruz.....	98
17. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} a <u>z-cipermetrina</u> sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. Aegypti</i> del estado de Veracruz.....	99
18. Valores de TDK_{50} y TL_{50} en horas y minutos que se obtuvieron en cada una de las subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> ante los diferentes insecticidas piretroides en la dosis más cercana a los valores de DK_{50} y DL_{50}	104
19. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a <u>λ-cialotrina</u> sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Veracruz.....	108
20. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} a sobre adultos de <u>λ-cialotrina</u> 7 subpoblaciones de <i>Ae. Aegypti</i> del estado de Veracruz.....	110
21. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a bifentrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Veracruz.....	113
22. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} a sobre adultos de <u>bifentrina</u> 7 subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Veracruz	115
23. Valores de TDK_{50} y TL_{50} en horas y minutos que se obtuvieron en cada una de las subpoblaciones de <i>Ae. aegypti</i> ante los diferentes insecticidas piretroides en la dosis más cercana a los valores de DK_{50} y DL_{50}	118
24. Subpoblación, tamaño de las muestra y número de mosquitos de cada genotipo (AA= Iso1, 016 homocigotos, AG= Iso1,016/ Vall,016 heterocigotos, GG= Vall,016 homocigotos). También figuran la frecuencia de Iso1,016 en cada sitio,	

el 95% intervalo de confianza alrededor de esa frecuencia y la estimación y significado de F_{IS} 8. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de permetrina sobre adultos de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.
.....128

AGRADECIMIENTOS

Al FOMIX-CONACYT, Veracruz Proyecto 68298 “ESTRATEGIA DE CONTROL DEL MOSQUITO VECTOR DEL DENGUE *Aedes aegypti* (L.) CON BASE EN SU RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN EL ESTADO DE VERACRUZ por el financiamiento económico brindado para la realización de este trabajo de tesis además de la beca terminal de doctorado otorgada por el mismo fondo.

RESUMEN

Se analizó resistencia de 7 sub-poblaciones de *Aedes aegypti* (L.) de Veracruz a ocho insecticidas piretroides: *d*-fenotrina, permetrina, deltametrina, λ -cialotrina, bifentrina, cipermetrina, α -cipermetrina y *z*-cipermetrina. Se determinó resistencia al derribo (FR_{DK50}) después de 1h de exposición y resistencia post-recuperación (RR_{DL-50}) después de 24h. La cepa de referencia New Olenas se utilizó como control susceptible. Los valores de FR_{DK50} indicaron altos niveles de resistencia al derribo “*kdr*” a α -cipermetrina variando entre 100-100X en todas las sub-poblaciones. La mayoría de las subpoblaciones mostraron resistencia moderada a *d*-fenotrina y menores valores para λ -cialotrina, permetrina y cipermetrina. Para los piretroides *z*-cipermetrina y bifentrina solo una sub-población de siete analizadas mostró resistencia al derribo. Ninguna sub-población mostró resistencia al derribo a la deltametrina. La mayoría de las sub-poblaciones analizadas mostraron resistencia post-recuperación a las 24h (RR_{DL50}) a los piretroides probados sin embargo para *d*-fenotrina el número de sub-poblaciones que mostraron recuperación fue menor con respecto a las que mostraron resistencia al derribo, aunado a la reducción en la magnitud de la misma. Se llevó a cabo análisis de regresión entre los valores de RR_{DL50} y FR_{DK50} , ambos valores estuvieron fuertemente correlacionados para todas las subpoblaciones variando de $R^2 = 0.84$ a 0.97 por lo que el valor de la pendiente se utilizó para determinar cuanta cantidad de insecticida se requiere para producir una letalidad con respecto a una mortalidad de derribo. Los valores de las pendientes de regresión fueron del orden de 0.875 para *d*-fenotrina a 8.67 para λ -cialotrina. Los valores de RR_{DL50} y FR_{DK50} estuvieron altamente correlacionados para todos los piretroides con excepción de la bifentrina indicando fuerte resistencia cruzada, también demostrada con la presencia de la mutación “*kdr*” *Ile1,016* en todas las subpoblaciones estudiadas. Variaciones en la frecuencia de *Ile1,016* entre las subpoblaciones de Veracruz se debe a que no están expuestas a una selección uniforme de insecticidas. Los alelos susceptibles son probablemente reintroducidos en las poblaciones expuestas. Las aplicaciones de insecticidas no son uniformes entre las ciudades o municipios en Veracruz. Por ejemplo, floreros y contenedores cercanos a los cementerios proveen un excelente sitio de cría para *Ae. aegypti*, sin embargo, éstos rara vez son tratados con adulticidas por lo que la migración del mosquito localmente puede ser la vía de reclutamiento constante de homocigotos “*kdr*” *Ile1, 016* en las subpoblaciones, de ahí que la frecuencia de la mutación “*kdr*” fue variable en las sub-poblaciones estudiadas.

ABSTRACT

Seven F₁ strains of *Aedes aegypti* (L.) were evaluated by bottle bioassay for resistance to the pyrethroids *d*-phenothrin, permethrin, deltamethrin, λ -cyalothrin, bifenthrin, cypermethrin, α -cypermethrin and *z*-cypermethrin. The New Orleans strain was used as a susceptible control. Resistance after 1h exposure and following a 24h recovery period were calculated. The resistance ratio between the 50% knockdown values (RR_{KD50}) of the F₁ and New Orleans strains indicated high levels of knockdown resistance (*kdr*). The RR_{KD50} with α -cypermethrin varied from 10-100 among the F₁ indicating high levels of *kdr*. Most of the strains had moderate resistance to *d*-phenothrin. Significant but much lower levels of resistance were detected for λ -cyalothrin, permethrin and cypermethrin. For *z*-cypermethrin and bifenthrin, only one of the seven strains had resistance with RR_{KD50} values of 10- and 21-fold, respectively. None of the strains analyzed showed RR_{KD50} >10 with deltamethrin, and moderate resistance was seen in three strains, while the rest were susceptible. Mosquitoes from all strains exhibited some recovery from all pyrethroids except *d*-phenothrin. Regression analysis was used to analyze the relationship between RR_{LC50} and RR_{KD50}. Both were highly correlated ($R^2 = 0.84 - 0.97$) so that the slope could be used to determine how much additional pyrethroid was needed to insure lethality. Slopes ranged from 0.875 for *d*-phenothrin (RR_{LC50} \simeq RR_{KD50}) to 8.67 for λ -cyalothrin (~8.5 fold more insecticide needed to kill). Both RR_{LC50} and RR_{KD50} values were highly correlated for all pyrethroids except bifenthrin indicating strong cross resistance also demonstrated with the presence of *Ile1016* mutation in all sub-populations studied. Variations in *Ile1016* between Veracruz sub-populations is because of the populations are not uniformly exposed to selection. Susceptibility alleles are probably continuously reintroduced into treated populations. Insecticide applications are not uniform in and among cities and villages in Veracruz. For example, the vases and containers in and around cemeteries provide abundant *Ae. aegypti* breeding sites but these are seldom treated with permethrin. Thus through long distance transport of *Ae. aegypti* during human commerce and through local migration there is the opportunity for constant recruitment of *Ile1,016* homozygotes into a population.

1. INTRODUCCION

Aedes aegypti (L.) es el vector primario de dengue y fiebre hemorrágica por dengue en Mexico. Aunque *Ae. albopictus* (Skuse) está presente en muchas zonas en nuestro país, aún no ha sido incriminado como vector importante. México es uno de los países afectados por esta enfermedad debido a la presencia casi en la totalidad de su territorio del mosquito vector.

La norma oficial mexicana para la vigilancia y control de vectores, NOM-032-SSA2-2002 establecía el uso del insecticida temefos (Abate® granulos) a concentración de 1ppm para el control del estadio larvario del mosquito y una formulación a base de permetrina para el control de la fase adulta del vector, siendo ésta última, usada en el país por más de 10 años (1999-2010) consecutivos. El 8 de septiembre del 2008 se publicó una norma emergente (NOM-EM-003-SSA2-2008), que establece las características que deben tener los insecticidas para el control de vectores en México incluyendo *Ae. aegypti* sin especificar que moléculas deben usarse, estableciendo que dependerá de la probada efectividad, no resistencia y características de seguridad relacionadas con la exposición (Diario Oficial de la Federación, Mexico 2008).

Resistencia a permetrina mediada por esterasas ha sido evidenciada por Flores et al. (2005, 2006, 2009) en poblaciones de *Ae. aegypti* de México. Estudios más recientes demuestran la presencia de una nueva mutación en el canal de sodio dependiente de voltaje asociado a la resistencia a piretroides (kdr) originalmente encontrada en una población resistente a permetrina de Isla Mujeres, sur de México (Saavedra et al. 2007).

La práctica de utilizar un solo insecticida hasta la aparición de resistencia se convierte en un factor limitante que reduce rápidamente el número de insecticidas disponibles para el control de vectores. Rotaciones, mosaicos y mezclas de todos ellos han sido propuestas como herramientas para el manejo de la resistencia (Curtis 1985, Curtis et al. 1993, Roush 1989). Se han aplicado numerosos modelos matemáticos para estimar como estas herramientas podrían usarse de manera óptima (Tabashnik 1989). Sin embargo, estos modelos raramente se han probado bajo condiciones de campo en

especial para insectos vectores, debido a las dificultades en estimar cambios en frecuencias de genes de resistencia en grandes muestras de insectos (Hemingway et al. 1997).

La resistencia a insecticidas puede deberse a dos tipos de mecanismos: actividad metabólica intensificada y/o alteraciones en el sitio blanco. Los mecanismos de resistencia usualmente son inferidos mediante bioensayos dosis-mortalidad y el uso de inhibidores de enzimas (WHO, 1981). En la última década fueron desarrolladas algunas pruebas bioquímicas que permiten la identificación de los tres principales grupos de enzimas detoxificadoras (Brogdon, 1989; WHO, 1998). Por otro lado, aunque las alteraciones en el sitio blanco han sido estudiadas en *Ae. aegypti* (Severson *et al.*, 1997), los mecanismos moleculares y genéticos que determinan estos mecanismos de resistencia son desconocidos.

El presente estudio analiza el nivel de resistencia a insecticidas piretroides en sub-poblaciones de *Aedes aegypti* del estado de Veracruz, así como la frecuencia de mutación “kdr” asociada al mismo.

Estos resultados forman parte de la base de datos sobre resistencia insecticidas piretroides de uso común y alternativo en México para el control del principal mosquito vector de dengue, que serán de gran utilidad en un programa de manejo de resistencia a insecticidas a nivel regional basados en el tipo y mecanismo de resistencia.

La vigilancia de la resistencia a insecticidas es un paso esencial en el manejo integrado de mosquitos, para proveer datos que permitan programar y planear la selección adecuada y racional de insecticidas con un impacto económico y ambiental bajo. De igual manera, el detectar la resistencia en etapas tempranas permitirá también la implementación de una estrategia de manejo de la resistencia y/u otras alternativas de control.

2. HIPÓTESIS

La presión de selección ejercida en las sub-poblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz con el adulticida permetrina por tiempo prolongado ha derivado en la selección de resistencia cruzada a insecticidas piretroides.

3. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

Determinar el estado de susceptibilidad y/o resistencia en poblaciones de *Aedes aegypti* (L) de siete subpoblaciones del estado de Veracruz: Pánuco, Tantoyuca, Poza Riza, Martínez de la Torre, Veracruz, Cosoleacaque y Coatzacoalcos, a ocho insecticidas piretroides: fenotrina, permetrina, deltametrina, cipermetrina, α -cipermetrina, z-cipermetrina, λ -cialotrina y bifentrina.

Determinar la frecuencia de la mutación *Ile1,016* que confiere resistencia “knockdown” a insecticidas piretroides en las sub-poblaciones del estado de Veracruz.

3.2 PARTICULARES

3.2.1. Determinar la DK_{50} (dosis knockdown media) en las 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* (L.) a 8 insecticidas piretroides.

3.2.2 Determinar la DL_{50} y DL_{95} (dosis letal media y noventa y cinco) en las 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* (L.) a 8 insecticidas piretroides.

3.2.2 Determinar TK_{50} y TL_{50} (tiempo knockdown y letal medio) en las 7 subsubpoblaciones de *Ae. aegypti* (L.) a 8 insecticidas piretroides.

3.2.4 Determinar el nivel de resistencia de derribo (knockdown) $FRDK_{50}$ y post-recuperación $FRDL_{50}$ en subpoblaciones de *Ae. aegypti* (L.) a 8 insecticidas piretroides con base en una cepa susceptible “New Orleans”.

3.2.5. Determinar frecuencia de mutación *Ile1016* que confiere resistencia a piretroides en las 7 subsubpoblaciones de *Ae. aegypti* (L.).

4. ANTECEDENTES

4.1. *Aedes aegypti*: Biología, importancia como vector y control

Aedes aegypti (L.) es un mosquito perteneciente al orden Díptera, familia Culicidae y subfamilia Culicinae. Se distribuye ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales del globo, entre los 35° latitud Norte y 35° latitud Sur. *Ae. aegypti* es un insecto con metamorfosis completa, su ciclo biológico consiste en cuatro etapas: huevo, larva, pupa y adulto. Los huevos son depositados individualmente en sustratos húmedos que son sujetos a inundación, preferentemente recipientes artificiales domiciliarios y peri domiciliarios (Gordon, 1988). En condiciones ideales, la eclosión ocurre en un par de días, sin embargo, los huevos pueden mantener su viabilidad hasta por más de un año, dependiendo de la fuente de reservas y las condiciones ambientales (Eldrigde, 2005).

Los estadios larvarios se desarrollan en hábitats acuáticos, donde la principal fuente de alimento consiste en micro biota filtrada por las partes bucales de la larva. La duración del desarrollo larvario depende de la temperatura del agua, disponibilidad del alimento y densidad larvaria, variando entre 5 y 14 días. Después de este periodo, una segunda metamorfosis ocurre en la fase acuática para formar la etapa de pupa. La alimentación se detiene en la fase de pupa y después de uno a dos días emerge el adulto (Eldrigde, 2005).

La etapa adulta consiste en un insecto volador pequeño. Las hembras poseen una probóscis larga, adaptada para succionar sangre a través de la piel. Los machos, por otro lado, presentan una probóscis larga adaptada para succionar jugos de plantas y otras fuentes de azúcar. En forma general ambos requieren carbohidratos como principal fuente de energía, sin embargo, las hembras dependen de sangre para obtener la energía necesaria para la producción de huevos. Las hembras comienzan la búsqueda de sangre y la principal fuente de atracción son las trazas de dióxido de carbono y ácido láctico emanadas por el hospedero. Las horas con mayor actividad alimenticia, ocurren entre las 6:00 am a 8:00 am y de 4:00 pm a 7:00 pm (Fernández-Salas, 1999).

Durante la alimentación, las hembras producen anticoagulantes, antihistamínicos y analgésicos que le permiten ingerir sangre a repleción. Después de la alimentación, las

hembras entran en un periodo de reposo y las ovariolas comienzan un proceso de ovogénesis que después de 3 a 4 días culmina en la oviposición de 50 a 120 huevos.

Como la mayoría de los insectos hematófagos, *Ae. aegypti* es capaz de ingerir, incubar y transmitir distintos patógenos después de una alimentación de sangre infectada. En el año 1900, *Ae. aegypti* fue implicado biológicamente en la transmisión del virus de la fiebre amarilla y en 1903 en la transmisión del virus del dengue (Philip y Rozenboom, 1973).

En forma general, el virus del dengue debe cruzar la barrera del intestino medio del insecto y posteriormente dispersarse a otros órganos, entre ellos las glándulas salivales. Este proceso de incubación toma de 10 a 14 días. Una vez que el virus alcanza las glándulas salivales, el mosquito es considerado infectivo y es capaz de transmitir el virus por el resto de su vida. La permisividad de un mosquito a infectarse y/o transmitir el virus, es conocido como competencia vectorial (Hardy, 1988). Las poblaciones de *Ae. aegypti* de México, varían en la susceptibilidad a infectarse con el virus del dengue tipo-2 (Bennett *et al.*, 2002).

Actualmente, *Ae. aegypti* es considerado el principal vector del virus del dengue a nivel mundial, esto se debe a su amplia distribución geográfica, su alto grado de susceptibilidad a infectarse con el virus, así como su cercana asociación con las habitaciones humanas. Este mosquito es considerado completamente antropofílico, más aún, el hábito de tomar más de una alimentación de sangre durante su ciclo gonotrófico incrementa su capacidad vectorial dramáticamente (Platt *et al.*, 1997). La transmisión del dengue ocurre en forma particular durante los meses del año con más lluvia y altas temperaturas, lo que propicia condiciones necesarias para el desarrollo larval en los hábitats donde se almacena agua (Gubler y Trent, 1994).

El aumento en la actividad de epidemias por dengue, el desarrollo de hiperendemicidad y la emergencia de epidemias por dengue hemorrágico, han sido generados por diversos factores, entre ellos, cambios demográficos y sociales, reducción de recursos para prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores, así como cambios en las estrategias de salud pública (Gubler, 1998a).

La prevención y control del dengue, depende en controlar al mosquito vector *Ae. aegypti* dentro y alrededor de los hogares donde ocurre la mayoría de la transmisión. En

los últimos 25 años, se ha puesto mucho énfasis en la aspersión espacial de insecticidas (ULV) con el objetivo de eliminar a la etapa adulta, sin embargo, al menos que sean aplicados dentro de los hogares, estos usualmente son inefectivos (WHO, 1997; Gubler, 1989). Al parecer, la medida más efectiva para controlar al mosquito transmisor del dengue es a través de la reducción de criaderos de larvas, ya sea vía eliminación de contenedores que almacenan agua o bien mediante el uso de larvicidas.

En las décadas de los 50's y 60's, varias campañas para la erradicación de vectores de enfermedades fueron implementadas a nivel mundial, entre éstas, la erradicación del mosquito *Ae. aegypti*. Desafortunadamente, todos estos programas han carecido de sustentabilidad, y una vez que el mosquito y la enfermedad fueron controlados, los limitados recursos para salud fueron transferidos a otros programas competentes. Como consecuencia, las poblaciones de *Ae. aegypti* re infestaron e incluso invadieron nuevas regiones, al grado de que la ocurrencia de transmisión de dengue tiene ahora un nivel epidémico (Gubler, 1998b).

La región de las Américas ha sido una de las más afectadas por el dengue y su forma más grave, la fiebre hemorrágica por dengue. La primera epidemia conocida de dengue en territorio americano ocurrió en el siglo XVIII. A partir de entonces, esta enfermedad ha afectado a casi todos los países de la región, aunque en la actualidad el mayor número de casos se concentra en América Latina y el Caribe. Mientras que la primera gran epidemia de fiebre hemorrágica por dengue en América ocurrió en Cuba en 1981, con miles de enfermos y 158 fallecidos (Kouri, 2006). De 1980 a 1998 se reportaron 302, 330 casos de FHD en 24 países de las Américas, siendo Colombia el país con el mayor número de casos reportados (80, 310), seguido por Brasil (55, 150), Venezuela (54, 514), Puerto Rico (41, 942), Nicaragua (36, 257) y Cuba (10, 517) (Escobar-Mesa *et al.*, 2003).

Actualmente, las campañas de control de *Ae. aegypti* consisten en la eliminación de criaderos de estadios larvarios y en casos de brotes de dengue, la aplicación espacial de insecticidas. Usualmente, la eliminación de pequeños utensilios que tienden a acumular agua en los patios de las casas, así como el tratamiento de larvicidas en los contenedores de agua necesarios para las actividades diarias, son realizados durante las

campañas de prevención. En México, el principal insecticida utilizado para controlar a los estadios larvarios es el organofosforado temefos (Abate®).

La medida de emergencia durante brotes o epidemias de dengue, consiste en la aplicación de insecticidas en nubes de gotas de ultrabajo-volumen (ULV). Los principales insecticidas utilizados para esta finalidad son el organofosforado malatión y varios piretroides, entre ellos, deltametrina, permetrina y lambda-cialotrina.

En México, en los últimos 11 años, los principales insecticidas utilizados para control del mosquito *Ae. aegypti*, han sido el larvicida organofosforado temefos (Abate®) y el adulticida permetrina junto con el sinergista piperonil butoxido (Aquareslin®) según la norma oficial mexicana para la vigilancia y control de vectores, NOM-032-SSA2-2002 (Diario Oficial de la Federación, México 2003). El 8 de septiembre del 2008 se publicó una norma emergente, NOM-EM-003-SSA2-2008 que establece las características que deben tener los insecticidas para el control de vectores en México incluyendo *Ae. aegypti* sin especificar que moléculas deben usarse estableciendo que dependerá de la probada efectividad, no resistencia y características de seguridad relacionadas con la exposición (Diario Oficial de la Federación, México 2008).

La nueva tendencia en los programas de control es proveer de sustentabilidad a los programas mediante el uso de estrategias de reducción larvaria basadas en la comunidad. La razón consiste en que el control de *Ae. aegypti* solo puede lograrse por la gente que vive en las casas donde la problemática ocurre y por la gente que crea los hábitats larvarios debido a sus estilos de vida. Estos programas de participación comunitaria requieren de un programa de educación para la salud extensivo. Desafortunadamente, esta medida resulta muy lenta, por lo cual se ha propuesto una combinación de estrategias, una que permita un éxito inmediato y otra que permita proveer de sustentabilidad. La efectividad de dichos programas aun no ha sido probado en campo, siendo un área de oportunidad para las programas de control de vectores.

De acuerdo a la Secretaría de Salud, México ocupa el cuarto lugar en la transmisión del dengue hemorrágico en América después de Brasil, Colombia, Venezuela y Honduras, que son los países más afectados en los últimos años. Desde 1994 se han desarrollado brotes de dengue hemorrágico registrándose desde 30 hasta

2000 casos en el 2004, en diferentes estados del país. Actualmente la relación de casos de dengue hemorrágico es 1:4, a diferencia de hace 5 años que era 1:25.

4.2 Situación epidemiológica del dengue en Veracruz

El estado de Veracruz posee las condiciones ecológicas y geográficas propicias para la transmisión de muchas enfermedades y, de acuerdo con el número de notificaciones, es hasta la fecha una de las entidades considerada de alta endemicidad para dengue.

En Veracruz se mantiene la lucha permanente contra el mosquito transmisor de la enfermedad del dengue con la implementación de medidas de prevención, encaminadas a evitar que el vector se reproduzca controlando los posibles criaderos para evitar el inicio de su ciclo biológico y con ello su control siguiendo la estrategia de “Patio Limpio Cuidado del Agua”, los Servicios de Salud de Veracruz están realizando una permanente campaña para involucrar a la población a que participe activamente en la eliminación de criaderos del mosquito transmisor.

La época de lluvia, la intensa temporada de huracanes y la circulación de nuevos serotipos de dengue en los estados vecinos, son condiciones de riesgo por las cuales podríamos esperar un incremento significativo de casos, sobre todo del tipo hemorrágico, y es que cerca de 60 comunidades del estado son consideradas de alto riesgo y se están realizando en forma más estricta actividades de prevención y control del mosco, por lo cual la participación ciudadana es importante, ya que el cuidado de los depósitos de agua y la eliminación de los posibles criaderos hacen que la población tenga una mejor expectativa de salud.

Para el estado de Veracruz, los casos reportados de la enfermedad de dengue en el año 2005 fueron: 4,027 (3,391 FD y 636 FDH) el 18.38% del total de los casos que se presentaron a nivel nacional, en el año 2006 se registraron 8,331 casos (7,205 FD y 1,066 FDH) con un porcentaje nacional del 29.92 lo que lo llevó a ocupar el primer lugar nacional de casos: para el año 2007 se reportaron 5,252 casos confirmados (2,608 FD y 2,645 FDH) lo cual lo llevó a obtener por segundo año consecutivo y el primer lugar nacional de casos de dengue con un porcentaje de 10.03; para el año 2008, el estado reportó un total de 4,117 casos confirmados (2,066 FD y 2,051 FDH)

obteniendo el 12.35 % de casos a nivel nacional ; en 2009 se registraron 6, 392 casos confirmados (3,412 FD y 2,980 FDH) y un porcentaje nacional del 12.16 ; en el presente año, a la semana epidemiológica No. 32 (al 14 de Agosto) se han registrado 313 casos de los cuales 225 son: Fiebre por Dengue y 88 Fiebre Hemorrágica por Dengue lo cual corresponde al 2.68% del total de los casos a nivel nacional.

Estos casos están distribuidos a lo largo del estado, mismo que esta dividido en 11 Jurisdicciones Sanitarias:

Las Jurisdicciones Sanitarias (Municipios que la integran) que año con año reportan mayor número de casos de Fiebre por Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue son: J. S. VIII Veracruz (Veracruz, Boca del Río, Alvarado, La Antigua), J. S. XI Coatzacoalcos (Coatzacoalcos, Minatitlán, Cosoleacaque, Nanchital, Las Choapas), III Poza Rica (Poza Rica), I Pánuco (Pánuco y Pueblo Viejo), IV Martínez de la Torre (Martínez de la Torre), IX Cosamaloapan (Cosamaloapan y Carlos A. Carrillo).

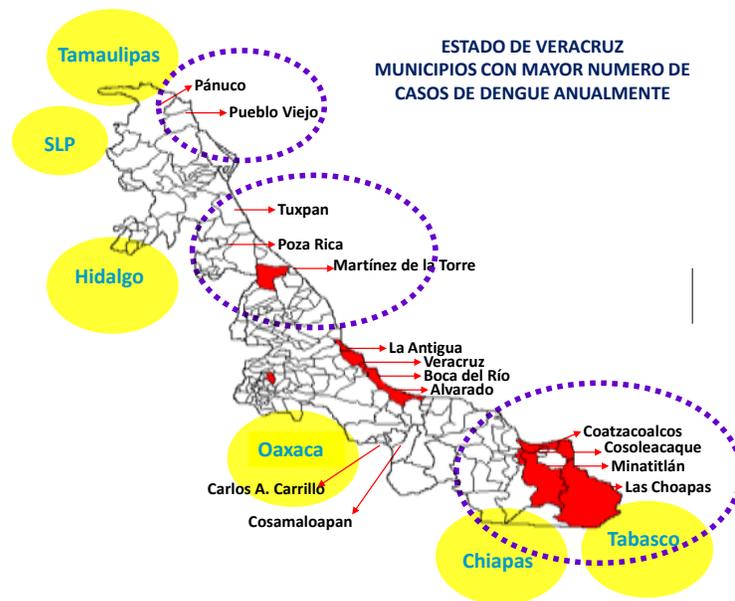
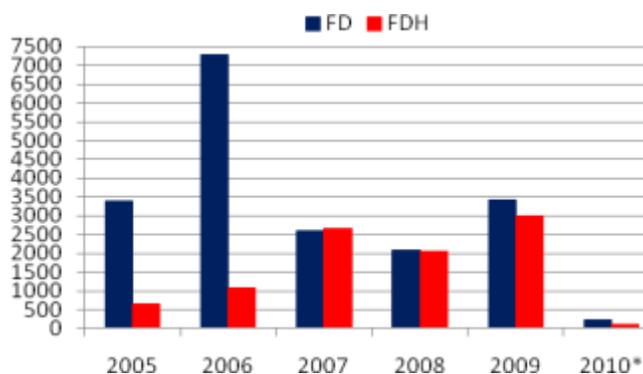


Fig.1 Mapa con los Municipios que año con año reportan casos de Fiebre con Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue en el estado de Veracruz.



Nota * Hasta la Semana Epidemiológica por fecha de inicio Sem. 32 al 14 de Agosto 2010.

Fig. 2 Situación epidemiológica del dengue en el estado de Veracruz.

En la figura 2 podemos observar el número de casos anuales reportados para Fiebre por Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue en el estado de Veracruz ; en los últimos cinco años (2005-2009 del 1^a de enero al 31 de diciembre,; de la sem 1 ahasta la semana 52) y del presente año (2010 del 1^a de enero al 14 de agosto de 2010 semana 1 a la semana 32).

4.3 Control de *Aedes aegypti* (L).

A comienzos del siglo XX, el mosquito *Ae. aegypti* se encontraba en todos los países de las Américas excepto Canadá. La campaña continental de erradicación impulsada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), iniciada formalmente en 1947, logró eliminar el vector de 18 países antes de 1960. Después de 1962, otros tres países eliminaron el vector. Sin embargo, ese mismo año se observó la reinfestación en algunos de los países que ya habían erradicado el mosquito. En 1991, solamente cuatro territorios estaban libres de *Aedes* (Chile, Uruguay, las Islas Caimán y las Bermudas); los demás, todos reinfestados, sufrieron por lo menos una epidemia de dengue.

Hoy en día, con excepción de Canadá, Chile y las Bermudas, todos los países de la región de las Américas están infestados con el vector del dengue y el virus de la enfermedad sigue circulando mediante el ciclo de transmisión hombre–mosquito–hombre (San-Martín *et al.*, 2004).

En México, las medidas para controlar a *Ae. aegypti* comenzaron a aplicarse por iniciativa de Eduardo Liceaga entre los años de 1901 y 1903, mediante la creación de la campaña contra la fiebre amarilla, bajo los lineamientos de la Comisión Americana de Fiebre Amarilla. Esta campaña se efectuó mediante el desarrollo de ingeniería sanitaria y la aplicación de petróleo como larvicida a los cuerpos de agua que funcionaban como criaderos. La aplicación de dichas estrategias condujo a la eliminación de los casos de fiebre amarilla en el puerto de Veracruz para el año de 1909.

Para el año de 1925, el doctor Carlos C. Hoffmann capacitó al personal del programa Anti-Aedes de Veracruz, cimentando también, en forma paralela, los fundamentos de la campaña antianofelínica; el programa consistió en obras de ingeniería sanitaria y petrolización de criaderos, labores que se llevaron a cabo hasta la década de los años cuarenta (Ibañes-Bernal *et al.*, 1995).

Para el control de FD y FHD se destacan 4 elementos básicos: la voluntad política, la coordinación intersectorial, la participación activa de la comunidad y el fortalecimiento de las leyes sanitarias (Kouri, 2006). Concordando con lo anterior, la Norma Oficial Mexicana NOM-EM-003-SSA2-2008 (para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector) en su rubro de medidas generales de prevención y control, propone las acciones a realizar, de las cuales:

- En la comunidad. Se debe incrementar los conocimientos de la población, motivar actitudes solidarias y de colaboración ciudadana, así como producir cambios de las conductas adversas a la salud individual o colectiva. Dentro de las acciones de mejoramiento de la vivienda está el resane de paredes, colocación de falsos plafones, mosquiteros en puertas y ventanas, eliminación de sitios de anidación y reproducción de insectos y reservorios, cuidados sobre el agua y basuras, e higiene personal.

- Informar a la comunidad sobre la importancia de las enfermedades transmitidas por vector como problema de salud pública, sobre todo del tipo de enfermedades y sus vectores que existen en el país y, principalmente, en la región en que residen o hacia aquellos lugares que frecuentan fuera de su localidad de residencia, por motivos de trabajo.
- Brindar a la población los conocimientos básicos sobre los mecanismos de transmisión, del riesgo de adquirir alguna de estas enfermedades y de su repercusión social y económica, con el propósito de motivar la aceptación del Programa de Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vector, así como su participación en las actividades individuales, familiares y del nivel comunitario.
- En virtud de que en las viviendas es en donde generalmente se presentan las condiciones que favorecen la transmisión de estas enfermedades, se deben promover y vigilar acciones concretas, sencillas y económicas para modificar aquellos aspectos que incrementan el contacto de los vectores y la población.
- Los representantes de salud deben promover que la participación sea conducida por la comunidad y sus autoridades, apoyando en los diferentes aspectos que la favorecen, hasta lograr que éstas sean parte de la cultura para lograr el bienestar. La participación comunitaria se dirige a controlar los hábitats y evitar el contacto de la población con los riesgos que favorecen la presencia de estas enfermedades.

Actualmente en México, los principales programas para la prevención del dengue se confinan a “Patio limpio” y “Cuidado del agua almacenada”, los cuales consisten en: barrer, desyerbar y ordenar, así como cepillar, tapar o voltear recipientes de almacenamiento de agua; estas acciones realizadas por organizaciones de habitantes y monitoreadas por promotores del sector salud.

Este mismo modelo es aplicado en el estado de Veracruz, como medidas preventivas para controlar la propagación del dengue en hogares, lugares de trabajo,

áreas públicas y recreativas (Torres *et al.*, 2006, 3er Informe de Gobierno del estado de Veracruz, 2007).

Las estrategias para el control de dengue se dirigen principalmente hacia lograr la participación comunitaria para reducir las fuentes de cría de los mosquitos vectores. Sin embargo, ante epidemias de dengue clásico o hemorrágico, una de las acciones prioritarias a realizar por las autoridades de salud es el uso de insecticidas con el fin de interrumpir rápidamente la transmisión, al disminuir las densidades de adultos de su vector, *Ae. aegypti* (Castro *et al.*, 2007).

La Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, en su rubro de medidas específicas de prevención y control, ante el empleo de insecticidas, señala y recomienda el uso de insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides, así como los instrumentos y dosis de aplicación. Sin embargo hasta su reciente modificación en el 2008 (NOM-EM-003-SSA2-2008), amplía el panorama al control de vectores por insecticidas, siempre y cuando estos compuestos químicos reúnan ciertas características.

4.4 Insecticidas

En el siglo XIX ya se conocían los insecticidas naturales para el control de plagas en animales. En el siglo XX es a partir de la década del 40 donde aparecen los pesticidas de síntesis. El más relevante para aquel momento fue el DDT, un insecticida que pertenece a la familia de los clorados, descubierto por Muller en 1939. El uso de este insecticida trajo aparejado una serie de inconvenientes, ya que no presenta selectividad, se acumula en tejidos grasos del hombre y animales y persiste en el medio ambiente. En estos momentos su uso está restringido y para algunos países prohibido.

En Alemania Schrader y otros descubrieron a los compuestos organofosforados, que por su poder insecticida, su metabolismo en animales y su comportamiento bioquímico reemplazan rápidamente a los clorados. Los primeros insecticidas organofosforados fueron muy tóxicos, tal es el caso del paration. En la actualidad los últimos insecticidas fosforados tienen una toxicidad más moderada, son ejemplo de ello el diazinon y el clorpirifos. Si bien no presentan los mismos problemas de persistencia, ni de acumulación en tejidos grasos que tienen los clorados, los insecticidas fosforados deben ser utilizados con cierto control.

En conjunción con los fosforados aparecen los insecticidas carbámicos y más comúnmente carbamatos. Los carbamatos por su carácter selectivo, que se logra mediante modificaciones en la estructura del ácido carbámicos pueden ser activos contra algunos insectos e inactivos contra otros. Esta característica hace que el uso de muchos fosforados sea reemplazado por el uso de carbamatos, tales como el propoxur y el bendiocarb.

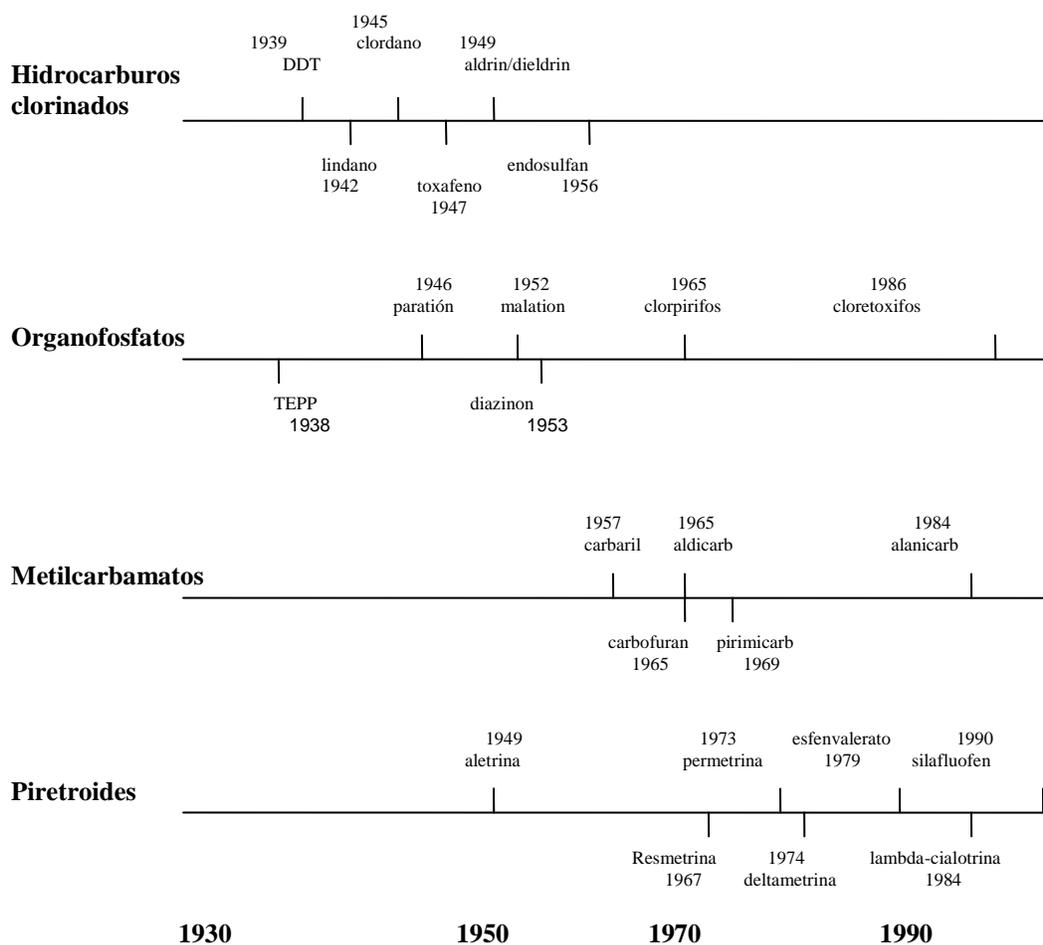


Fig.3 Cronología del descubrimiento de insecticidas.

Un capítulo aparte dentro de esta evolución histórica de los insecticidas es el de los piretroides. En el mundo, desde el año 1850 se utiliza el piretro o su extracto vegetal por su acción insecticida. A partir de la década del 70 del siglo pasado se sintetizan los

piretroides (piretrinas sintéticas). Estos son insecticidas de tercera generación, con una acción análoga a la de las piretrinas.

Los piretroides históricamente se los puede clasificar en dos grandes categorías:

- a. Piretroides foto lábiles: se descomponen por acción de la luz y la temperatura muy rápidamente, por lo tanto su uso está restringido en general a aplicaciones domesticas (aerosoles, espirales, mats). Son ejemplo de este grupo la aletrina y la resmetrina.
- b. Piretroides fotoestables: se caracterizan por ser más estables a la acción de la luz y temperatura, esto ha permitido que sean utilizados en aplicaciones residuales, en tareas de saneamiento ambiental (ej. deltametrina, ciflutrina, etc.)

Los piretroides son químicamente esteres, es decir que surgen de la combinación de ácido y un alcohol. Presentan una alta potencia insecticida (para algunas especies) junto con una gran seguridad toxicológica.

Por su estructura química los piretroides son degradados con facilidad por los diferentes organismos. Las principales reacciones de degradación son la hidrólisis del grupo éster, oxidación, descarboxilación y conjugación. En suelos y sedimentos se adsorben fuertemente y no se ha demostrado que tengan tendencia a movilizarse con el agua. Por lo tanto, no persisten en el ambiente por largo tiempo y tampoco tienden a biomagnificarse a través de las redes tróficas (Albert *et al.* 1990).

4.4.1 Insecticidas piretroides

En 1945 se sintetizó el primer piretroide, la retrolona. Los piretroides son compuestos sintéticos derivados estructuralmente de la piretrina I (uno de los seis compuestos del piretro) y se encuentra entre los insecticidas más potentes. La mayor estabilidad de los nuevos piretroides en condiciones de campo le ha abierto grandes posibilidades de uso como insecticidas agrícolas y con fines de salud pública, anteriormente sus ventajas se veían contrarrestadas por su escasa persistencia y alto costo.

Los insecticidas piretroides son de amplio espectro y actúan principalmente por contacto, de modo que pueden usarse para controlar una gran variedad de insectos plaga en diferentes cultivos, en ganado y en campañas de salud pública. Actúan sobre las fases larvarias y adultas de lepidópteros, coleópteros, dípteros (como *Ae. aegypti*) y homópteros. No son fitotóxicos en dosis correctas. Son adecuados para regiones de clima templado a frío, poseen un coeficiente térmico invertido (como el DDT): son mucho más efectivos a temperaturas bajas. Es importante mencionar que tiene una toxicidad aguda relativamente baja para los mamíferos, resultando un control de plagas más selectivo y seguro que los organofosforados y carbámicos. Una de sus desventajas es su alta toxicidad para la vida acuática. Aun cuando son más estables que las piretrinas, son menos persistentes que los insecticidas organoclorados.

El uso de los piretroides a crecido debido a su alta actividad insecticida (requiriéndose dosis bajas para controlar plagas), y por su baja toxicidad para los mamíferos.

Los primeros piretroides con actividad insecticida adecuada eran la resmetrina y cismetrina, sin embargo eran inestables en el ambiente. En la década de 1970 se logró la síntesis de otros piretroides, entre ellos: la fenotrina, permetrina y deltametrina.

Los piretroides son compuestos lipofílicos, insolubles en agua, de estabilidad variable ante la luz o calor, son degradables fácilmente por los microorganismos. Por la variedad de sus estructuras, los piretroides pueden variar considerablemente en sus propiedades (Albert *et al.* 1990).

Los piretroides para su clasificación han sido colocados en cuatro categorías o generaciones.

La primera generación contiene solo un piretroide: la aletrina. Comercialmente disponible en 1949, marcó el comienzo de una era de síntesis complejas, involucrando más de 22 reacciones químicas para producir un insecticida; la aletrina es meramente un duplicado de la cinerina I (un componente del piretro), con un lado en la cadena más estable y más persistente que el piretro. Igualmente efectivo contra moscas y mosquitos, pero menos efectivo contra cucarachas y otros insectos.

La segunda generación incluye tetrametina. La cual apareció en 1965; esta poseía una fuerza más grande de derribo que la aletrina y era fácilmente sinergizada. La

resmetrina apareció en 1967, es aproximadamente 20 veces más efectiva que el piretro en cuanto al derribo en mosca casera, y no era sinergizado por ningún sinergista. La bioresmetrina también descrita en 1967, es 50 veces más efectiva que el piretro contra moscas caseras normales (susceptibles a insecticidas) y no era sinergizado con sinergistas del piretro. La resmetrina y la bioresmetrina eran más estables que el piretro, pero se descomponían rápidamente al exponerlos al aire y a la luz solar, lo cual explica el porqué nunca se desarrollaron para uso agrícola. La resmetrina fue el insecticida de segunda generación más utilizado en forma de aerosoles para el control de insectos voladores y rastreros en interiores de casas. La bioaletrina (d-trans-aletrina) fue introducida en 1969, es más potente que la aletrina y fácilmente sinergizada, pero no es tan efectiva como la resmetrina. El último insecticida de este periodo fue la fenotrina, introducida en 1973, también es intermedia en cuanto a calidad y ligeramente incrementado por sinergistas.

La tercera generación incluye fenvalerato y permetrina, los cuales aparecieron en 1972 y 1973, respectivamente. Estos se convirtieron en los primeros piretroides agrícolas debido a su actividad insecticida excepcional y su foto estabilidad. Al parecer no son afectados por la luz solar y son residuales de 4-7 días sobre las hojas de los cultivos.

La cuarta generación aún sigue en desarrollo y registro, en esta generación los porcentajes de aplicación se han reducido en comparación a la generación anterior. Ejemplos de insecticidas piretroides de cuarta generación son la cipermetrina, fenopropatrina, flucitrinato, fluvalinato y decametrina. Todos estos insecticidas son fotoestables y proveen efectividad residual en el campo (Bowman *et al.* 2004)

4.4.1.1 Modo de acción de los piretroides

Los piretroides interfieren con las funciones del sistema nervioso y actúan sobre el axón en los sistemas central y periférico mediante la interacción con los canales de sodio y/o desplazando al ácido kainico de sus uniones específicas en los mamíferos y en los insectos. A semejanza de las piretrinas, bloquean los impulsos nerviosos en el nivel de su transmisión final.

Los efectos de estos compuestos pueden ser de cuatro tipos:

- I. Sobre-excitación nerviosa sin contracciones musculares, se cree que esta etapa los efectos son sobre los nervios sensoriales.
- II. Afección de los nervios motores que, en consecuencia presentan excitaciones sucesivas las que causan contracciones musculares
- III. Contracciones musculares de larga duración (30 – 60 segundos) que se deben quizá a efectos directos de los piretroides sobre los músculos.
- IV. Obstrucción total de los impulsos nerviosos.

La muerte puede sobrevenir a causa de la combinación de dos o más de estos mecanismos o de la sucesión de los cuatro. Estudios sobre la interacción de los piretroides con las células nerviosas de los insectos han demostrado que al inicio estos compuestos estimulan cargas repetidas en dichas células y después las paralizan. La membrana de las células nerviosas es el sitio en donde los piretroides causan mayor efecto; en condiciones normales, la célula nerviosa restablece el equilibrio mediante procesos fisicoquímicos que regulan la relación sodio-potasio; sin embargo, se ha establecido que la presencia de piretroides bloquea la conductividad de estos cationes y provoca parálisis nerviosa en los insectos intoxicados (efecto de derribo o Knockdown).

Con base a los síntomas de su toxicidad, recientemente los piretroides se han clasificado en dos grupos: de Tipo I y de Tipo II (Albert *et al.* 1990).

Los signos típicos de intoxicación por los piretroides del Tipo I incluyen hiperexcitabilidad y convulsiones, mientras que los piretroides del Tipo II causan principalmente ataxia y descoordinación. En insectos, los efectos de los piretroides, especialmente los del Tipo I, pueden desarrollarse en 1-2 minutos después del tratamiento y pueden resultar en la caída, es decir, en la pérdida de la postura normal y de la locomoción.

La intoxicación con piretroides resulta de sus potentes efectos sobre la generación de impulsos nerviosos tanto dentro del sistema nervioso central como del periférico. En condiciones normales, las neuronas poseen un voltaje que traspasa las membranas, de unos -60mV, en el lado interno. El impulso nervioso o potencial de acción consiste en una despolarización transitoria (onda positiva) cuya onda de ascenso es impulsada por un influjo de iones Na^+ , seguidos por un descenso del flujo hacia

afuera de iones K^+ , estos flujos de iones ocurren debido a la apertura y cierre de canales iónicos de proteínas que están empotradas dentro de la membrana nerviosa. El potencial de acción se propaga a lo largo del axón hasta que llega a las terminales nerviosas, donde estimula la liberación de los transmisores químicos. Los compuestos del Tipo I inducen picos múltiples de las descargas en los nervios sensoriales periféricos y de los nervios motores, lo mismo que las interneuronas dentro del sistema nervioso central. En contraste, los piretroides del Tipo II despolarizan el potencial de las membranas de los axones, lo cual reduce la amplitud del potencial de acción y eventualmente lleva a la pérdida de excitabilidad eléctrica. Todos estos efectos ocurren porque los piretroides prolongan la corriente que fluye por los canales de sodio al hacer más lento o impedir el cierre de los canales. La sinapsis neuromuscular de los insectos es un blanco especialmente importante para los piretroides (Blomquist, 2003).

Sin embargo a pesar del éxito de este grupo de insecticidas y de que sólo se ha autorizado un número reducido de piretroides, ya se han registrado casos de resistencia en campo y laboratorio.

4.5 Resistencia a insecticidas

John Smith en 1887 reconoció la susceptibilidad diferencial de los insectos a productos químicos, dando la noticia acerca de variaciones en el control de la escama de San José *Aspidiotus perniciosus* Comstock (Lagunes, 1974). Sin embargo el primer dato formal sobre resistencia en insectos lo proporcionó Melander en 1914, registrando el fracaso del sulfuro de calcio al no controlar dicha escama. A partir de entonces se han conocido muchos casos similares, donde cualquier organismo puede generar resistencia a infinidad de plaguicidas bajo condiciones adecuadas (Georghiou, 1971).

Es entonces cuando surge el concepto de resistencia a insecticidas, el cual es complejo y controvertido, pues es un fenómeno muy relativo (Brattsten, 1989).

Existen varias definiciones sobre resistencia, como la que da Brown en 1941, quien la definió como el desarrollo de una habilidad adicional de una raza de insectos a tolerar dosis de tóxicos que son letales para la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie.

También se ha definido como la capacidad natural que existe en determinadas poblaciones de insectos de soportar la acción de un veneno.

La definición más aceptada en la actualidad es la propuesta por la FAO (1979) que enmarca a la resistencia como la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos a no ser afectada por la aplicación de insecticidas. Técnicamente se define como la habilidad complementaria y hereditaria propia de un individuo o conjunto de ellos, que los capacita fisiológica y etiológicamente, para bloquear la acción tóxica de un insecticida por medio de mecanismos metabólicos y no metabólicos, y en consecuencia sobrevivir a la exposición de dosis que para otros sería letal.

Existen otros términos sobre resistencia, tal es el caso de “Resistencia Cruzada” (Georghiou, 1965) la cual se define como el fenómeno por el cual una población de artrópodos, sometida a presión de selección con un plaguicida, adquiere resistencia a este y a otros insecticidas relacionados toxicológicamente que han sido aplicados, pero que son afectados, al menos, por un mecanismo de resistencia común (figura 4). De este último concepto se desprende el término de “Resistencia Cruzada Negativa”, la cual se presenta cuando una población que ha adquirido resistencia a un insecticida, regresa a una susceptibilidad cercana a la original, como consecuencia de la aplicación de otro insecticida que es toxicológicamente diferente (Lagunes, 1994).

Otra forma de resistencia es la múltiple, la cual se presenta en una población que ha adquirido resistencia a varios insecticidas, tanto ha insecticidas a los cuales se haya expuesto como a los que no haya sido expuesto. En este caso, la población posee varios mecanismos de resistencia de forma simultánea (Georghiou, 1965).

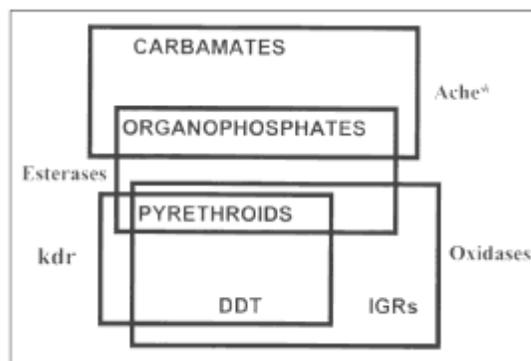


Fig. 4 Patrones de resistencia cruzada.

4.5.1 El bioensayo como método para la detección de resistencia.

La resistencia se ha detectado mediante la utilización de pruebas de susceptibilidad a insecticidas, conocidas también como bioensayos, basados principalmente en pruebas de dosis-mortalidad. El bioensayo es considerado como cualquier método por medio del cual alguna propiedad de alguna sustancia o material, es medida en términos de la respuesta biológica que produce.

Entre los objetivos de mayor importancia al realizar un bioensayo, se encuentran: la determinación de varios tóxicos contra una población de insectos, la determinación de la susceptibilidad de diferentes especies de artrópodos a un tóxico, así como la cantidad de un tóxico en un sustrato. Esta detección en la diferencia de la susceptibilidad se realiza mediante la relación R/S (colonia resistente sobre colonia susceptible) de los valores de DL_{50} , a la que se le denomina “Fracción de resistencia” (FR) ó “Proporción de resistencia” (PR).

La FR ó PR permiten comparar dos poblaciones de insectos con base a una dosis de un insecticida, sea esta a nivel de DL_{50} , DL_{95} o la de interés para el estudio, con la finalidad de conocer cuantas veces es necesario aumentar dicha dosis para alcanzar la mortalidad deseada, con respecto a la considerada como línea base, la cual esta integrada por una población que no ha sido expuesta previamente a insecticidas, de modo que servirá como punto de referencia.

Los bioensayos también permiten detectar la homogeneidad genética de la población en su respuesta al tóxico, la cual puede observarse en los valores de la pendiente de la recta de regresión, que es obtenida en el procedimiento del programa Probit (Finney 1971); entre mayor es la pendiente, la población o colonia es genéticamente más homogénea, es decir, que poseen los mismos genes de resistencia y está en las mismas proporciones en los individuos.

Los mecanismos participantes en la resistencia de una población, también pueden ser identificados indirectamente en los bioensayos, esto es mediante la utilización de sustancias sinergistas, es decir, sustancias que se unen a las enzimas que ocasionan la resistencia, por lo que permiten actuar libremente a los tóxicos, hecho que queda reflejado en los valores de susceptibilidad en los insectos resistentes (Lagunes, 1994).

Existen dos tipos de bioensayos, aquellos denominados directos y los denominados indirectos. Los bioensayos directos consisten en la aplicación de una dosis única a un animal, o el incremento del estímulo en un período de tiempo; y los bioensayos indirectos consisten en la aplicación de una dosis a una muestra representativa de la población, de manera que los resultados son atribuidos a la población de donde ese extrajo la muestra.

Los bioensayos para la detección de resistencia a insecticidas en mosquitos adultos han estado basados en un método estandarizado recomendado por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1981), el cual consiste en exponer mosquitos susceptibles a papeletas impregnadas con una dosis diagnóstico de un insecticida dado, por un período de tiempo definido, esta dosis era dos veces experimentalmente derivada del 100% del valor de concentración letal (CL_{100}).

Sin embargo esta metodología llevo a tener un costo económico elevado y muchas papeletas impregnadas con cierto tipo de insecticidas no estaban disponibles, además de que las dosis diagnóstico disponibles no aplicaban a todas las especie de vectores. Fue entonces hasta los años 90 cuando Brogdon y sus colaboradores logran cambiar el protocolo original, utilizando botellas de vidrio impregnadas con soluciones de un grado estándar del insecticida en lugar de las papeletas impregnadas. La ventaja de este procedimiento es que se obtiene una respuesta toxicológica directa de un insecto a una dosis de insecticida dado, además el método provee resultados considerablemente más rápidos al propuesto por la OMS, identificando el mecanismo involucrado en los cambios de susceptibilidad, pues los datos obtenidos son integrados a una serie de pruebas bioquímicas aplicados a la misma población de mosquitos, además de ser mucho más sensible y versátil en cuanto a la capacidad toxicológica en los cambios de la susceptibilidad en las poblaciones (Brogdon,1998).

4.5.2 Estudios de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas en mosquitos.

Uno de los obstáculos más serios en los programas de control de vectores de enfermedades humanas es el desarrollo de resistencia a los insecticidas usados. El primer caso reportado de insectos resistentes a insecticidas sintéticos fue en 1946 cuando se detecto resistencia a DDT en moscas domésticas de Suiza y Dinamarca (Picollo, 2006),

a partir de entonces ,según la Organización Mundial de la Salud, aproximadamente el 40% de los 506 artrópodos de importancia médica presentan algún grado de resistencia a insecticidas, de estas especies, alrededor del 50% son especies de mosquitos vectores de malaria, dengue, fiebre amarilla y filariasis (Fonseca *et al.* 2005).

Los insecticidas utilizados en las campañas contra plagas se han incluido a los organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides. La resistencia a organofosforados ha sido documentada en vectores importantes como *An. culicifacies*, *An. stephensi*, *An. albimanus*, *An. arabiensis* y *An sacharovi*; así como el género *Culex*. La resistencia a piretroides ha sido registrada para el género *Cx. quinquefasciatus*, así como en *An. albimanus*, *An. stephensi* y *An. gambie* entre otros, mientras que la resistencia a carbamatos se presenta en *An. sacharovi* y *An. albimanus*. La resistencia a piretroides es amplia en *Ae. aegypti* y casos de resistencia a organofosforados y carbamatos han sido registradas en estas especies (Hemingway y Ranson 2000).

En México, como en la mayoría de los Países, se han utilizado diversos insecticidas para el control del vector, por ejemplo el DDT, el cual fue usado intensivamente en los 60's para el control de la malaria, eventualmente se siguieron utilizando insecticidas organofosforados como el malatión (adulticida) y temefos (larvicida). El malatión se utilizó en aplicaciones espaciales de tipo ULV mientras que temefos en gránulos sobre contenedores de agua que podrían ser criaderos de larvas de *Ae. aegypti* (L) (Fernández 1999). De manera similar, y a partir de 1981 se ha llevado la aplicación intensiva de temefos como larvicida al 1%. Esto trae a la sospecha de que puede estar presente la resistencia a este organofosforado. En 1960 se reportaron los primeros casos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos en *Ae. aegypti*. Fox y García-Mola (1961) reportaron en Puerto Rico una cepa resistente 10X a diazinón y malatión. Se han realizado numerosos trabajos que determinan el grado de resistencia en poblaciones de *Ae. aegypti* (L) y otros culícidos. Fox (1973) desarrollo un trabajo para determinar el grado de resistencia a malation en adultos de *Ae. aegypti* (L) cepa Arrecife, en la ciudad de Puerto Rico, utilizando las concentraciones de 0.8, 1.6 y 3.22%, sobre padres y hasta la generación 12, exponiéndolos por una hora, registrando los resultados a las 24 hrs. Los resultados obtenidos fueron de 34% de mortalidad en padres y 3% de mortalidad en la F12 a la concentración de 0.8; en la concentración de

1.6 los padres presentaron 72% y la F12 presento el 14% de mortalidad, por último en la concentración más alta se encontró 100% de mortalidad en padres y 57% en la F12. Posteriormente utilizaron malation 0.4% y expusieron los padres a diferentes tiempos (60, 120, 180 y 240 min.) observando 11, 65, 78 y 91% de mortalidad respectivamente.

A su vez Mazzarri y Georghiou (1995) determinaron la resistencia a otros organofosforados (OP), tales como: temefos, malatión, metil-pirifos y clorpirifos; y al carbamato propoxur en 3 poblaciones de *Ae. aegypti* de los estados de Falcón y Aragua, Venezuela. En ambos estados la resistencia fue baja (< 5 veces) excepto para clorpirifos, el cual presentó una resistencia moderada (7 veces) y las pruebas bioquímicas demostraron la presencia elevada de esterasas. Mekurian *et al.* (1991) en un estudio de seguimiento por cuatro años, trabajo con *Ae. aegypti* (larvas de 3º y 4º instar temprano y adultos), determino la susceptibilidad a malation (dosis de 0.6245 mg/L), a temefos (0.0375 y 0.025 mg/L) y fention (0.025 mg/L) en larvas, las cuales mostraron mortalidad del 100% para el malatión, 100% de mortalidad para temefos en la concentración de 0.0375 mg/mL (tanto en larvas de campo como de laboratorio) y en la concentración 0.025 en larvas de campo solo se observo un 78.2%, para fention se observó mortalidad de 99.3% en la colonia de laboratorio, mientras que la de campo presentó el 19% de mortalidad. En las pruebas que se realizaron sobre adultos se utilizó DDT al 4% W, malatión al 5% A y W, resmetrina al 2.13% A, propoxur al 0.1% A, permetrina al 0.025% W y deltametrina al 0.025 %W usando el método de la OMS. Los resultados obtenidos mostraron que las concentraciones de los insecticidas empleadas eran en un inicio eficientes mostrando porcentajes de mortalidad altos, sin embargo, conforme se utilizaron al paso de los años, estas se mostraron menos eficientes al final de los cuatro años de estudio (1987-1990), disminuyendo hasta la mitad del porcentaje de mortalidad inicial. Para DDT al 4% se mostró una disminución del 5.7% a 1%, en malation al 5% del 98% al 62.9%, en permetrina al 0.025% de 90.1% a 41.5%.

El DDT juega un papel muy importante en la resistencia cruzada a otros insecticidas. Rohani *et al.* (2000) hace mención sobre cierto grado de resistencia en mosquitos a DDT y permetrina, confirmando en su estudio que el fenómeno de

resistencia cruzada está ocurriendo entre estos dos insecticidas. Es decir, existe resistencia cruzada a piretroides en poblaciones de campo por selección con DDT.

Hay numerosos reportes de resistencia a piretroides in *Ae. aegypti* (Ziv *et al.* 1969; Malcolm & Wood, 1982 ; Hemingway *et al.* 1989 ; Mebrahtu *et al.* 1997). Muchos de los reportes hablan de la resistencia cruzada de la selección en campo por DDT, implicando los mecanismos de *DKr*. (Hemingway *et al.* 1989), sin embargo algunos reportes sobre resistencia a DDT en larvas sugieren un incremento en los niveles del metabolismo. El DDT y los piretroides poseen un coeficiente térmico invertido. Como se observa en el trabajo de Cutkcomp y Subramanyam (1986) en el cual determino la CL₅₀ en larvas de 3º instar de *Ae. aegypti* , utilizando diferentes piretroides a 20 y 30°C, comprobando que a mayor temperatura menor es el efecto tóxico de los piretroides. Las CL₅₀ para cipermetrina a 20 y 30 °C fue de 0.16 y 0.34 ppb, respectivamente, para la permetrina fueron de 0.27 y 0.98, para el fenvalerato; 0.46 y 0.88, para la fenotrina; 0.56 y 1.52, para el flucitrinato; 1.00 y 1.33.

Xiao y sus colaboradores (1992) determinaron la susceptibilidad a diferentes insecticidas y los mecanismos de resistencia al DDT en poblaciones de *Ae. aegypti* de China, para ello colectaron 12 cepas de ciudades que han desarrollado altos niveles de resistencia al DDT, así mismo dos cepas susceptibles en una zona rural. Xiao *et al.* (1992) determinó con base en este estudio, que los mecanismos de resistencia al DDT fueron debido a la actividad de DDT-deshidroclorinasa, además observaron que la penetración de DDT en el cuerpo del mosquito fue diferente entre la cepas resistentes y susceptibles, siendo esto una posibilidad que puede influir en los niveles de resistencia en algunas cepas, más sin embargo, parece improbable que este sea el principal mecanismo de resistencia a DDT.

Rodríguez *et.al.* (1997) estudio el comportamiento de resistencia a diferentes insecticidas, entre estos el malation, clorpirifos y pirimifos-metil (organofosforados), deltametrina, lambdacialotrina y cipermetrina (piretroides) y propoxur (carbamato) en poblaciones de *Culex quinquefasciatus* provenientes de 2 municipios de Santiago de Cuba. Los valores del factor de resistencia (FR) determinaron que existe diferencia para malation y clorpirifos, sin embargo, a pesar de la existencia de una alta frecuencia de los mecanismos de esterasas elevadas y acetilcolinesterasa alterada, no se observó

diferencia para pirimifos-metil, comprobándose así que el insecticida no afecta a la población de *Culex quinquefasciatus* por esos mecanismos. Se observó resistencia a los insecticidas piretroides; deltametrina y lambdacialotrina en Santiago de Cuba y resistencia moderada para cipermetrina en ambos municipios, Santiago de Cuba y San Luis, en este último también se encontró resistencia a deltametrina, pero moderada a lambdacialotrina. Los resultados que se obtuvieron a partir del uso de sinergistas S,S,S, tributilfosforotritioato (DEF) y butóxido de piperonilo (PBO), indicaron que los mecanismos de resistencia de esterasas inespecíficas y las oxidasas de función múltiple están involucradas en la resistencia a piretroides en ambas cepas de Santiago de Cuba y San Luis. Tiempo después Rodríguez y sus colaboradores (1998) nuevamente trabajaron con *Culex quinquefasciatus*, pero ahora con una cepa de campo resistente a lambdacialotrina (insecticida piretroide) con el objetivo de poder utilizarla como cepa de referencia en el laboratorio (en las pruebas bioquímicas y estudios de genética), para evaluar la utilidad de este insecticida para el control de mosquitos en Cuba y determinar así si existe resistencia cruzada a insecticidas organofosforados, piretroides y carbamatos. Se obtuvo una alta resistencia a lambdacialotrina después de 6 generaciones de presión de selección, sin embargo se observó baja o nula resistencia cruzada a otros piretroides (deltametrina y cipermetrina), al carbamato propoxur y a los insecticidas organofosforados, clorpirifos y pirimifos-metil, sin embargo si se presentó alta resistencia cruzada a malatión (organofosforado). Ese mismo año Rodríguez y colaboradores determinaron el estado de resistencia nuevamente en *Culex quinquefasciatus* pero ahora procedente de Colombia. Para determinar los niveles de susceptibilidad utilizaron 5 insecticidas organofosforados (malatión, pirimifos-metil, clorpirifos, temefos y fention), 4 piretroides (cipermetrina, deltametrina, permetrina y lambdacialotrina) y un carbamato (propoxur). *Culex quinquefasciatus* se mostró resistente a todos los insecticidas organofosforados, aunque con valores relativamente menores para metil-pirimifos y fention. No se encontró resistencia a los piretroides lambdacialotrina y cipermetrina ni al carbamato propoxur. Mediante el uso del sinergista PBO se demostró que las oxidasas de función múltiple desempeñan una función importante en la resistencia a los insecticidas organofosforados y piretroides.

En el 2003 el mismo equipo de trabajo nos habla de la resistencia cruzada a piretroides en poblaciones de *Ae. aegypti* de Cuba inducido por la selección con malatión. Este estudio inicio debido a que Cuba a realizado un intensa campaña para el control de *Ae. aegypti* desde 1981 con malation como adulticida, sin embargo se vio en la necesidad de cambiar su estrategia en 1986 empelando piretroides, debido a que *Culex quinquefasciatus* desarrollo resistencia a malatión. En este estudio se investigo cómo evoluciona la resistencia a malation bajo presión de selección y el efecto que implica sobre la resistencia cruzada a otros insecticidas que están en uso o que pueden ser utilizados como alternativos para el control de *Ae. aegypti* en Cuba. Para este estudio se utilizaron 2 cepas de *Ae. aegypti*, Rockefeller (cepa susceptible de laboratorio, colonizada en 1930 y suministrada por el Centro de Control de Enfermedades, de San Juan de Puerto Rico) y una cepa de *Ae. aegypti* de Santiago de Cuba en 1997. Esta última fue sometida a presión de selección por 5 generaciones, las larvas de cuarto estadio tardío o cuarto temprano se expusieron a dosis de malation que causaron el 90% de mortalidad en cada selección. El resultado de cada generación se designo como SAN-Fx (x representa en número de generaciones). Se evaluó la resistencia en larvas de SAN-F0 (cepa original), SAN-F3 y SAN-F5 a 7 insecticida, 3 organofosforados (temefos, fenition y fenitrotion) y 4 piretroides (deltametrina, cipermetrina, lambdacialotrina y ciflutrina) mediante bioensayos para los cuales se emplearon 5 réplicas de cada concentración de insecticida (20 larvas por réplica) registrándose entre el 2 y 98 % de mortalidad. Todas las soluciones se ajustaron a un volumen final de 1 ml de acetona, la cual no causó mortalidad en los controles. La lectura de las mortalidades se realizó a las 24 hrs; la CL₅₀ y la CL₉₀ se obtuvieron mediante el programa probit-log. Después de 5 generaciones de selección con malation, no se observó incremento en los factores de resistencia, oscilando desde un valor de FR = 1,79 en SAN-F0 hasta 2,22x en SAN-F5. Sin embargo el proceso de selección con malation en la cepa *Ae. aegypti* de SAN-F0 generó resistencia cruzada a Piretroides, muy marcada a deltametrina, con una variación de valor de FR= 4,75 para SAN-F0 hasta 283,78 en SAN-F3 y 275x en SAN-F5. También se observó resistencia cruzada a los piretroides cipermetrina, ciflutrina y λ-cialotrina. La selección con malation incrementó la resistencia a cipermetrina 4,57 veces, desde un valor de 7,23x en SAN-F0 hasta 33,07x en SAN-F5, 4 veces se

incrementó para ciflutrina, obteniéndose un valor de FR= 24,61x en SAN-F5 y solamente 2,34 veces a lambdacialotrina. La variación de la resistencia a los insecticidas organofosforados: para temefos la cepa original SAN-F0 mostro alta resistencia (59,16x), la cual no tuvo significantes cambios hasta F5 con un valor de FR= 65,83x. La resistencia a fention y a fenitrotrion se mantuvo moderada (FR entre 5 y 10x) desde la cepa original hasta SAN-F5. Está demostrado que a pesar del uso del malation en las campañas de control de *Ae. aegypti* en la región del Caribe, existen pocos reportes de resistencia a este insecticida, esto debido a que existe un mecanismo, tanto en condiciones de laboratorio como en el terreno, que impide la evolución de la resistencia a este insecticida en *Ae. aegypti*, pero su uso si pudiera generar resistencia a otros insecticidas, los cuales son esenciales para el control de los mosquitos, como son los piretroides. En este caso se desarrollo resistencia cruzada principalmente con el piretroide deltametrina. Este mismo fenómeno también se reportó en *Culex quinquefasciatus*. En el 2002 Rodríguez *et al.* realizó un estudio en el cual sometió a las mimas poblaciones de *Ae. aegypti* (Rockefeller y Santiago de Cuba) pero ahora sometidas a selección con temefos por 6 generaciones, con el objetivo de determinar si existe resistencia cruzada entre piretroides y organofosforados inducidos por este insecticida. La resistencia para temefos en la cepa de Santiago de Cuba incremento 10.2 veces desde SanF0 a SanF6 con base en su CL₅₀ (19.59 – 200.00) y 11.11 veces en la CL₉₅. Esta resistencia fue asociada con un incremento de resistencia en otros organofosforados como fention y fenitrotrion, donde el incremento fue muy bajo (2.39 y 1.88 veces respectivamente). Se encontró resistencia cruzada negativa con malation (donde SanF0 = 1.77 x y SanF6 = 1.45x). Sin embargo fue nuevamente en los piretroides donde se encontró el mayor incremento en la resistencia, sobre todo en deltametrina que incrementó 71.05 veces en CL₅₀ (4.75x a 337.5x).

Rodríguez *et al.* (2003) encontró un incremento de la frecuencia del mecanismo de GST, que parece estar asociado con el incremento de la resistencia cruzada a piretroides, sin embargo otros mecanismos pueden estar asociados, como lo menciona Hemingway *et al.* (1989) en su estudio donde encontraron que la resistencia a cepas de *Ae. aegypti* de Puerto Rico era debido a un incremento en sitios alterados que provocaban insensibilidad nerviosa (DKr), más que mecanismos metabólicos. Existen

reportes sobre resistencia a piretroides en *Ae. aegypti* en Puerto Rico, República Dominicana y Venezuela. Esta resistencia ha sido asociada con resistencia cruzada a DDT.

En 1999 Wirth y Georghiou reportaron resistencia a malatión en *Ae. aegypti* en las Islas Vírgenes, encontrando así también altos niveles de resistencia a piretroides. Esto llama la atención debido a que en el año 2001, el Programa Nacional de Control de Vectores en México, en su nueva regulación establece el reemplazo de malatión por piretroides tales como permetrina, cyflutrina y bifentrina.

La resistencia en los vectores del dengue no solo se ha presentado en América. *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* han sido reportados como resistentes en países de la región pacífico de Asia, tales como: Malasia, Tailandia, Vietnam, Japón y China. En Singapur (Asia) se ha reportado resistencia en *Ae. aegypti* a DDT, dieldrin y propoxur, mientras que *Ae. albopictus* a fenitrotion, DDT y Dieldrin. En Singapur en los años 70s el malatión se usaba para el control de los mosquitos *Aedes* (Lai *et.al.* 2001), los cuales mostraban mortalidad del 100% a dosis de 5%. Sin embargo el uso del malatión se discontinuó por que los habitantes detestaban el olor a insecticida, fue entonces cuando la bioresmetrina (piretroide) reemplaza al malatión, y en 1980, esta es reemplazada por la permetrina. Cuando fueron detectados los primeros casos de resistencia a permetrina en *Ae. aegypti*, el insecticida pirimifos-metil (organofosforado) la reemplaza, el cual se utilizó por nueve años consecutivos. En este estudio Lai y sus colaboradores determinaron la susceptibilidad de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* a pirimifos-metil y a permetrina mediante el método de la WHO (1981). Los mosquitos empleados fueron colectados de diferentes áreas de Singapur, utilizando la generación F1 y una cepa susceptible de referencia para ambas especies, establecida en el laboratorio desde 1994. *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* aun son susceptibles a pirimifos-metil, mostrando un FR= 1.5 y 1.4 respectivamente. Esto indica que el programa de control usado desde noviembre de 1992 aun es efectivo. Sin embargo los FR obtenidos para permetrina solo se presento significativo en *Ae. aegypti*, dando un valor de 12.9, mientras que para *Ae. albopictus* solo fue de 1.8, no muy diferente al FR obtenido en pirimifos-metil. Esto quiere decir que la población *Ae. aegypti* aun muestra relativamente un alto nivel de resistencia a permetrina, esto debido a que el mosquito fue expuesto por tiempo

prolongado a este insecticida en los 80s. De manera que el uso de pirimifos-metil no mostró resistencia cruzada negativa con permetrina.

Sames *et al.* (1996) también trabajo con estas dos especies de *Aedes* para determinar la susceptibilidad que presentaban en el Valle de Río Grande, Texas y México, a insecticidas malation, clorpirifos, resmetrina y permetrina. Para este estudio se utilizaron hembras colectadas en campo y una cepa susceptible de *Ae. aegypti* de la “University of Texas Medical Branch” (UTMB) y una cepa susceptible de *Ae. albopictus* de Texas A&M University (TAMU). Obtuvieron resultados de resistencia a malation para *Ae. aegypti* de Texas y México de FR = 4 y 4.75 respectivamente, siendo más tolerable a malation la población de México. *Ae. albopictus* se mostró 5.38 veces más tolerante para Texas y 5.92 para la población de México. Cuando se utilizó clorpirifos, *Ae. aegypti* de Texas fue 4 veces más tolerante y *Ae. albopictus* de la misma localidad fue solo una vez más tolerante al insecticida. Con resmetrina *Ae. aegypti* de Texas mostró un FR = 1.33 y *Ae. albopictus* de 0.5, para permetrina *Ae. albopictus* obtuvo un FR= 1. Tanto *Ae. aegypti* como *Ae. albopictus* se mostraron susceptibles a los insecticidas, no mostrando resistencia significativa que pueda considerarse de cuidado.

No solo para malation se muestran reportes de resistencia cruzada, también para temefos (Rodríguez *et al.* 2002), insecticida que aun se utiliza en México para el control a nivel criadero del mosquito *Ae. aegypti*. Como lo muestran los resultados del estudio de Wirth y Georghiou (1999), quienes formaron una colonia de *Ae. aegypti* bajo condiciones de laboratorio, la cual presentaba altos niveles de resistencia a temefos (46.8 con base en su CL₉₅), después de tres generaciones separaron la colonia poniendo una parte bajo presión con temefos y otra no, utilizando como referencia la cepa susceptible Rockefeller. Después de 13 generaciones determinaron que la cepa expuesta a temefos aumento su grado de resistencia a 180 veces, mientras que la cepa que no estuvo expuesta disminuyó el grado de resistencia a 8.5 veces. Posteriormente desarrollaron pruebas para determinar resistencia cruzada entre organofosforados y carbamatos, observando bajos niveles de resistencia, sin embargo para permetrina se determinaron altos niveles de resistencia, por lo que puede deducirse que temefos presenta resistencia cruzada con permetrina. Cheikh y Pasteur (1993), también

realizaron estudios con temefos, esto para determinar la resistencia en dos poblaciones de *Cx. pipiens* en Sayadama (Tunisia), encontrando en estas bajos niveles de resistencia (2 veces). La resistencia en este estudio fue sinergizada para un inhibidor de esterasas (DEF), determinando así dos juegos de esterasas sobre producidas (A2-B2 y A4-B4) que intervienen en la resistencia; siendo estas encontradas en por lo menos el 50% de los mosquitos examinados, en otro 3% de los insectos se encontraron acetilcolinesterasa insensible. Después de poner bajo presión con temefos una muestra de las larvas por varias generaciones, se observó un incremento en la resistencia de 9 veces. Encontrando en todos los mosquitos la esterasa A2-B2 y acetilcolinesterasa insensible. Por otra parte se rebeló la presencia de tres genes de resistencia para temefos.

Para el control de *Ae. aegypti*, el Ministro de Salud Pública de Perú ha hecho uso del insecticida organofosforado temefos, sin embargo no ha sido suficiente para controlar las poblaciones del vector, siendo usado con mayor intensidad en el año 2000 cuando se presentaron los primeros casos de dengue. La resistencia de *Ae. aegypti* a temefos y malation se ha difundido por todo el Caribe y algunos países de América central y sur, además de la resistencia a fenitrotion desarrollada en otros países. Vargas y colaboradores (2006) realizaron un estudio en este país, para determinar la presencia de resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti*, *An. albimanus* y *Lutzomyia peruensis*, importantes vectores en la transmisión de enfermedades virales, parasitarias y bacteriana respectivamente. Para este estudio se seleccionaron localidades registradas como zonas de altos índices de infestación por estos tres insectos. Vargas *et al.* (2006) determinó los niveles de resistencia a temefos como larvicida y a deltametrina como adulticida, que son ampliamente utilizados en estas zonas como parte del control efectivo en Perú. Se utilizaron cinco cepas de *Ae. aegypti* y una cepa susceptible Rockefeller, dos cepas de *An. albimanus* y una para *Lutzomyia peruensis*. Los bioensayos se determinaron siguiendo el método de la OMS y las dosis recomendadas para temefos (0,02 ppm) y deltametrina 0,025%. En la determinación de la susceptibilidad o resistencia al insecticida organofosforado temefos, resultaron susceptibles las larvas de ($FR_{50} < 5$) cuatro de las cinco cepas de *Ae. aegypti*, con $FR_{50} = 2.01, 2.98, 2.38, 5.60$. Solo la población de Sullana mostró niveles de resistencia a temefos ($FR_{50} = 6,84$), así mismo esta misma población presentó el mayor tiempo knockdown medio (107,20 min), en

tanto que la población de Tambogrande presentó el menor, siendo este de 98,35 minutos. Los porcentajes de mortalidad a deltametrina indican resistencia en estas dos poblaciones (70% en Sullana y 80% Tambogrande) y susceptibilidad para las poblaciones de Florencia de Mora, El Porvenir y La Esperanza, con porcentajes de mortalidad de 90 , 98 y 95 % respectivamente a una concentración de 0,025%. Los porcentajes de mortalidad indican resistencia para la población de *An. Albimanus* de Sullana con 71% y mediana resistencia para Tombogrande con una mortalidad de 83%, mientras que la población de *Lutzomyia peruensis* se mostró susceptible con un porcentaje de 97%. El tiempo knockdown medio (DKT₅₀) encontrado para *Ae. aegypti* nos indica la evolución de la resistencia a deltametrina, que comparado con otras especies fue superior (*An. albimanus* con DKT₅₀ = 78,7 min y *Ae. albopictus* con DKT₅₀ = 53,66 min) frente al piretroide cipermetrina, con mortalidad de 97,1%. La resistencia a deltametrina presente en las poblaciones de Perú, son el resultado de la presión de selección por el empleo de aspersiones de deltametrina en viviendas, siendo causa probable la presencia de resistencia en *Ae. aegypti* por los insecticidas empleados para el control de *An. abimanus*. En los estudios genéticos realizados en las poblaciones de *Ae. aegypti* realizados por Vargas *et al.* (2006) se presentaron bandas electroforéticas identificadas como esterases B2 con un Rf de 0.23, relacionadas con la resistencia a los organofosforados. Este resultado difiere con el tipo de esterases detectadas en poblaciones de Cuba y Venezuela en donde 98% de las poblaciones de *Ae. aegypti* estudiadas predomina la esterasa A4 con una movilidad relativa de 0.779 la cual estaría produciendo resistencia a organofosforados en estas regiones . Las poblaciones de Venezuela mostraron la presencia de otra esterasa denominada A6 con una movilidad relativa de 0.61, con la cual también a sido correlacionada con la resistencia a organofosforados (Bisset *et al.* 2001). La probable intervención de esterases en la resistencia cruzada a piretroides ha sido señalada en *Culex quinquefasciatus* a través de estudios con sinergistas detectándose juntos a las esterases B1A6 y B6, ya habiéndose registrado previamente también en áfido (Bisset *et al.* 1996). Otro mecanismo de resistencia a piretroides es la aparición del gen *DKr*, y la presencia de oxidasa del citocromo P-450. El primero se debe al producirse un simple cambio de algún aminoácido en el sitio de anclaje del insecticida en el canal de sodio y el segundo

es un mecanismo de detoxificación mediante oxidaciones e hidroxilaciones (Chandre F. *et al.* 1999). Se ha indicado que en poblaciones de Brasil y Vietnam, la causa de resistencia a piretroides y DDT es la presencia del gen *DKr* (Bregues *et al.* 2003) de lo cual se infiere que éste podría ser el mecanismo probable que estuviera interviniendo en la resistencia de *Ae. aegypti* a deltametrina en la población de Sullana y Tambogrande, Perú.

En China también se determinaron los niveles de resistencia a deltametrina (Jinfu Wang, 2000), para ello se utilizaron cinco poblaciones naturales de *An. Sinensis* de China. En este estudio la concentración letal media a deltametrina fue más alta en las poblaciones naturales en comparación con las líneas susceptibles originadas de estas mismas. Las cepas resistentes fueron seleccionadas con el insecticida por 12 generaciones, donde los niveles de resistencia en estas fueron más altos que en las líneas susceptibles, y estos a la vez más altos que las líneas naturales. Este estudio sugiere que una línea resistente de una población natural con alta resistencia tiene bajo incremento en respuesta a resistencia, que una línea resistente de una población natural con baja resistencia bajo selección de un insecticida idéntico. En el mismo año Hargreaves *et al.* (2000) realizó pruebas de resistencia a piretroides en mosquitos *Anopheles* exponiéndolos a permetrina. A las 24 horas de exposición, los rangos de supervivencia de los machos obtenidos de campo fueron de 50% para *An. funestus*, 11.1% para *An. rivulorum* y 0% *An. parensis*; los rangos de supervivencia de la progenie obtenida en el laboratorio de 19 hembras de *An. funestus* promedio 14% (después de 1 hora de exposición a 1% de permetrina, papeles impregnados del kit OMS) y 27% (después de 30 minutos en una botella con 25 µg de permetrina).

Failloux y su equipo (1994) investigaron la susceptibilidad a nueve insecticidas, entre estos seis organofosforados, dos piretroides y un carbamato, sobre poblaciones naturales de *Cx. pipiens quinquefasciatus* (Say), *Aedes aegypti* (L) y *Ae. polynesiensis* (Marks), en su etapa larval de 4º estadio. *Cx. Pipiens quinquefasciatus* y *Ae. aegypti* fueron comparados con una línea susceptible de referencia tratada simultáneamente. En los resultados se obtuvo una pequeña pero significativa resistencia a bromofos, clorpirifos, fenitrotrion, temefos y permetrina en *Cx. pipiens quinquefasciatus* y a malation, temefos, permetrina y propoxur en *Ae. aegypti*. En las pruebas bioquímicas

realizadas, *Cx. Pipiens quinquefasciatus* mostró una sobreproducción de esterasas A2 y B2, las cuales se sabe están relacionadas en la resistencia a insecticidas organofosforados, estas enzimas fueron estudiadas en adultos homogéneos mediante electroforesis en gel. En 1996 González *et al.* estudió los cambios en la resistencia a diferentes insecticidas en una cepa de *Cx. quinquefasciatus* seleccionada en el laboratorio con dosis del piretroide lambdacialotrina que provocaron el 90% de mortalidad en larvas, lográndose un aumento en la resistencia a este insecticida de 144.5 veces respecto al nivel original, y se obtuvo una cepa resistente de 287x. Al exponer la cepa resistente a lambdacialotrina a diferentes insecticidas, esta también aumento los niveles de resistencia a pirimifos-metil (2,4veces), propoxur (6 veces), DDT (5.2 veces), clorpirifos (22 veces), cipermetrina (65,7 veces) y deltametrina (20,2 veces). Las frecuencias de los genes que codifican para las enzimas esterasas elevadas y acetilcolinesterasa modificada alcanzaron su máximo valor y se observaron cambios notables en los fenotipos para esterasa en la electroforesis en geles de poliacrilamida. Se detecto sinergismo de DEF y PBO con lambdacialotrina, por lo que las esterasas elevadas y las esterasas de función múltiple pueden contribuir a la resistencia.

Rowland *et al.* (2000) condujeron un experimento en comunidades al azar en el distrito de Sheikhpura, provincia de Punjab, Pakistán para determinar la eficacia en la residualidad de α -cipermetrina (Fendona) rociada (25 mg/m^2) al interior de las viviendas, con el objetivo de prevenir la malaria *falciparum* y *vivax*. La formulación fue probada en polvo humectable (WP) y suspensión concentrada (SC) frente a un control sin rociar. El área de estudio de 180 km^2 fue dividida en 9 sectores, que fueron elegidas al azar para el control, WP y SC, en replicas de 3. La campaña de roció tomo lugar en Junio de 1997; durante los siguiente 7 meses la incidencia de malaria *falciparum* fue 95% menor, asimismo malaria *vivax* tuvo un decremento del 80% esto en los sectores roseados WP, en comparación con los sectores sin rociar; resultados similares fueron obtenidos para los sectores roseados con la formulación SC. *An. culicifacies* fue menos abundante en un 80%, asimismo *An. stephensi*, anofelino predominante, tuvo una reducción del 68% en las áreas roseadas sobre el periodo de 7 meses; esta reducción en las poblaciones de anofelinos, indican que un solo tratamiento de roció fue efectivo durante todo el periodo de transmisión. Además esta campaña fue popular por la

ausencia de emanaciones de olor, por tanto α -cipermetrina es un insecticida prometedor para el control de la malaria en Pakistán y en general el sur de Asia.

En el 2000, Chirebvu *et al.*, compararon el efecto de dos formulaciones de α -cipermetrina (Fendona 6% suspensión concentrada y Fendona Dry 15%) en pabellones tratados sobre mosquitos, en la comunidad rural de Chilonga, Zimbabwe. Los pabellones fueron utilizados en una muestra de 20 casas, mientras los bioensayos en los pabellones tratados y pabellones placebo (control) fueron realizados mensualmente por 6 meses, asimismo se aplicaron cuestionarios a los individuos a un 1 mes postratamiento de pabellones. La media en el tiempo que tardó en derribar (Knockdown) los mosquitos progresó de 2.3 a 13 minutos para Fendona Dry 15% y de 4.1 a 7.8 minutos para Fendona 6% SC durante el periodo de 6 meses de evaluaciones, mientras que la media en el tiempo de derribo para los mosquitos tres meses post lavado fue de 13 minutos y 7.4 minutos para Fendona Dry 15% y Fendona 6% SC respectivamente, frente a más de 30 minutos en el control; ambas formulaciones exhibieron propiedades de resistencia al lavado. La población informó en los cuestionarios elaborados, la producción de estornudos, picor y salpullido, así como las emanaciones de olor en los pabellones, sin embargo estos pabellones impregnados con α -cipermetrina fueron bien recibidos; por lo cual, el potencial insecticida, propiedades resistentes al lavado y aceptabilidad en la comunidad, hacen candidatos adecuados a las formulaciones evaluadas.

En un experimento dirigido por Kolaczinski *et al.* (2000) probaron los dos insecticidas piretroides alfa-ciano, λ -cialotrina y α -cipermetrina, en pabellones tratados a dosis de 20 mg/m². Para establecer la eficacia de estos compuestos, hembras resistentes a piretroides y susceptibles de *An. stephensi*, así como híbridos F1, fueron liberados y permitidos volar libremente en una habitación con un individuo bajo pabellón impregnado. Los dos tratamientos proveyeron buena protección personal, reduciendo el número de mosquitos alimentados comparado con el pabellón sin tratamiento; la mortalidad tras 24 horas fue significativamente alta para los pabellones tratados con α -cipermetrina comparados con los de λ -cialotrina. Para cada insecticida no hubo diferencia significativa en la proporción de homocigotos susceptibles e híbridos F1 encontrados muertos tras el periodo de espera de 24 h, lo que sugiere que no hubo selección de heterocigotos resistentes a piretroides por ninguno de los insecticidas.

Ping *et al.* (2001) investigaron la susceptibilidad en hembras adultas (F1) de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* hacia metilpirimifos y permetrina, comparado con la cepa susceptible de laboratorio, usando el método de papel filtro impregnado. La razón de resistencia al 50% (RR₅₀) de metilpirimifos para *Ae. aegypti* fue de 1.5, mientras para *Ae. albopictus* 1.4. En el caso de permetrina la RR₅₀ para *Ae. aegypti* fue de 12.9 y 1.8 en *Ae. albopictus*; de este modo se demuestra el desarrollo de resistencia a permetrina por *Ae. aegypti*, sin embargo ambas especies continúan siendo susceptibles a metilpirimifos.

Morillo y Notz (2001), evaluaron la resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) a los insecticidas lambdacihalotrina y metomil (formulación de concentrado emulsionable), mediante la realización de bioensayos de susceptibilidad y presión de selección en poblaciones de laboratorio. También evaluaron la resistencia en las poblaciones de campo Valle de Tucutunemo (VT) y Arenales _Tocorón (AT), ambas del Edo. Aragua. Utilizaron el método de inmersión de larvas del tercer instar en 5,0 ml de soluciones de cada insecticida, durante 30 segundos. Emplearon cinco concentraciones por cada insecticida, las cuales oscilaron entre 5,0-55,0 ppm y 280,0-1600,0 ppm para lambdacihalotrina y metomil, respectivamente. Adicionalmente, evaluaron la respuesta de un grupo de larvas (control) con agua destilada solamente. La presión de selección la realizaron durante siete generaciones. La población seleccionada con lambdacihalotrina varió su razón de resistencia (RR₅₀) de 19,4 a 41,9 veces entre P₀ y F₉, mientras que en la colonia seleccionada con metomil, la RR₅₀ osciló de 3,1 veces en P₀ a 22,1 veces en F₉. La RR₅₀ para lambdacihalotrina en las colonias VT y AT fueron 62,0 y 65,7 respectivamente; para metomil se registró una RR₅₀ de 10,6 y 3,8 en las respectivas colonias. Los altos niveles de resistencia obtenidos demuestran la necesidad de implementar estrategias de manejo de la resistencia en *S. frugiperda*.

En un estudio se evaluó la eficacia de caravanas para ganado Python (10% z-cipermetrina / 20% butoxido de piperonilo), utilizando dos por cada oreja de animal contra mosquitos del genero *Ochlerotatus*, así como ganado sin tratar como control. Los mosquitos adultos fueron colectados con trampa de caída tras 2 y 4 semanas después de la aplicación de las caravanas, encontrando una reducción en la alimentación de *Ochlerotatus dorsalis* del 79 y 77%, respectivamente, mientras que la supresión de

Ochlerotatus melanimon fue de 84 y 81% respectivamente. Basándose en el análisis de chi cuadrada, las diferencias en los valores de alimentación debido al tratamiento fueron significantes. El efecto del tratamiento sobre los mosquitos fue percibido como repelencia, debido a que no se observó mortalidad de mosquitos durante las colectas, así como tampoco se observó mortalidad en los mosquitos alimentados colectados y mantenidos por 24 horas (Lloyd *et al.*, 2002).

Ansari *et al.* (2002), evaluaron la viabilidad operacional y bioeficiencia de cortinas tratadas con α -cipermetrina (Fendona) en asentamientos marginales de Andrews Ganj, Nueva Delhi en la capital de la India. Las cortinas de yute fueron tratadas con α -cipermetrina en concentración de 100 mg/m² y colocadas en ventanas y puertas, antes de la época del periodo de transmisión, posteriormente se hicieron evaluaciones entomológicas por dos años. Las evaluaciones revelaron que las cortinas tratadas producían una drástica reducción al día en el reposo de los mosquitos *An. stephensi*, *Ae. aegypti* y *Cx. quinquefasciatus* al interior de las viviendas; similarmente se observó una disminución en los casos de malaria en el área de cortinas tratadas, en comparación con el área de cortinas no tratadas y el área sin cortinas. Los bioensayos realizados con *An. stephensi* y *Cx. quinquefasciatus* demostraron que α -cipermetrina puede producir arriba del 70% de mortalidad hasta por 6 meses en el caso de *An. stephensi*, el principal vector urbano de malaria, con lo cual dos rondas de tratamiento con cortinas hacen suficiente la protección de los habitantes contra malaria en un año.

Hougard (2003), evaluaron el insecticida piretroide bifentrina, en condiciones de laboratorio contra mosquitos susceptibles y resistentes a piretroides, como un insecticida potencia para el tratamiento de mosquitos. Fueron utilizadas dos líneas de laboratorio de *An. gambiae* y dos de *Cx. quinquefasciatus* (Say). Comparado con otros dos piretroides como permetrina y deltametrina, la intrínseca toxicidad de bifentrina, medida por la aplicación tópica con líneas susceptibles, fue intermediada. Por contacto tarsal forzado sobre papel filtro (pruebas cilindros) o sobre redes (pruebas cono), bifentrina fue encontrado ligeramente más efectivo en contra de *An. gambiae* que en contra de *Cx. quinquefasciatus* (Say), en términos de mortalidad y efecto knockdown. En las pruebas túnel, Bifentrina fue muy eficiente en contra de los mosquitos matándolos e

inhibitándolos de alimentarse, siendo relativamente más eficiente contra *An. gambiae* resultando el impacto de resistencia más grande en *Cx. quinquefasciatus* (Say).

Díaz *et al.* (2003), realizó un estudio de los niveles de resistencia a 10 insecticidas: 4 compuestos organofosforados (malation, clorpirifos, pirimifos metil y diazinon), 2 carbamatos (propoxur y bendiocarb) y 4 piretroides (cipermetrina, deltametrina, lambdacialotrina y ciflutrina) en 5 cepas de *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) colectadas en el terreno, procedentes de la ciudad de Pinar del Río. Se detectaron altos niveles de resistencia a los insecticidas: bendiocarb, cipermetrina y deltametrina; bajo nivel de resistencia a diazinon; moderada a alta a pirimifos metil; así como, susceptibilidad a un insecticida de cada grupo en estudio: clorpirifos (organofosforado), propoxur (carbamato) y ciflutrina (piretroide). Solo una cepa presentó baja resistencia a malation (Inicio Carlos Manuel) y a lambdacialotrina (Consejo Celso Maragoto). Se evidenció resistencia cruzada cipermetrina-deltametrina, que no afectó la susceptibilidad a los piretroides lambdacialotrina y ciflutrina.

Vassena y Picollo (2003), realizaron estudios sobre la susceptibilidad de *T. infestans* a ciertos insecticidas, analizaron 180 muestras recolectadas en 13 provincias argentinas, demostraron pequeños cambios en la susceptibilidad a deltametrina en vinchucas recolectadas en algunos departamentos de 5 provincias (San Luis, La Rioja, Mendoza, Catamarca y Salta), sobre un total de 14 provincias evaluadas.

La resistencia a deltametrina fue además establecida sobre una población de campo de *T. infestans* del sur de Brasil y en 2 poblaciones de *R. prolixus* provenientes de Venezuela.

El estudio de susceptibilidad a otros insecticidas piretroides utilizados en el control de triatominos, demostró que la población de *T. Infestans* recolectada en Brasil fue resistente a b-ciflutrina y a cipermetrina, pero susceptible a β -cipermetrina y lambdacialotrina. La población venezolana de *R. prolixus*, mostró resistencia a todos los piretroides evaluados. La mayor resistencia detectada es para la cipermetrina, mientras que el menor nivel de resistencia fue a lambdacialotrina. La menor susceptibilidad fue hacia la β -cipermetrina encontrada en esta colonia, indica un caso de resistencia cruzada, ya que se trata de un insecticida novedoso para el control de triatominos en ese País. La resistencia detectada en estas colonias de campo fue baja y no impidió el control

químico a campo con el insecticida, pero demostró el potencial genético de los triatomíneos para desarrollar resistencia a insecticidas, y la necesidad de vigilar los cambios de susceptibilidad para desarrollar una estrategia alternativa de control de poblaciones resistentes.

Siguiendo en esta misma rama de estudios, Ansari *et al.* (2003), evaluaron la bioeficiencia y la viabilidad operacional de pabellones (filamentos de polínylon) tratados con α -cipermetrina (Fendona) en concentración de 25 mg/m² contra *An. culicifacies*, vector de malaria, en ciertas villas del distrito Ghaziabad al norte de la India. Los pabellones ofrecieron acción repelente (26.5 \pm 8.1), éxito en acción repelente (93.7 \pm 8.1), y acción aniquilante (100%) frente *An. culicifacies*. De esta manera se pudo demostrar reducción significativa ($p < 0.05$) en el reposo de *An. culicifacies* al interior de viviendas humanas, además la acción instantánea aniquilante presentada por los pabellones tratados proveen una protección completa a los individuos durmiendo dentro de estos contra los piquetes de este mosquito. Los bioensayos revelaron que los pabellones tratados pueden producir arriba del 70% de mortalidad en *An. culicifacies* hasta por 22 semanas, requiriendo solo un tratamiento con insecticida por año en el área, en la temporada de transmisión. Este estudio también reveló que los pabellones pueden ser guardados a temperatura ambiente hasta por 10 meses, sin perder su eficacia; es importante mencionar que durante el periodo en estudio no se detectaron casos de malaria falciparum, habiendo una reducción significativa en los casos de esta enfermedad ($p < 0.05$).

En otros estudios sobre piretroides, también se ha evaluado a bifentrina en condiciones de laboratorio contra mosquitos susceptibles y resistentes a otros piretroides, como un insecticida de potencia para el tratamiento de mosquitos. Hougard *et al.* (2002) utilizó para esta evaluación dos líneas de laboratorio de *An. gambiae* y dos de *Cx. quiquefasciatus*. Comparando con otros piretroides como permetrina y deltametrina, la intrínseca toxicidad de bifentrina, medida por aplicación tópica con líneas susceptibles fue intermedia. Por contacto tarsal forzado sobre papel filtro (pruebas cilindro) o sobre redes (pruebas cono), bifentrina fue encontrado ligeramente más efectivo en contra de *An. gambiae* que contra *Cx. quiquefasciatus*, en términos de mortalidad y efecto knockdown. En las pruebas túnel, bifentrina fue muy eficiente en

contra de los mosquitos, matándolos e inhabilitándolos de alimentarse, siendo relativamente más eficiente contra *An. gambiae* resultando el impacto de resistencia más grande en *Cx quiquefasciatus*.

Bisset *et al.* (2003), determinaron los niveles de susceptibilidad y/o resistencia, en larvas y adultos de *Ae. aegypti* procedentes de 2 localidades de Panamá (Río Abajo y Victoriano Lorenzo). En larvas, se encontró resistencia a metilpirimifos en las 2 localidades, sin embargo, resultaron susceptibles al resto de los insecticidas organofosforados (temefos, malation, fention, fenitroton y clorpirifos) y a los piretroides (deltametrina, λ -cialotrina, cipermetrina y ciflutrina). En los ensayos de adultos, de acuerdo con las categorías de la Organización Mundial de la Salud, las 2 localidades resultaron también completamente susceptibles a los piretroides deltametrina, lambdacialotrina, β -cipermetrina y ciflutrina.

En Madagascar, Ratovonjato *et al.* (2003), examinaron la susceptibilidad de *An. arabiensis* y *An. funestus* frente a 4 piretroides (deltametrina 0.50%, permetrina 0.250%, α -cipermetrina 0.025%, ciflutrina 0.150%) y DDT (4%), debido al papel que juegan como principales vectores en los territorios altos del centro de este país. Los mosquitos fueron colectados en Diciembre del 2002 hasta Mayo del 2003 en 3 villas en el distrito de Tsiroanomandidy y en Alasora, área rural cerca de la capital, Antananarivo. Los datos obtenidos muestran un decremento en la eficiencia de α -cipermetrina ($TDK_{99} = 21$ min) y del DDT ($TDK_{99} = 191.5$ min) sobre *An. arabiensis* provenientes de Analamiranga, no obstante la efectividad de permetrina ha sido reportada. En Soanierana, α -cipermetrina fue efectiva frente *An. arabiensis*, no así el DDT ($TDK_{99} = 116$ min) en Andranonahoatra. En Alasora se notificó una disminución en la efectividad de α -cipermetrina ($TDK_{99} = 21$ min) y resistencia a DDT ($TDK_{99} = 6894$ min), sin embargo no se detectó mutación DKr en el gen DK de *An. arabiensis* resistente a α -cipermetrina y DDT. Por otra parte *An. funestus* colectados en Miandrivazo, mostraron ser susceptibles a piretroides y DDT. Los resultados demuestran que *An. arabiensis* de los territorios altos en el centro continúan siendo susceptibles a piretroides, asimismo pobremente susceptibles o resistentes a DDT, mientras *An. funestus* continua siendo susceptible a todos los insecticidas expuestos.

Bisset *et al.* (2003), determinaron los niveles de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas, en larvas y adultos de *Aedes aegypti* procedentes de 2 localidades de Panamá (Río Abajo y Victoriano Lorenzo). En los bioensayos de la OMS, se realizaron 5 réplicas de cada concentración del insecticida (20 larvas por réplica), registrándose entre 2 y 98 % de mortalidad. Todas las soluciones se ajustaron a un volumen final de 1 mL con acetona. La lectura de las mortalidades se realizó a las 24 h, hallándose la CI50 y la CL90 a través del programa probit- log.⁷ La acción de 2 sinergistas, S,S,S tributyl phosphorotrithioate (DEF) y piperonyl butoxide (PB) fueron investigados, exponiendo las larvas de cuarto estadio a 0,008 mg/L de DEF ó 5 mg/L de PB durante 4 h previo a la adición de la solución del insecticida.⁸⁻¹⁰ No existió mortalidad del sinergista solo a estas concentraciones. Bioensayos con adultos: Las hembras fueron expuestas a papeles impregnados con insecticidas. Cada uno de los insecticidas fue evaluado a través de 4 réplicas, cada una con 25 mosquitos y se expusieron los insectos al papel impregnado con insecticida, colocado en los cilindros plásticos de exposición (kits de la OMS) durante 60 min. En larvas, se encontró resistencia a pirimifos metil en las 2 localidades, sin embargo, resultaron susceptibles al resto de los insecticidas organofosforados (temefos, malation, fention, fenitrothion y clorpirifos) y a los piretroides (deltametrina, lambdacialotrina, cipermetrina y ciflutrina). En los ensayos de adultos, de acuerdo con las categorías de la Organización Mundial de la Salud, las 2 localidades resultaron también completamente susceptibles a los piretroides deltametrina, lambdacialotrina, b cipermetrina y ciflutrina.

Bisset *et al.* (2004), determinaron los niveles de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas en larvas de *Aedes aegypti*, colectadas del municipio Playa, durante la etapa intensiva de la campaña contra el mosquito *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, en el presente año. En larvas, se encontró alta resistencia a los insecticidas organofosforados fention y temefos y moderada a fenitrothion, también se detectó alta resistencia al carbamato propoxur. Las larvas resultaron susceptibles a clorpirifos, malation y pirimifos metil. Los resultados a través del uso de sinergistas indicaron que las esterases desempeñan un papel importante en la resistencia detectada a los insecticidas organofosforados, pero no en la resistencia a propoxur, sin embargo, las monoxigenasas intervienen solamente en la resistencia a fenitrothion. Estos mecanismos se encontraron a elevada frecuencia en las larvas de este

municipio. Se confirmó el papel de las esterases en la resistencia a temefos mediante ensayos de inhibición en gel de poliacrilamida (AU).

Durante el 2000 – 2002, estudios sobre la susceptibilidad de *Ae. aegypti* a insecticidas fueron realizados en 22 lugares, en 11 provincias y ciudades en cuatro regiones de Viet Nam, esto siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud (WHO). *Aedes aegypti* (L) fue encontrado susceptible a malation, pero resistente al DDT en muchos de los sitios de estudio. Sin embargo, continua siendo susceptible al grupo de insecticidas piretroides (permetrina, λ -cialotrina, deltametrina y α -cipermetrina) en muchos lugares de la región del norte y centro, pero es resistente a estos insecticidas en muchos lugares en el sur y partes altas del centro en Viet Nam. Encontrándose altamente resistente al etofenoprox (Huong *et al.*, 2004).

Duque *et al.* (2004), evaluaron la susceptibilidad en larvas de *Ae. aegypti* a cipermetrina y temefos, en una población proveniente de la ciudad de Curitiba, Estado de Paraná en Brasil, por primera ocasión. Utilizando la metodología propuesta por la Organización Mundial de la Salud, los bioensayos se llevaron a cabo utilizando las formulaciones Temephos Fersol 1G” (granulado, 1%) para temefos y Cynoff 400 Pm” (polvo, 25%) para cipermetrina. Los resultados obtenidos utilizando temefos, en la dosis diagnóstico de 0.0125 ppm, se observa un 90% de mortalidad y un 10% de sobrevivencia, mientras que al utilizar múltiples concentraciones, se obtiene una LC_{50} de 0.0046 ppm ($RR_{50}= 1.7$) y una LC_{95} de 0.0191 ppm ($RR_{95}= 4.7$) de ingrediente activo. En el caso de cipermetrina, se obtuvo un valor de sobrevivencia del 35% y 65% de mortalidad, utilizando la dosis diagnóstico de 0.0125; la LC_{50} fue de 0.0096 ppm ($RR_{50}= 27$) y 0.0275 ppm de ingrediente activo en la LC_{95} ($RR_{95}= 4$), comparando con la cepa de referencia Rockefeller en ambos tratamientos. De este modo los resultados muestran susceptible a esta especie a temefos, mientras resistente a cipermetrina.

Pereira *et al.* (2005), monitorearon la resistencia a cipermetrina en diferentes poblaciones Brasileñas de *Ae. aegypti*, colectadas en dos periodos sucesivos (2001 & 2002/2003), esto utilizando el método de bioensayo en botella. Los resultados de esta investigación, muestran un decremento en la susceptibilidad de este vector en ambos periodos analizados, particularmente en las poblaciones de mosquitos provenientes de Río de Janeiro, a pesar de que la cipermetrina es un piretroide que recientemente se

utilizo en el país para el control del mismo. Sin embargo los autores, encaminan sus esfuerzos a investigar más a fondo los mecanismos por los cuales *Ae. aegypti* presenta resistencia a cipermetrina, teniendo como indicio en primer instancia la alteración del sitio blanco.

En Perú, Chávez *et al.* (2005), determinaron el nivel de resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Ae. aegypti* de este país. Los bioensayos se realizaron en adultos, siguiendo la metodología de la OMS y utilizando la cepa Rockefeller como referencia, de esta manera encontraron resistencia en la población de mosquitos procedentes de Sullana con 70% de mortalidad, mientras que en la población de El Provenir se encontró susceptible con un 99% de mortalidad.

En Cuba, se determinó el nivel de susceptibilidad y/o resistencia de mosquitos adultos en una cepa de *Aedes aegypti* (L) colectada en el municipio Playa, Ciudad de La Habana, en relación con los insecticidas λ -cialotrina, clorpirifos y cipermetrina. Los resultados demostraron que la cepa en estudio no es resistente para los insecticidas λ -cialotrina y cipermetrina (FR < 5X) y para el insecticida clorpirifos se comporta igual de susceptible que la cepa de referencia CAREC (FR = 1) (Montada *et al.*, 2005).

Los mosquitos son capaces de desarrollar resistencia a la mayoría de los insecticidas usados para su control, de modo que la dosis inicial del tóxico que resultaba efectiva no logra controlar la población resistente, generalmente la respuesta inmediata es aumentar la frecuencia del tratamiento o la concentración del insecticida, agravando el problema del fracaso del control químico, de modo que la estrategia racional para manejar la resistencia requiere el conocimiento de los mecanismos involucrados en dicho fenómeno (Picollo, 2006).

La resistencia a piretroides está surgiendo a pesar del optimismo que causó debido a su acción tóxica rápida y por ser uno de los grupos insecticidas más nuevos, por estas razones, se pensaba que no produciría resistencia en un lapso corto de tiempo (Malcom, 1988).

Las estrategias de manejo de resistencia desarrolladas actualmente se basan en el estudio toxicológico, bioquímico y genético del fenómeno de resistencia detectada. Uno de los requerimientos de estas estrategias es mantener un constante monitoreo de la susceptibilidad de las poblaciones de insectos expuestos a los compuestos utilizados para

su control, con el objetivo de prevenir el incremento no controlado de la resistencia realizando un diagnóstico precoz de su desarrollo. La detección temprana como método preventivo, debe complementarse con una estrategia de rotación de activos que permita la utilización de un compuesto alternativo hacia el que la resistencia en desarrollo no cruce , o con el desarrollo de nuevas formulaciones que reduzcan la resistencia o potencien la acción del insecticida (Picollo,2006).

Los dos principales mecanismos de resistencia a insecticidas son las alteraciones en el sitio blanco y un incremento en la tasa de detoxificación de los insecticidas. Una vez que se detectan niveles de resistencia en una población de vectores es fundamental determinar su base bioquímica y molecular. (Fonseca *et al.* 2005).

La identificación de los mecanismos de resistencia permite la selección de los insecticidas a usar en los programas de control y la evaluación del potencial desarrollo de resistencia a insecticidas alternativos (Fonseca *et al.* 2005)

La resistencia puede considerarse como un proceso inevitable, debido a que la presión de selección continua se sigue ejerciendo con las aplicaciones de insecticidas (Brattsen, 1989). Sin embargo es de interés el estar preparados para manejarla convenientemente, previniendo en lo posible su desarrollo, o en el peor de los casos encauzando la resistencia hacia caminos desconocidos, presionando sólo algunos mecanismos de resistencia que puedan ser revertidos mediante el uso de otros productos o métodos de control.

Se han realizado trabajos que determinan el grado de resistencia en diferentes insectos plaga. Algunos ejemplos sobre el manejo de resistencia efectivos que se han llevado a cabo son los que menciona Picollo (2006) en su revisión bibliográfica sobre resistencia a insecticidas piretroides en *Triatoma infestans* y *Pediculus capitis* en Argentina.

El control de *Triatoma infestans*, principal vector de la Enfermedad de Chagas, se ha realizado durante los últimos 20 años principalmente mediante el uso de insecticidas y que la aparición de posibles focos de resistencia, se han evaluado desde 1995 por el CIPEN basado en un programa de colaboración con el Servicio Nacional de la República Argentina y financiado por el UNDP /WORLD BANK / WHO Programa especial para la investigación de la Enfermedad de Chagas, Organización Mundial de la

Salud. Los estudios realizados sobre muestras recolectadas en 13 provincias argentinas durante los años 1997-1998, demostraron pequeños cambios en la susceptibilidad a deltametrina. La baja resistencia detectada en estas colonias de campo, no impidió el control químico con este insecticida, sin embargo se demostró el potencial genético de los triatomas para desarrollar resistencia a insecticidas. Durante los años 2001 y 2002, se realizó un nuevo estudio de cambios de susceptibilidad a deltametrina en vinchucas de campo, enfatizando en aquellos lugares donde la resistencia inicial fue detectada. En este nuevo estudio se detectó resistencia a deltametrina en el 63.2 % de las muestras evaluadas, así también mostraron resistencia a los insecticidas β -cipermetrina, β -ciflutrina y λ -cialotrina (ciano-piretroides) y a la cis-permetrina (no ciano-piretroide), pero resultaron susceptibles al organofosforado fenitrotión. Este patrón de resistencia puede estar relacionado con la actividad de enzimas degradantes comunes entre piretroides (y no entre organofosforados), o el blanco de acción de este grupo de insecticidas (canales de sodio dependientes del voltaje en la membrana nerviosa). Los ensayos bioquímicos mostraron que las poblaciones resistentes poseen mayor actividad del citocromo P450 mono-oxigenasa (enzima importante en la degradación de los insecticidas piretroides) en comparación a la cepa susceptible utilizada. Estos resultados indican que las enzimas degradadas serían la causa de la resistencia a piretroides, los altos niveles de resistencia encontrados, sugieren que la modificación del sitio de acción (gen Dkr) puede ser una causa contributiva. Con base en estos estudios toxicológicos y bioquímicos realizados en los triatomas, indican que es necesario suspender los tratamientos con insecticidas piretroides e iniciar con la aplicación de otros insecticidas, con base en esto se utilizó el insecticida fosforado fenitrotión como estrategia alternativa, obteniéndose como resultado la exitosa reducción de la población de triatomas. En este caso la estrategia de manejo de resistencia utilizada estuvo basada en el reemplazo de un insecticida piretroide por otro de distinto modo de acción.

Picollo (2006) también hace mención de algunos estudios realizados sobre la incidencia anual de pediculosis en Buenos Aires, Argentina, los cuales mostraron que un 79% de los niños de 6 a 12 años presentan el problema. Los estudios realizados sobre poblaciones de piojos recolectados en escuelas públicas mostraron resistencia a permetrina en el 92.3% de las muestras. Los estudios toxicológicos demostraron que los

piojos resistentes a permetrina, desarrollaron además resistencia a otros piretroides (deltametrina y δ -fenotrina) y resistencia cruzada a un novedoso piretroide (β -cipermetrina), debido probablemente al mayor metabolismo degradante mediado por las enzimas esterasas y oxidasas. Los estudios bioquímicos mostraron que la actividad monooxigenasa de función mixta medida en abdómenes individuales de piojos adultos y ninfas grandes, mediante la fluorescencia producida por la deetilación de la 7-etoxicoumarina, fue significativamente menor en la población de referencia que en las poblaciones resistentes. La actividad de etoxicoumarina deetilasa mostro excelente correlación con el nivel de resistencia determinado por aplicación tópica, demostrando el rol que juegan estas enzimas en la resistencia a piretroides en *P. capitis humanus*. Este complejo enzimático es una importante vía metabólica para todos los insecticidas piretroides (la única familia autorizada para uso pediculicida), lo que resulta en resistencia cruzada a este grupo de compuestos. Este fenómeno de resistencia en piojos es preocupante debido a la baja disponibilidad de compuestos alternativos suficientemente efectivos en piojos y con la suficiente baja toxicidad en mamíferos para poder ser utilizados como pediculicidas. Consecuentemente la estrategia alternativa estudiada para este problema se oriento en el desarrollo de nuevas formulaciones con innovación en excipientes que optimicen la efectividad del ingrediente activo, resultando que los alcoholes alifáticos 1-octanol, 1-nonanol, 1-decanol, 1-undecanol y 1-dodecanol, producen derribo en los piojos expuestos y que incrementan la mortalidad de las lociones experimentales que combinan el insecticida con alcohol. En los estudios sobre nuevas formulaciones de insecticidas se encontró que la toxicidad aumenta con el número de átomos de carbono adicionales en la molécula y con el coeficiente de partición octanol: agua, ya que la mayor hidrofobicidad del compuesto favorecería la interacción con la capa de cera epicuticular del insecto. En caso de las lociones que combinan d-fenotrina y dodecanol, el daño cuticular que producirá el alcohol podría favorecer la penetración del insecticida y de esta manera incrementar su efecto tóxico.

Fenotrina es un insecticida piretroide que no ha extendido ampliamente su uso para el control de mosquitos, aunque existen reportes (Yoshinori *et al.* 1991) donde se evaluado a nivel de campo en aplicaciones ULV una mezcla de d-aletrina y d-fenotrina

para el control de *Anopheles albimanus* en Haití, resultando efectiva en combinación con un rociamiento residual de fenitroton.

En un estudio realizado en Pitoa, al norte de Camerún, utilizaron 2 concentraciones de bifentrina para impregnar pabellones, 50 mg/m² y 5 mg/m²; y de este modo controlar a los vectores de la malaria, *Anopheles gambiae* y *An. funestus*. Los anofelinos fueron significativamente reducidos a la concentración de 50 mg/m² (>80%), no observándose lo mismo para la concentración de 5 mg/m². Con el uso de este piretroide en la dosis más alta, hubo una reducción de 60% en alimentación sanguínea y de 75 a 90% en mortalidad de ambos vectores. De este modo la protección personal frente a *An. funestus* y poblaciones metabólicamente resistentes a piretroides de *An. gambiae* fue adquirida (Chouaibou *et al.*, 2006).

Dorta *et al.* (2005), determinaron el nivel de susceptibilidad y/o resistencia de mosquitos adultos en una cepa de *Aedes aegypti* (L) colectada en el municipio Playa, Ciudad de la Habana, en relación con los insecticidas lambacialotrina, clorpirifos y cipermetrina. Los resultados demostraron que la cepa en estudio no es resistente para los insecticidas lambacialotrina y cipermetrina ya que el factor de resistencia fue menor a 5 y para el insecticida clorpirifos se comporta igual de susceptible que la cepa de referencia CAREC (FR =1).

Flores *et al.* (2006), analizaron los mecanismos bioquímicos potenciales de resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti* de 5 municipios de Quintana Roo (Benito Juárez, Cozumel, Isla Mujeres, Lázaro Cárdenas y Solidaridad). Se evaluó la actividad de las enzimas α y β esterasas, oxidasas de función múltiple (MFO's), glutation-S-transferasa (GST), acetilcolinesterasa (AChE) y acetilcolinesterasa insensible (iAChE) en microplaca, teniendo como referencia la cepa susceptible New Orleans. Las enzimas α esterasas fueron elevadas en hembras provenientes de Benito Juárez y Cozumel, mientras en machos y hembras de Lázaro Cárdenas. La enzimas β esterasas fueron elevadas en hembras de las localidades de Benito Juárez y Cozumel y en machos de Cozumel y Lázaro Cárdenas. La evidente elevación en enzimas esterasas sugiere un mecanismo potencial de resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y algunos piretroides. Ligeros incrementos en MFO's de hembras provenientes de Lázaro

Cárdenas y machos de Cozumel, Islas Mujeres y Solidaridad fueron registrados, mientras que los mecanismos que involucraban AChE y iAChE no fueron aparentes.

Vargas *et al.* (2006), realizaron un estudio para determinar la resistencia a temefos y deltametrina en cinco poblaciones naturales de *Ae. aegypti* del norte del Perú (La Libertad y Piura), dos cepas de *Anopheles albimanus* (Sullana y Tambogrande) y una cepa de *Lutzomyia spp.* (Santiago de Chuco, La Libertad). Siguiendo la metodología propuesta por la OMS en los bioensayos de larvas y adultos, se obtuvo que las poblaciones de *Ae. aegypti* de Sullana y Tambogrande (Piura) presentaron factores de resistencia (FR) a temefos de 6.84 con un $DKT_{50} = 160.42$ minutos y 70% de mortalidad a las 24 horas; en la población de Tambogrande se observó un FR de 5.60 y un $DKT_{50} = 107.20$ y 80%, a diferencia de las cepas de la Esperanza, El Porvenir y Florencia de Mora (La Libertad) que fueron susceptibles. También se identificó resistencia en las poblaciones de *Ae. aegypti* y *An. albimanus* procedentes de Piura (Tambogrande y Sullana) para deltametrina, a diferencia de las poblaciones de *Ae. aegypti* y *Lutzomyia spp.* de La Libertad que fueron susceptibles.

Balta y Villaseca (2006), determinaron la susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas en mosquitos *Anopheles* de las principales áreas maláricas del Perú. Utilizaron en este estudio papeles impregnados por OMS, estudiaron 6 insecticidas, de los cuales 3 eran piretroides (lambacialotrina, deltametrina, permethrina, un órgano fosforado (malation) y dos carbamato (propoxur y carbaryl). En 5 localidades del país. Los resultados que obtuvieron son que con deltametrina, lambacialotrina fueron resistentes presentando una mortalidad de 15 y 28% respectivamente, mientras que carbaril presentó 96% y los que fueron susceptibles fueron permethrina con 100%, malation y propoxur también con 100% .

En Putumayo, Colombia, se evaluaron las formulaciones de piretroides Depe[®] (highcis-permethrina) en ultra bajo volumen (ULV) y Bolate[®] (β -cipermetrina) con potencia fumígeno sobre *Ae. aegypti* en 16 manzanas de la cabecera municipal del Puerto Leguizamo entre Julio y Diciembre del 2004. La reducción de las densidades de adultos el día posterior a la aplicación de los insecticidas fue superior al 80% con los dos insecticidas, además se encontró un desplazamiento de los mosquitos del interior al exterior de las viviendas, después de la aplicación de los insecticidas. Sin embargo, a

pesar del impacto inmediato de los insecticidas, no se observó una disminución sostenida de la densidad de adultos a lo largo de las 5 semanas de evaluación post-tratamiento, debido probablemente a la emergencia de adultos de los criaderos, los cuales no fueron tratados (Castro *et al.*, 2007).

En el 2007, Bisset *et al.* determinaron la resistencia en 2 poblaciones de *Ae. aegypti* (larvas y adultos) provenientes de Trujillo y Tumbes, Perú. Los bioensayos en larvas revelaron susceptibilidad al insecticida organofosforado malation ($FR_{50} \leq 5X$) en la cepa Trujillo, moderada a fenitrothion y fenitrothion (FR_{50} entre 5 y 10) y alta resistencia ($FR_{50} \geq 10X$) a clorpirifos y temefos, sin embargo en la cepa Tumbes se observó susceptibilidad para los organofosforados evaluados, excepto para fenitrothion, con moderada resistencia. Los bioensayos realizados en adultos según la OMS, a la dosis recomendada, se encontró resistencia en la población de Trujillo al organoclorado DDT y a los piretroides λ -cialotrina y ciflutrina, mientras que la cepa Tumbes fue resistente al DDT y a todos los piretroides evaluados. Asimismo se demostró que las enzimas esterasas y monooxigenasas desempeñaron un papel importante en la resistencia a organofosforados en larvas de la provincia de Trujillo, también se encontró actividad incrementada de glutathion-S-transferasa (GST) y acetilcolinesterasa modificada (AChE).

En un estudio realizado en Cuba, se determinó el nivel de resistencia y/o susceptibilidad, utilizando la metodología propuesta por la OMS, en larvas y adultos de una cepa de *Aedes aegypti* (L), colectada en el municipio de Santiago de Cuba, ante los insecticidas λ -cialotrina, clorpirifos y cipermetrina. Los resultados demostraron que en el estadio larval la cepa en estudio mostró ser susceptible ante los insecticidas λ -cialotrina ($FR_{90} = 2.1$), clorpirifos ($FR_{90} = 1.3$) y cipermetrina ($FR_{90} = 3.3$), mientras que en el estadio adulto mostró ser moderadamente resistente para los insecticidas λ -cialotrina ($FR_{90} = 8.6$) y cipermetrina ($FR_{90} = 7.2$), y ante el insecticida clorpirifos se comportó susceptible ($FR_{90} = 4.47$), esto al hacer la debida comparación con la cepa de referencia Rockefeller (Montada *et al.*, 2007).

En Brasil, fue determinado el estado de susceptibilidad de *Ae. aegypti*, en 9 poblaciones provenientes del estado de Sao Paulo y 7 de la región norte de Brasil, esto debido a un cambio el grupo de insecticida usado entre estas áreas. Los bioensayos de larvas y adultos fueron de acuerdo a los propuestos por la Organización Mundial de la

Salud (WHO). Los resultados obtenidos muestran altos niveles de resistencia hacia el grupo organofosforado en las poblaciones de la región norte, esto ya que su uso fue hacia el control de larvas y adultos, mientras que en Sao Paulo los organofosforados solo fueron usados en larvas, mientras piretroides para el control de adultos. La resistencia hacia piretroides en adultos estuvo distribuida a lo largo del estado de Sao Paulo, esto después de utilizar por 10 años cipermetrina para el control de este vector, mientras que en la región del norte, esta resistencia se vio en forma puntual (Graça *et al.*, 2007).

En el 2007, un estudio comparativo entre la efectividad de bifentrina y permetrina, en la prevención de entrada de mosquitos en tiendas de campaña, fue realizado en Queensland, Australia. Se utilizaron formulaciones de los insecticidas para rociar 2 tiendas de campaña tipo militar con bifentrina (BistarTM 80SC, 0.1% mix, 12.5 mL/L), asimismo dos con permetrina (PerigenH 500, 1.2%, 24 mL/L), dejando una tienda de campaña libre de insecticida como control, y colocando trampas de bióxido como cebo en cada una de los tratamientos, así como una trampa en el bosque a 50 metros de distancia como control. Se registro inicialmente un 78.6% en la prevención de entrada de mosquitos a los tratamientos utilizando bifentrina, mientras un 84.3% con permetrina, comparado con el control. Tras cuatro semanas, la protección descendió a 68.6% con bifentrina y 50.7% con permetrina, después de 6 semanas la protección llegó a menos del 34% para cada insecticida. De esta manera, las tiendas de campaña tratadas proveen una razonable protección previniendo la entrada de mosquitos al menos por 4 semanas (Frances, 2007).

Reis *et al.* (2007) reportan la resistencia de *Ae. aegypti* a temefos en muchas municipalidades de Brasil en el 2000, esto debido al uso histórico de organofosforados en ese país. Ahora el control de este vector ha sido modificado, utilizando piretroides para adultos y *Bti* frente a larvas en algunas localidades. Sin embargo altos niveles de resistencia a temefos siguieron siendo detectados entre el 2001 y 2004.

Rodríguez *et al.* (2007), evaluaron la resistencia de 8 cepas de América Latina de *Ae. aegypti* a 6 organofosforados (temefos, malation, fenitroion, metilpirimifos, fenitroion y clorpirifos) y 4 piretroides (deltametrina, λ -cialotrina, β -cipermetrina y ciflutrina) bajo condiciones de laboratorio. En los bioensayos realizados en larvas, se encontró que la resistencia a temefos fue alta en la mayoría de las cepas ($RR_{50} \geq 10X$),

excepto en las provenientes de Nicaragua y Venezuela, mostrando moderada resistencia (RR₅₀ entre 5 y 10 X). La mayoría de las cepas fueron susceptibles a malation, fenitrothion y fenitrothion, sin embargo la resistencia hacia metilpirimifos fue encontrada desde moderada a alta en muchas de las cepas. Las larvas provenientes de la Ciudad de la Habana fueron resistentes a 3 piretroides y moderadamente a ciflutrina; la cepa proveniente de Santiago de Cuba mostró alta resistencia a deltametrina y moderada resistencia hacia los otros piretroides. El resto de las cepas fueron susceptibles a piretroides, excepto las de Jamaica y Costa Rica, las cuales mostraron moderada resistencia a ciflutrina, en Perú y Venezuela se encontró resistencia a deltametrina en larvas. Los bioensayos realizados en adultos revelaron que todas las cepas fueron resistentes al organoclorado DDT y a la mayoría de los piretroides evaluados.

En el 2008, Perera *et al.* llevaron a cabo un estudio sobre los mecanismos involucrados en la resistencia a insecticidas, en vectores anofelinos de malaria en Sri Lanka. Se seleccionaron 5 distritos (Anuradhapura, Kurunegala, Moneragala, Puttalam and Trincomalee), en donde el principal vector de malaria es *Anopheles culicifacies*, seguido por *Anopheles subpictus*, además otros 8 anofelinos (*Anopheles annularis*, *Anopheles barbirostris*, *Anopheles jamesii*, *Anopheles nigerrimus*, *Anopheles peditaeniatus*, *Anopheles tessellatus*, *Anopheles vagus* y *Anopheles varuna*) del distrito Anuradhapura fueron sometidos. Utilizando la metodología de la Organización Mundial de la Salud, hembras adultas, fueron expuestas a dosis diagnóstico de los insecticidas DDT, malation, fenitrothion, propoxur, λ -cialotrina, ciflutrina, cipermetrina, deltametrina, permetrina y etofenoprox; mientras que la presencia de resistencia metabólica fue medida utilizando ensayos enzimáticos de esterasas, GST y MFO's.

Todas las especies anofelinas presentaron alta resistencia a DDT; todas las poblaciones de *An. culicifacies* y *An. subpictus* fueron resistentes a malation, excepto *An. culicifacies* proveniente de Kurunegala, donde no hubo actividad carboxilesterasa. Todas las poblaciones de *An. culicifacies* fueron susceptibles a carbamatos, mientras que solo las de Kurunegala y Puttalam fueron susceptibles a fenitrothion. Ambas especies antes mencionadas fueron susceptibles a dosis diagnóstico de cipermetrina (0.1%) y ciflutrina (0.15%), sin embargo presentaron diferentes niveles de resistencia a los otros piretroides. De los otros 8 anofelinos estudiados, solo *An. Nigerrimus* y *An.*

peditaeniatus fueron resistentes a todos los insecticidas probados, *An. vagus* también mostró algo de resistencia a permetrina. En *An. culicifacies* y *An. subpictus* las enzimas esterasas, GST y monooxigenasas fueron elevadas. De este modo, la diversidad genómica, resistencia y capacidad vectorial han impuesto severas amenazas a los problemas de control para vectores de malaria.

Strong *et al.* (2008) monitorearon la actividad de enzimas metabólicas y resistencia a permetrina, en mosquitos *Culex tarsalis* colectados en el noreste de Colorado, E.U.A. durante el 2005 y 2006, comparando los resultados con una cepa de laboratorio (Bakersfield, CA). Los mosquitos colectados en el 2005 fueron más resistentes a permetrina, a los colectados en el 2006 y cepa de referencia. En el caso de las enzimas evaluadas, los valores de GST obtenidos en mosquitos colectados en el 2005 fueron 9-12 X mayor a la cepa de referencia así como a los mosquitos colectados en el 2006, asimismo la actividad en MFO fue mayor; por lo tanto ambos mecanismos enzimáticos juegan un papel importante en la resistencia a permetrina o pueden reflejar la exposición no dirigida hacia otros insecticidas en el noreste de Colorado.

En un estudio realizado en Moshi, al norte de Tanzania, se evaluaron pabellones tratados con permetrina, deltametrina y α -cipermetrina a la dosis de 25 mg/m², esto en cabañas experimentales en un área de irrigación de arroz. Los resultados revelaron que los pabellones tratados con permetrina, ofrecen la mayor protección personal contra *An. arabiensis* (reducción de alimentación del 61.6%) y *Culex quinquefasciatus* (25.0%), deltametrina y α -cipermetrina proveyeron una protección personal baja frente *An. arabiensis* (46.4% y 45.6%, respectivamente) y no mucha frente a *Cx. quinquefasciatus*.

El piretroide permetrina, tuvo un papel pobre respecto a la mortalidad, aniquilando solo el 15.2% de *An. arabiensis* y 9.2% de *Cx. quinquefasciatus* expuestos a los pabellones tratados, por su parte α -cipermetrina y deltametrina demostraron mayor mortalidad, con 32.8% y 33.0% para *An. arabiensis*, y 19.4% y 18.9% para *Cx. quinquefasciatus* respectivamente. El pobre desempeño de la permetrina con respecto a la mortalidad fue comprobado en un segundo experimento utilizando un pabellón comercial (Olyset) con base en este piretroide, produciendo baja mortalidad tanto el *An. arabiensis* (11.8%) como en *Cx. quinquefasciatus* (3.6%); de las verandas en las cabañas experimentales, fueron colectados *An. arabiensis*, los cuales se expusieron a papeles

impregnados con permetrina (0.75%) y deltametrina (0.05%), según los kits de la WHO, mostrando mortalidades del 96% y 100% respectivamente. Con lo cual se recomienda el uso de pabellones tratados con permetrina para protección personal contra *An. arabiensis*, así como la combinación de un piretroide y otro insecticida (Mosha *et al.*, 2008).

Recientemente, Hogsette *et al.* (2008), diseñaron una herramienta para el manejo de la mosca del establo (*Stomoxys calcitrans*) en Geinesville, Florida, E.U.A. Debido a las dificultades asociadas a al manejo de la mosca del establo bajo condiciones de pastizal, una tela impregnada con insecticida fue desarrollada como herramienta de control. Se condujeron estudios para determinar la influencia del clima, tiempo, tipo de tejido, tipo y concentración de insecticida sobre una cepa susceptible de laboratorio de *S. calcitrans* expuesta por 30 s al tejido tratado (65% poliéster / 35% algodón). Se encontró que el 100% de las moscas expuestas al tejido impregnado con 0.1% de h-cialotrina y z-cipermetrina, mantenido en las afueras de Gainsville por arriba de tres meses, se encontraron muertas dentro de 20 minutos (previa exposición por 30 s). Los resultados de este estudio concuerdan con el desarrollo de objetivos impregnados para la integración en los programas de control de la mosca del establo.

4.5.3 Resistencia “kdr” en el mosquito *Ae. aegypti*

El rápido efecto de derribe que caracteriza a los insecticidas DDT y piretroides, es ocasionado por la activación persistente de los canales de sodio. Esta activación se debe a la forma en que los insecticidas se unen al poro del canal, prolongando el mecanismo de inactivación dependiente de voltaje. La reducción en la sensibilidad del canal de sodio dependiente de voltaje a la unión de los insecticidas es la causa del fenotipo resistente conocido como “kdr” presente en varias especies de insectos.

Debido a que el canal de sodio es el sitio blanco del DDT y piretroides, muchos estudios en la década de los 80 y 90s se enfocaron en esta proteína. El canal de sodio dependiente de voltaje de los insectos, es una proteína transmembranal que contiene alrededor de 2108 aminoácidos plegados en cuatro dominios homólogos e hidrofóbicos (dominio I, II, III y IV), separados por uniones hidrofílicas. Cada dominio se compone de seis segmentos transmembranales (s1-s6).

Diversas especies de insectos resistentes al DDT y piretroides presentan alteraciones en el gen del canal de sodio. La asociación entre la resistencia al derribo con modificaciones en el canal de sodio fue confirmada mediante estudios de unión de neurotoxinas (Bloomquist y Miller, 1986) y mediante estudios de mapeo genético. En estos últimos, se identificó una sola mutación en el dominio II segmento transmembranal 6 (DIIS6), asociada con la este tipo de resistencia en *Musca domestica* (Williamson *et al.*, 1993).

La resistencia por insensibilidad del sitio blanco se debe a mutaciones sencillas no silenciosas en genes estructurales. Para que ocurra la selección de mutaciones, el aminoácido resultante debe reducir la unión del insecticida, sin causar una pérdida de la función primaria del sitio blanco. Por lo tanto, el número de sustituciones probables de aminoácidos resulta muy limitada y comúnmente pueden encontrarse las mismas mutaciones asociadas a la resistencia en taxas muy divergentes. El grado en que se afecta la función debida a la mutación resistente, puede reflejarse en la viabilidad de los individuos resistentes en la ausencia de selección. Este costo en la viabilidad tiene importantes implicaciones en la persistencia de la resistencia en el campo.

Los genes de los principales sitio blancos: canales de sodio (*para*), receptores del ácido amino-butírico (GABA) y acetilcolinesterasa (AchE), han sido clonados y sus secuencias han sido comparadas entre insectos resistentes y susceptibles. Algunas mutaciones han sido asociadas con resistencia a insecticidas, aunque en muchos casos no se ha elucidado el mecanismo de resistencia a nivel molecular.

La resistencia tipo *kdr* (por sus siglas en inglés: knockdown resistance) es un mecanismo de resistencia seleccionado por insecticidas piretroides y DDT. Actualmente su principal forma de detección es mediante bioensayos, donde los insectos son expuestos a DDT o piretroides en conjunto con inhibidores de enzimas, tales como PBO y DEF, para descartar resistencia por mecanismos enzimáticos.

El primer reporte de resistencia tipo *kdr* en *Ae. aegypti*, ocurrió en Tailandia (1975) después de la falla en una campaña de control utilizando bioresmetrina. Los estudios genéticos de una cepa seleccionada de esta población, demostró la presencia de un solo factor de resistencia a piretroides (Rpy) presente en el cromosoma III. Este factor fue incompletamente dominante en herencia (Soderlund y Bloomquist, 1990).

Este mecanismo de resistencia ha sido reportado en diversas poblaciones del mosquito transmisor del dengue *Ae. aegypti* hacia una variedad de insecticidas piretroides. Un estudio identificó siete mutaciones en el dominio II, segmento transmembranal S6 del canal de sodio en cepas de *Ae. aegypti* resistentes a permetrina. Ninguna de estas mutaciones corresponde al residuo 1014 presente en otros dípteros, sin embargo, en cercana proximidad a esta región. Una de éstas mutaciones ocurre la primera posición del codón *Iso1011*, donde un cambio de adenina a guanina (A→G) ocasiona una substitución del aminoácido de isoleucina por metionina (*Met*), esta mutación fue encontrada en cepas resistentes a permetrina de Sud-América (Bregues *et al.*, 2003).

Una segunda mutación asociado a la resistencia *kdr* en mosquitos de Tailandia fue identificada en el aminoácido *Val1016*, donde una substitución de nucleótidos de timina a guanina (T→G) en la segunda posición del codón, ocasiona un cambio de aminoácido de valina (silvestre) a glicina. (Bregues *et al.*, 2003; Prapanthadara *et al.*, 2002).

En México, una tercera mutación asociada a la resistencia *kdr* fue encontrada en mosquitos de Islas Mujeres, Quintana Roo. Esta mutación ocurre en el residuo *Val1,016*, donde una substitución de nucleótidos en la primera posición del codón de guanina a adenina (G=>A) ocasiona un cambio de aminoácido de valina (GTA) a isoleucina (ATA). Esta es la única mutación cuya asociación con la resistencia a permetrina ha sido estudiada (Saavedra-Rodriguez, 2007).

Así mismo Saavedra *et al.* (2007) describe una prueba diagnóstico molecular basada en PCR que permite detectar la frecuencia alélica de la mutación *Iso1, 016* a partir de DNA genómico. La prueba consiste en una reacción de PCR que utiliza cebadores que se unen específicamente al alelo silvestre G (guanina que codifica a la valina GTA) y/o al alelo mutante A (adenina que codifica a la isoleucina ATA) en la primera posición del codón 1,016.

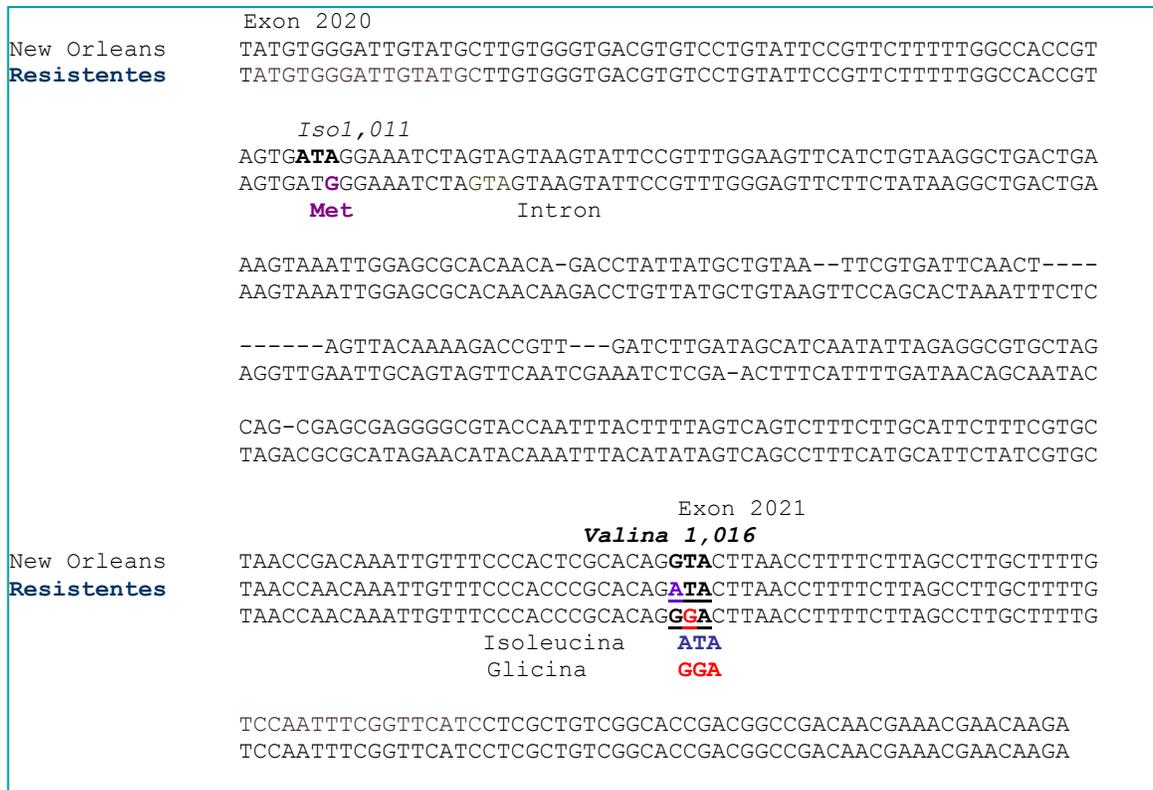


Fig. 5. Mutaciones asociadas a “kdr” en varias poblaciones de *Ae. aegypti*

La prueba permite detectar a individuos susceptibles con genotipo homocigoto G/G, individuos con genotipo resistente A/A e individuos heterocigotos con genotipo A/G. La figura 6 muestra la secuencia de los iniciadores. Los productos de PCR son detectados realizando electroforesis en un gel de agarosa al 4%.



Fig. 6. Iniciadores específicos para alelos A o G en el codon 1,016 del gen del canal de sodio, asociados con la resistencia DKr en el mosquito *Aedes aegypti*.

5. METODO

5.1 Área de estudio

El área de estudio comprende el estado de Veracruz, enfocándose en las subpoblaciones de Pánuco, Tantoyuca, Poza Rica, Martínez de la Torre, Veracruz, Cosoleacaque y Coatzacoalcos (figura 7).



Fig. 7 Estado de Veracruz, área de estudio

Pánuco: Se encuentra ubicado en la zona norte del Estado, en las coordenadas $22^{\circ} 03''$ latitud norte y $98^{\circ} 11''$ longitud oeste, a una altura de 10 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con el Estado de Tamaulipas, al este con Pueblo Viejo, Tampico Alto y Ozuluama; al suroeste con Tempoal; al oeste con el Estado de San Luis Potosí y representa un 4.50% del total del estado. Su clima es cálido-extremoso con una temperatura promedio de 24°C ; su precipitación pluvial media anual es de 1.079.3 mm.

Tantoyuca: Se encuentra ubicado en la zona montañosa de la Huasteca Veracruzana del estado, en las coordenadas 21° 21' latitud norte y 98° 14' longitud oeste a una altura de 140 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Tempoal y Ozuluama, al este con Chontla e Ixcatepec, al Sureste con Chicontepec, al sur con el Estado de Hidalgo, al oeste con Platón Sánchez y representa el 1.66% del total del estado. Su clima es cálido-extremoso con una temperatura promedio anual de 23°C; su precipitación pluvial media anual es de 1,000 a 1,500 mm

Martínez de la Torre: Se encuentra ubicado en la zona norte del estado, en las coordenadas 20° 04' de latitud norte y 97° 04' de longitud oeste, a una altura de 151 metros sobre el nivel del mar. Limita al Norte con Tecolutla, al Este con Nautla y Misantla, al Sur con Atzalan y Tlapacoyan, al Oeste con el Estado de Puebla y Papantla y representa el 1.12% del total del estado. Su clima es cálido-húmedo-regular con una temperatura promedio de 23.7° C.; su precipitación pluvial media anual es de 1,293.6 milímetros.

Poza Rica: Se encuentra ubicado en la zona centro del estado, en las coordenadas 20° 32'' latitud norte y 97° 27'' longitud oeste, a una altura 50 metros sobre el nivel del mar. Limita al noroeste y este con Papantla; al sur con Coatzintla; al noroeste con Tihuatlán y representa el 0.32% del total del estado. Su clima es cálido con una temperatura promedio de 24.4° C; su precipitación pluvial media anual es de 1,010 mm.

Veracruz: Se encuentra ubicado en la zona centro del estado, en las estribaciones en las coordenadas 19° 12' latitud norte y 96° 08' longitud oeste a una altura de 10 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con La Antigua, al este con el Golfo de México y al sur con Manlio Fabio Altamirano y representa el 0.33% del total del estado. Su clima es tropical, con una temperatura media anual de 25.3°C; su precipitación pluvial media anual es de 1,500 mm (INAFED, 2005).

Cosoleacaque: Se localiza al sur del estado de Veracruz, en las coordenadas 17° 59' 37'' 6 de latitud norte y 94° 38' 27'' 5 de longitud oeste, a una altura de 50 metros sobre el nivel del mar. Ubicado al norte Pajapan, al sur con Minatitlán, al este con Ixhuatlán y al oeste con Chinameca. El clima cálido-húmedo, temperatura media anual es de 27°C; con lluvias la mayor parte del año; su precipitación media anual es de 2,900 milímetros. (INAFED, 2005)0

Coatzacoalcos: Se localiza en la zona sur del Estado, en las coordenadas 18° 09' latitud norte y 94° 26' longitud oeste, a una altura de 10 metros sobre el nivel del mar. Limita con los municipios de Pajapan, Cosoleacaque, Minatitlán, Ixhuatlán del Sureste, Moloacan y las Choapas, al norte con el Golfo de México, al este con el estado de Tabasco y representa el 1.00% del total del estado. Su clima es cálido-regular con una temperatura promedio de 25.6 °C; su precipitación pluvial media anual es de 1 mil 800 mm.

5.2 Material biológico

5.2.1 Colecta y establecimiento de las colonias en el laboratorio.

Los mosquitos de *Ae. aegypti* que se utilizaron en el presente trabajo fueron colectados en las diferentes localidades del estado de Veracruz (tabla 1).

Tabla 1. Coordenadas de ubicación del sitio donde se realizó la colecta del material biológico en las diferentes localidades.

LOCALIDAD	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altura sobre el nivel el mar
Pánuco	22° 41' 10" 7	98° 30' 8"	10.0 mts
Tantoyuca	21° 20' 24" 2	98° 13' 16" 9	140.0 mts
Poza Rica	20° 30' 42" 8	97° 27' 58" 1	46.3 mts
Martínez de la Torre	20° 04' 38" 2	97° 02' 09" 5	151.0 mts
Veracruz	19° 09' 54" 3	96° 12' 58" 5	1.0 mts
Coatzacoalcos	18° 08' 33" 3	94° 25' 25" 0	50.0 mts
Cosoleacaque	17° 59' 37" 6	94° 38' 27" 5	50.0 mts

El muestreo se realizó dirigido para la colecta de la fase larvaria del mosquito, las cuales se obtuvieron en criaderos conocidos donde el vector se reproduce (agua limpia estancada) mediante el uso de coladores estándares. El material colectado fue transportado en bolsas Whirl-Pak Nasco dentro de termos conteniendo agua para minimizar el estrés. Posteriormente el material fue llevado al insectario del laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas "Unidad B", UANL, para su mantenimiento y reproducción.

Las larvas fueron distribuidas en charolas de plástico de 35 x 25 cm conteniendo agua declorada. Cada charola fue identificada cuidadosamente con el nombre de la localidad donde se colectaron. Las larvas fueron alimentadas periódicamente con alimento balanceado para pez (en hojuela) finamente molido y en con una solución de hígado en polvo al 50% en base de agua. Una vez que las larvas pasaron al estadio de pupa, estas se transfirieron a cámaras de emergencia, al emerger los mosquitos se trasladaron a jaulas de cría de 30 x 30 cm.

Los mosquitos adultos se alimentaron con agua azucarada al 10% sobre algodones impregnados y con néctar de naranja (como fuente de carbohidratos). Las hembras fueron alimentadas con sangre de rata para la producción de huevos. Las colonias se mantuvieron en condiciones de temperatura y humedad controladas: 24 +/- 2°C y 70% HR.

Dentro de las jaulas se colocaron vasos de agua conteniendo papeletas como sustrato de ovoposición para la obtención de huevecillos, las cuales se dejaron de 3-5 días para que los huevos embrionaran. Al extraer las papeletas (con huevos) están se dejaron secar sobre charolas para su posterior almacenamiento, y se colocaron nuevas papeletas para la obtención de más huevecillos.

Los huevos contenidos en las papeletas se pusieron a eclosionar para la obtención de larvas y adultos, continuando el ciclo hasta obtener la generación de mosquitos adultos con la que se deseo trabajar.

5.3 Bioensayos de susceptibilidad

La susceptibilidad de las poblaciones de *Ae. aegypti* se determino mediante el método de “Botella impregnada” (método CDC) (Brogdon y McAllister 1989) ante diferentes dosis de los insecticidas calidad reactivo (ChemService) (tabla 2).

Las dosis empleadas para cada insecticida variaron según la respuesta obtenida en los mosquitos de cada una de las sub-poblaciones.

5.3.1.- Preparación de soluciones stock

Los insecticidas empleados en este estudio fueron fenotrina, permetrina, deltametrina, cipermetrina, α -cipermetrina, z-cipermetrina, λ -cialotrina y bifentrina (Chem Service, Inc.), en calidad de reactivo (grado técnico).

Tabla 2 . Insecticidas empleados para la determinación de susceptibilidad.

<i>Nombre común</i>	<i>Nombre químico</i>	<i>Cantidad</i>	<i>Pureza</i>
fenotrina	d(cis-trans)-Phenotrin	50	6% cis-1R 9% trans-1R
permetrina	transpermethin (mezcla isomérica)	50	92% tran 6% cis
deltametrina	(RS)-alfa-ciano-fenoxibencil-(1RS,3RS;1SR,3SR)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato	100	99%
cipermetrina	(RS)-alfa-ciano-3-fenoxibencil-(1R,3R)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato	100	99%
α -cipermetrina	(s) lafa-ciano-3-fenoxibencil-(1R,3R)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato (R)-alfa-ciano--3-fenoxibencil(1S,3S)-3-(2,2-dimetilciclopropanocarboxilato)	250	99.50%
z-cipermetrina	(S) lafa-ciano-3-fenoxibencil-(1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato	250	98%
λ -cialotrina	(Z-2 cis y 2S cis R) del α -ciano-3fenoxibencil-cis-3(Z-2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato		95%
bifentrina	2-metilbifenil-3ilmetil(Z)(1RS,3RS)-3-(2-cloro-3,3,3 trifluoropro-1-enil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato		97%

* A cada I.A se le agrego 1ml de acetona

Se llevaron a cabo diluciones a partir del insecticida en calidad de reactivo, utilizando acetona como diluyente; siguiendo la formula $C_1 V_1 = C_2 V_2$ se prepararon concentraciones que al ser usadas en los bioensayos generaran el rango de mortalidad esperado en los mosquitos (Tabla 2). Las diferentes concentraciones en solución stock fueron elaboradas para cada insecticida, variando desde 0.01 ppm hasta 100 ppm, esto en tubos Falcon de 15 mL debidamente etiquetados y resguardándolos de la luz con papel aluminio. Una vez preparadas estas se almacenaron en refrigeración.

Tabla. 3 Ejemplo de preparación de solución stock a partir de cipermetrina (grado técnico).

Concentración (grado técnico)	Volumen de insecticida añadido a stock	Volumen de acetona en stock	Concentración deseada (5 mL) en solución stock
100,000 ppm	5 µL	4,995 µL	100 ppm

5.3.2.- Preparación de la botella

Se utilizaron botellas de vidrio Wheaton de boca angosta (3 cm) y 250 mL de capacidad, con tapón de rosca; estas estuvieron limpias y secas antes de usar, así como el respectivo tapón.

Como paso inicial al método es importante la preparación de las botellas. Para ello se utilizaron botellas “Wheaton” de 250 ml, stocks de los insecticidas (de 1000, 100 y 10 ppm) y acetona (como solución acarreadora), así como micropipetas de 1000, 200 y 10 µL.

Es importante mencionar que las botellas deben de estar limpias y bien secas, en caso que sean nuevas solo se limpian con poca acetona haciendo que esta toque toda la superficie interna y posteriormente se desecha el sobrante, en caso de ser usadas, estas debieron haber pasado por un proceso de lavado riguroso.

Las soluciones stock se prepararon diluyendo la cantidad apropiada del insecticida en un volumen de acetona, dependiendo el volumen final requerido, utilizando la formula de $C_1V_1= C_2V_2$. Una vez elaboradas estas se etiquetan correctamente y se almacenan en refrigeración en botes ámbar o cubiertos con aluminio (debido a su foto estabilidad).

Una vez que se cuenta con el material indispensable se procede a impregnar las botellas. Primero se agrega 1 ml de acetona a la botella, inmediatamente después se vierte el volumen de la solución stock que nos dará la concentración en µg/botella que se desea (tabla 4), se coloca la tapa y se enrosca para que este bien cerrada, se agita la mezcla suavemente y se hace pasar por toda la superficie interna de la botella (base, paredes y tapa), para ello se puede rotar sobre sus costados, invertirla, etc. una vez que la botella ha quedado impregnada con la mezcla, se retiró la tapa y se continuó rotando hasta que se observó poco líquido y se dejó evaporar el solvente restante 24 hrs a

temperatura ambiente con la botella destapada en un lugar resguardado de la luz. Las botellas se utilizaron de 24 a 48 hrs después de su impregnación.

En los bioensayos es importante llevar un control, en este caso los controles fueron impregnados solo con un mL de acetona.

Tabla. 4. Ejemplo sobre cómo realizar la selección de volumen del stock para impregnar las botellas.

<i>Concentración de la Solución stock</i>	<i>Cantidad de stock adicionada a la botella *</i>	<i>Concentración final por botella</i>
1000 ppm ^a	1 µg	1 µg
100 ppm	10 µg	1 µg
10 ppm	100 µg	1 µg

*Más el ml de acetona, ^a 1ppm = 1 µg/mL

Contando con el material preparado y los mosquitos se procede al bioensayo. Para ello se utilizaron mosquitos hembra F1 y F2 de cada una de las sub-poblaciones. Se colectaron en un tubo o aspirador bucal de 15 a 20 mosquitos adultos de 1-3 días de edad, alimentados sin ingesta de sangre y se transfirieron a las botellas impregnadas. Se tapó rápidamente la botella para impedir el escape de los mosquitos y se examinaron para verificar si están en perfecto estado de supervivencia.

Una vez que los mosquitos fueron expuestos a la dosis de insecticida empezó el conteo, y se hicieron observaciones cada 10 minutos, así hasta completar 1 hora. Cada 10 min se hace un registro sobre la cantidad de mosquitos volteados o muertos, teniendo el dato a los 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min. Ya que se completa la hora de exposición los mosquitos (volteados o no) son transferidos a cámaras de recuperación. Estas cámaras no son más que vasos desechables con una tapa de gasa, a los cuales se les colocó en la parte superior un algodón humedecido con agua azucarada al 10% para su alimentación.

El tiempo de recuperación que se empleo fue de 24 hrs, cumplidas estas se registró ahora la cantidad de mosquitos tanto vivos como muertos, y en casos de que hubiera recuperados al efecto del insecticida, también se registró. A la hora solo se hace anotación de la cantidad de mosquitos volteados o derribados (efecto knockdown de los piretroides), y a las 24 hrs aquellos que estén muertos o vivos, sin embargo puede darse

el caso de que algunos mosquitos puedan haberse recuperado en el transcurso de las 24 hrs. Con estos datos se determinó el porcentaje de mortalidad tanto a la hora como a las 24 hrs, buscándose porcentajes entre el 8% al 90 % de mortalidad. Todos los bioensayos fueron realizados por triplicado para cada dosis de insecticida. Se incluyó un testigo solo con acetona.

Las pruebas de susceptibilidad se llevaron a cabo tanto para las sub-poblaciones de mosquitos seleccionadas al igual que la cepa susceptible New Orleans.

5.4 Detección de la frecuencia alélica de la mutación *Ile1,016*.

5.4.1 Extracción de ADN y PCR

El ADN fue obtenido de cada mosquito mediante la técnica de extracción de sales (Black and DuTeau 1997), suspendido en 50 µl (Tris-HCl 10 mM , EDTA 1mM pH 8.0) y almacenado a -70 °C. Para la amplificación de los alelos *Val1,016* e *Ile1,016* se realizó un Master mix con Buffer 10x, Agua destilada ultrapurificada, dNTP's, oligonucleótidos (V1016fGCGGGCAGGGCGGGCGGGGGCGGGGC CACAAATTGTTTCCCGCACCCGG,I1016fGCGGGCACAATTGTTTCCACCCGC ACTGA, I1016r TGATGAACCSGAATT GGACAAAAGC), así como Taq polimerasa y 3 µl de ADN, después se colocaron en un termociclador icycler BIO_RAD ® programado a 4 ciclos: 1er ciclo: 95 °C - 5 min, 2do Ciclo: 95°C – 1min, 60°C – 1min, 72 °C 1.15 min 29x, 3er 3er Ciclo: 72°C – 10min, 4to Ciclo – 4°C 24 horas.

5.4.2 Frecuencia del alelo *Ile1,016*

Las frecuencias genotípicas fueron calculadas en cada sub-población como numero de homocigotos entre el total de mosquitos y el número de heterocigotos entre total de mosquitos de cada sub-población, las frecuencias de *Ile1,016* se calcularon como la frecuencia de homocigotos *Ile1,016* mas los heterocigotos entre dos.

5.5. Análisis de Resultados

5.5.1. Dosis, tiempo-mortalidad

Una vez obtenido un rango de efecto de derribo así como de mortalidad entre a las 24h entre 0 a 99%, los resultados se analizaron por medio del log-probit software

(Raymond et al. 1993), basado en (Finney 1971). Se utilizó la fórmula de corrección de mortalidad de Abbott (1925) en caso de haber efecto de derribo y mortalidad en el testigo para cada insecticida probado. Se determinó DK_{50} (dosis knockdown o de derribo) a la hora de exposición, DL_{50} (dosis letal), datos de mortalidad obtenidos después de 1h de exposición y 24 h posteriores a la recuperación de los mosquitos. Se calculó el factor de resistencia a 1h de exposición (RR_{DK50}), dividiendo DK_{50} de la población prueba y DK_{50} de la sub-población de referencia New Orleans, de igual manera se obtuvo el factor de resistencia RR_{DL50} dividiendo DL_{50} de la población y DL_{50} de la sub-población de referencia. Se utilizó el criterio propuesto por Mazzarri y Georghiou (1995) para clasificar RRs en alta ($> 10X$), media (entre 5- and $10X$) y baja ($< 5X$).

Con los datos obtenidos también se determinó el TKD_{50} y TL_{50} (tiempo knockdown y tiempo letal medio) para cada una de las sub-poblaciones a cada insecticida probado.

5.5.2 Análisis resistencia

Se llevó a cabo un análisis de regresión lineal entre el FR_{DL50} vs FR_{DK50} para cada insecticida en las siete cepas. El coeficiente de determinación R^2 se estimó para poner a prueba la fortaleza de la correlación. La pendiente es la relación entre el cambio en la DL_{50} en relación con el cambio en DK_{50} e indica la cantidad de plaguicidas que se requiere para causar letalidad vs derribo. Una pendiente ~ 1 sugiere $FR_{DL50} = FR_{DK50}$ o que los mosquitos derribados estarán muertos 24 horas después. Una pendiente > 1 sugiere $RR_{DL50} > RR_{DK50}$ o que se produce recuperación y que se necesitará más insecticida para matar a los mosquitos derribados.

Se realizó análisis de conglomerados y de componentes principales, estas son técnicas estadísticas multivariantes para resumir las relaciones entre las poblaciones en las que se miden muchas variables cuantitativas (por ejemplo, DL_{50} de ocho piretroides). Todos los 56 valores de la DL_{50} se introdujeron en una matriz de 7 x 8. La correlación de Pearson (ρ) entre los valores de la DL_{50} para cada plaguicida se calculó entre cada par de poblaciones para generar una matriz simétrica de correlación de 8 x 8. Para el análisis de conglomerados, una segunda matriz de $(1 - \rho)$ valores se calculó y fue sujeto a

UPGMA (no ponderada Grupo Par Método con media aritmética - Sneath y Sokal, (1963) mediante análisis de conglomerados vecino en PHYLIP3.6.7 (Felsenstein, 2005) para generar un dendrograma, que indica similitud entre los ocho piretroide.

Análisis de componentes principales se calculó como una combinación lineal de valores de DL_{50} , multiplicado por el vector propio. Hubo 7 componentes principales diferentes. La suma de los productos de los vectores propios y los valores de CL_{50} para cada componente principal es el valor propio. El valor propio es proporcional a la magnitud de la correlación general de los valores de DL_{50} entre las 7 sub-poblaciones. Si los valores de DL_{50} para los ocho plaguicidas covarían entre las poblaciones, el valor propio será grande, pero si los valores de DL_{50} varían independientemente entre las poblaciones, el valor propio será pequeño. El componente principal con el mayor vector propio se define como el primer componente principal, mientras que el de componentes principales con el vector propio más grande se define como el segundo componente principal. Los componentes primero y segundo deben explicar la mayor parte de la covarianza entre las poblaciones. El análisis biplot de los dos primeros componentes principales son útiles para resumir las relaciones entre las poblaciones, especialmente cuando representan más del 70% de la covarianza entre los valores de la DL_{50} . Este es una faceta de componentes principales (Gabriel, 1971) que requiere un poco de computo adicional e identifica la magnitud de varianzas y covarianzas entre los distintos plaguicidas. El análisis de componentes principales y el análisis biplot se realizaron en la versión R 2.11.1 (<http://www.r-project.org/>) con el biplot pcomp.

5.5.3. Análisis frecuencia mutación “kdr” *Ile1,016*

Las frecuencias de *Ile1,016* (\hat{p}), fueron calculadas en cada colección como dos veces el número de homocigotos Iso 1,016 más el número de heterocigotos *Ile 1,016* y divididos entre dos veces el número de mosquitos analizados. El coeficiente endogámico de Wright's F_{IS} (1921),

$$F_{IS} = 1 - (H_{obs}/H_{exp})$$

donde : H_{obs} es el número de heterocigotos observados y H_{exp} es igual a $= 2\hat{p}(1 - \hat{p})$ número de heterocigotos esperados asumiendo que la proporciones Hardy-Weinberg, la hipótesis nula $F_{IS}=0$ fue probada usando la fórmula : Black y Krafur (1985).

$$\chi^2_{[1 \text{ d.f.}]} = n (H_{\text{exp}} - H_{\text{obs}})^2 / (\hat{p}^2 + (1 - \hat{p})^2 + (\hat{p}^2 + (1 - \hat{p})^2)^2 - 2(\hat{p}^3 + (1 - \hat{p})^3)).$$

El intervalo de confianza 95% alrededor de \hat{p} , fue calculado como el intervalo Wald:

$$\hat{p} \pm z_{\alpha/2} \sqrt{\hat{p}(1 - \hat{p})/n}$$

El cual fue ajustado por adición de la mitad del cuadrado del valor crítico Z (1.96), para el numerador y el cuadrado entero del valor crítico en el denominador antes calculando el intervalo (Agresti y Coull, 1998).

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 Susceptibilidad a fenotrina

6.1.1 DK₅₀ para fenotrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades.

Para el presente estudio, el insecticida piretroide fenotrina fue evaluado en las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* antes mencionadas, logrando así detectar la dosis dock-down 50 (DK₅₀) para cada una de ellas.

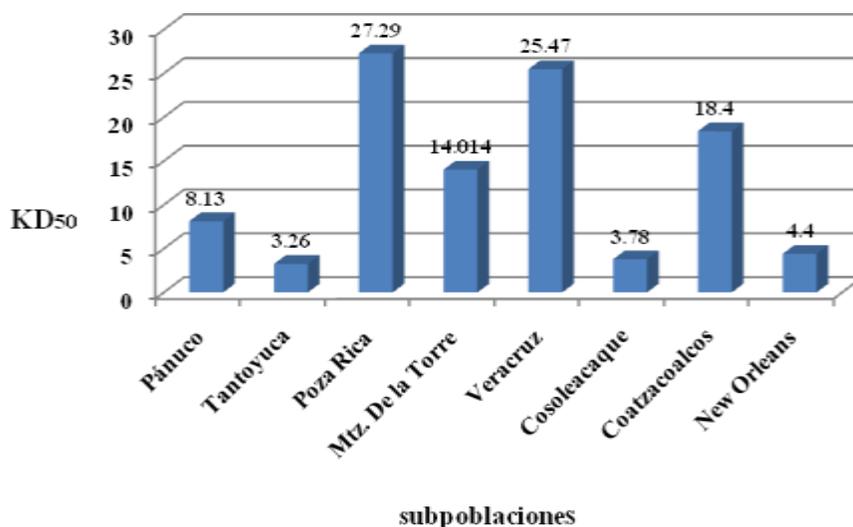
Para fenotrina se utilizaron concentraciones altas, llegándose a utilizar una dosis de 80 µg/botella en la subpoblación de Veracruz para obtener el 98 % de mortalidad, mientras que para la subpoblación de Cosoleacaque se empleo como dosis más alta 40 µg/botella, obteniendo el mismo porcentaje. Para el resto de las subpoblaciones; Tantoyuca, Coatzacoalcos, Martínez de la Torre, Pánuco y Poza Rica la dosis más alta fue de 60 µg/botella, obteniendo porcentajes de mortalidad de 98%, 96%, 93% y 95% respectivamente. La dosis más pequeña utilizada para fenotrina fue de 0.1 µg/botella en la subpoblación de Tantoyuca y Cosoleacaque obteniendo el 6.6 % de mortalidad en cada una.

Tabla 5. Toxicidad con base en DK₅₀ en µg/botella de fenotrina sobre adultos de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

SUB-POBLACIÓN	DK ₅₀	(LC95%)
Pánuco	2.28 ^c	1.71-2.96
Tantoyuca	1.48 ^d	1.27 – 1.70
Poza Rica	8.29 ^a	7.15 – 9.57
Martínez de la Torre	5.59 ^b	4.61 – 6.58
Veracruz	2.66 ^c	2.23 – 3.14
Cosoleacaque	0.68 ^e	0.57 – 0.80
Coatzacoalcos	2.94 ^c	2.48 – 3.45
New Orleans	0.45 ^f	0.37 – 0.51

¹DK : Dosis Knockdown 50 obtenida a una hora de exposición al insecticida , diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades mostraron tener diferente susceptibilidad a fenotrina (con base base en su DK_{50}): de la que se mostró más susceptible a la menos susceptible : Tantoyuca > Cosoleacaque > Pánuco > Martínez de la Torre > Coatzacoalcos > Veracruz > Poza Rica (tabla 5 y figura 8).



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

Fig. 8. Dosis Know-down media (DK_{50}), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a fenotrina.

Aun cuando las subpoblaciones más susceptibles fueron Tantoyuca y Cosoleacaque obteniendo valores de DK_{50} de 3.26 y 3.78 respectivamente, no muestran diferencia significativa entre ellas, pero si para el resto de las subpoblaciones. Tal es el caso de las subpoblaciones de Poza Rica y Veracruz que se mostraron menos susceptibles al insecticida, entre ellas tampoco hubo diferencia significativa, igual sucede con las subpoblaciones de Martínez de la Torre y Coatzacoalcos; no siendo así para Pánuco.

Si comparamos la susceptibilidad de la subpoblación de Poza Rica que presento la DK_{50} más alta, con Tantoyuca, Poza Rica es 8.37 veces más resistente que esta. Es importante mencionar que todas las subpoblaciones mostraron diferencia significativa con la cepa de referencia New Orleans.

Para un mismo insecticida las subpoblaciones de *Ae. aegypti* presentaron susceptibilidades diferentes, en el caso de Tantoyuca y Cosoleacaque, existe el patrón de que ambas localidades están ubicadas en los extremos norte y sur del estado respectivamente, en el caso de Veracruz y Poza Rica que no presentan diferencia significativa en su susceptibilidad a fenotrina, puede deberse a que están cerca del mar o a su altura (46.3 y 1 msnm, respectivamente) sin embargo Coatzacoalcos esta cerca del mar y tiene una altura de 50 msnm, Cosoleacaque también tiene la misma altura y sin embargo ambas subpoblaciones presentan diferencia significativa a la susceptibilidad que presentan Veracruz y Poza Rica.

6.1.2 DL_{50} y DL_{95} para fenotrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades.

La DK_{50} se obtiene a la hora de exposición del mosquito al insecticida, la DL_{50} y DL_{95} se obtiene después de 24 horas de haber sido expuestas las subpoblaciones, es por ello que puede existir cierto porcentaje de mosquitos que se recuperaron en este lapso de tiempo, o viceversa, que más mosquitos hayan muerto, es por eso que los resultados entre estas (DK_{50} y DL_{50}) puede variar.

Sin embargo para fenotrina todas las subpoblaciones incrementaron su porcentaje de mortalidad entre un 1.6% hasta un 5%, solo Tantoyuca conservo su porcentaje y Veracruz lo incremento hasta obtener el 100% (esto con base en la dosis más alta empleada).

Tabla 6. Toxicidad con base en DL₅₀¹ y DL₉₅ en µg/botella de fenotrina sobre adultos de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

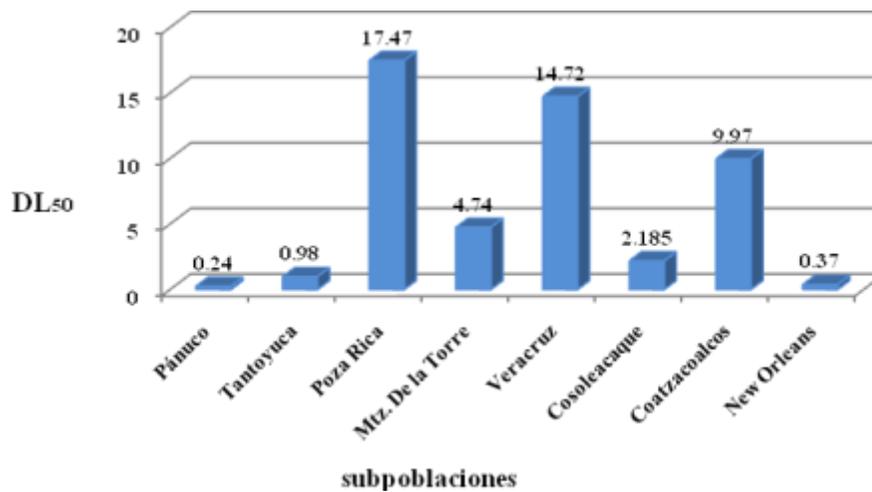
SUBPOBLACION	DL ₅₀	(LC95%)	DL ₉₅	(LC95%)
Pánuco	0.62 ^d	0.43 - 0.83	27.73 ^a	15.30 - 59.33
Tantoyuca	1.24 ^c	1.05 - 1.44	11.11 ^c	8.41 - 16.02
Poza Rica*	7.31 ^a	4.78 - 10.71	44.17 ^a	24.50 - 163.65
Martínez de la Torre	4.84 ^a	3.94 - 5.74	26.62 ^{ab}	19.67 - 42.24
Veracruz	2.41 ^b	2.03 - 2.83	15.95 ^{bc}	12.08 - 23.06
Cosoleacaque	0.43 ^d	0.35 - 0.51	3.76 ^d	2.72 - 5.90
Coatzacoalcos	1.96 ^b	1.64 - 2.30	10.46 ^c	8.10 - 14.67
New Orleans	0.22 ^e	0.15 - 0.27	1.91 ^d	1.34 - 3.34

¹DL : Dosis letal 50 obtenida a 24 hrs después de la exposición al insecticida , diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Aun cuando los porcentajes de mortalidad han cambiado a las 24 hrs, las subpoblaciones siguen mostrándose igualmente susceptibles a fenotrina (con base en su DL₅₀), observándose de la más susceptible a la menos susceptible: Pánuco > Tantoyuca > Cosoleacaque > Martínez de la Torre > Coatzacoalcos > Veracruz > Poza Rica (tabla 6 y figura 9) .

Es el mismo patrón que se presento en la DK₅₀, donde tanto Poza Rica como Veracruz, siendo las subpoblaciones menos susceptibles, no mostraron diferencia significativa entre ellas, pero si con el resto de las subpoblaciones. Sin embargo Tantoyuca, Cosoleacaque, Pánuco, Martínez de la Torre y Coatzacoalcos si muestran diferencia significativa entre ellas y a Poza Rica y Veracruz, según el traslape de los límites fiduciales.

Aun cuando Pánuco muestra diferencia significativa en su susceptibilidad a fenotrina al resto de las subpoblaciones, esta subpoblación no muestra diferencia significativa con la subpoblación de New Orleans utilizada. De modo que se dice que son igualmente susceptibles a fenotrina, no hay resistencia.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

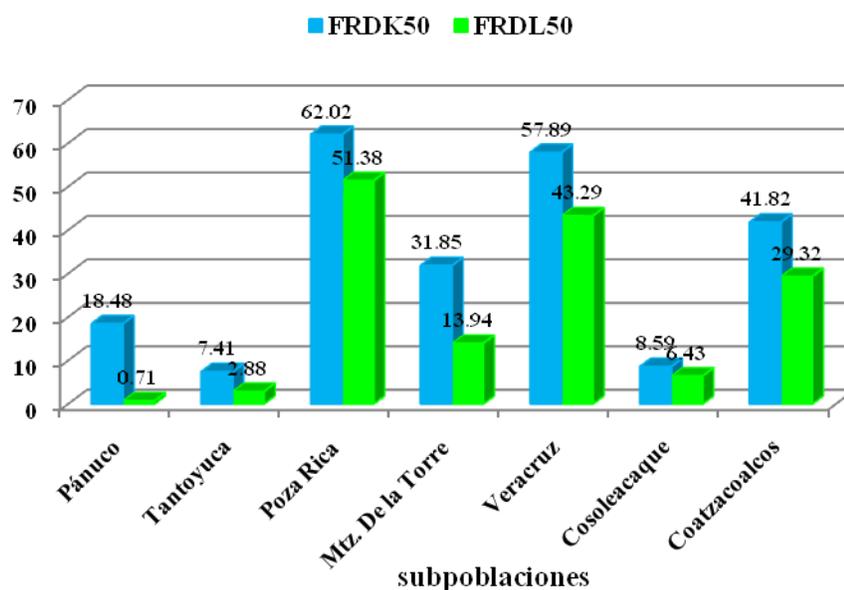
Fig. 9. Dosis Letal media (DL₅₀), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a fenotrina.

Los valores de DL₅₀ son más pequeños que los de DK₅₀, esto debido al aumento en los porcentajes de mortalidad obtenidos a las 24 hrs (como se menciona con anterioridad). Por ejemplo, para Veracruz disminuyó la dosis de 25.47 a 14.72 µg/botella. Esto sugiere que el insecticida es más eficiente después de las 24 hrs de exposición, o también que aun cuando se utilizan dosis muy altas para fenotrina, es efectivo en su propiedad de derribo, ya que ningún mosquito se recuperó.

Para los valores DL₉₅, todas las subpoblaciones se muestran igualmente susceptibles a fenotrina (menos la cepa New Orleans), ya que no existe diferencia significativa según el traslape de los límites fiduciales. Es con este dato que se puede decir que fenotrina es igualmente eficiente para matar a los mosquitos de todas las subpoblaciones.

Tantoyuca, fue la población que presentó la dosis que mata el 95% de la población, más alta 109 µg/botella.

6.1.3 Resistencia a fenotrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Figura 10. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a fenotrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

Como se puede apreciar en la figura 10, todas las subpoblaciones presentaron resistencia a fenotrina. Siendo la más resistente al efecto knockdown la población de Poza Rica (FR= 62.02) seguida por Veracruz, Coahuila de Zaragoza, Martínez de la Torre, Pánuco, Cosoleacaque y por último Tantoyuca, la cual se mostró como susceptible en la $DL_{50} = 2.88X$.

La subpoblación más resistente al efecto knowdown fue Poza Rica y la subpoblación más susceptible fue Tantoyuca. Este mismo patrón se observó en las resistencias DL_{50} .

6.2 Susceptibilidad a permetrina.

6.2.1 DK_{50} para permetrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades.

De los valores de DK_{50} obtenidos para fenotrina en comparación con las obtenidas para permetrina, si se observó una disminución significativa. Por ejemplo, la población de Poza Rica disminuyó de 27.29 $\mu\text{g}/\text{botella}$ (de fenotrina) a 8.29 $\mu\text{g}/\text{botella}$ para permetrina, mostrándose 3 veces mayor la DK_{50} obtenida para fenotrina. Lo mismo

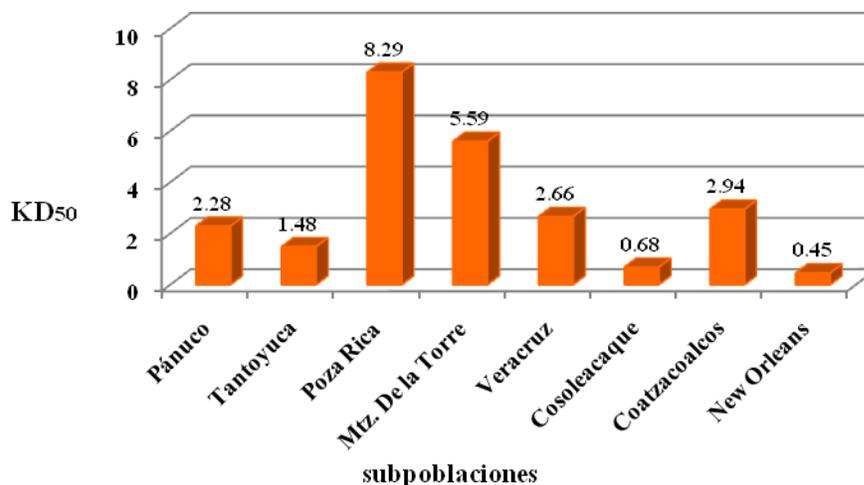
sucedió con el resto de las subpoblaciones, mostrando DK_{50} de fenotrina de entre 2 a 9 veces mayores que los obtenidos para permetrina. Solo la subpoblación de New Orleans se mantuvo constante en su susceptibilidad para ambos insecticidas, obteniéndose valores de $DK_{50} = 0.44$ y 0.45 para fenotrina y permetrina respectivamente y comparando sus límites fiduciales, hay traslape, por lo que puede decirse que New Orleans se muestra igualmente susceptible a permetrina y fenotrina.

Tabla 7. Toxicidad con base en DK_{50} ¹ en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de permetrina sobre adultos de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DK_{50}	(LC95%)
Pánuco	0.063	0.046 - 0.089
Tantoyuca	0.017 ^d	0.015 – 0.020
Poza Rica	0.146 ^a	0.130 – 0.160
Martínez de la Torre	0.019 ^d	0.014 - 0.026
Veracruz	0.154 ^a	0.132 – 0.177
Cosoleacaque	0.030 ^b	0.023 – 0.038
Coatzacoalcos	0.168 ^a	0.149 – 0.189
New Orleans	0.021 ^c	0.017 – 0.024

¹ DK_{50} : Dosis Knockdown 50 obtenida a una hora de exposición al insecticida, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Como se puede apreciar en la tabla 7, figura 11 de la más susceptible a la menos susceptible se mostraron Cosoleacaque > Tantoyuca > Pánuco > Veracruz > Coatzacoalcos > Martínez de la Torre > Poza Rica. De nuevo la subpoblación de Poza Rica se mostro menos susceptible al insecticida, de hecho fue la subpoblación en la que se emplearon las dosis más altas, teniendo una máxima de $30 \mu\text{g}/\text{botella}$ para obtener el 91.6% de mortalidad. En cambio para el resto de las subpoblaciones se utilizaron como dosis máximas concentraciones de 5 a $15 \mu\text{g}/\text{botella}$, obteniendo porcentajes de mortalidad entre el 91.6% al 96 %.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 11. Dosis knockdown media (DK₅₀), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a permetrina.

Todas las subpoblaciones mostraron susceptibilidad a permetrina significativamente diferente entre ellas, excepto Veracruz y Coatzacoalcos, obteniéndose valores $DK_{50} = 2.66$ y 2.94 , respectivamente, mostrándose significativamente igualmente susceptibles a permetrina, según los límites fiduciales. Así mismo, ninguna subpoblación presentó susceptibilidad compartida con la cepa New Orleans.

6.2.2 DL₅₀ y DL₉₅ para permetrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades.

A diferencia de fenotrina, para permetrina si se presentaron porcentajes de recuperación a las 24 hrs. Tal es el caso de las subpoblaciones de Veracruz, Tantoyuca, Poza Rica y Martínez de la Torre; oscilando entre valores de 1.6% a 8.3%, observándose principalmente recuperados en las dosis bajas y altas, más no en la DK₅₀. Sin embargo dichos porcentajes de recuperación no son significativos, pues entre los límites fiduciales tanto de DK₅₀ y DL₅₀, hubo traslape para cada una de las subpoblaciones (tablas 7 y 8), incluyéndose la cepa New Orleans. No obstante para Coatzacoalcos si hubo diferencia significativa ente estos valores, ya que el número de muertos aumento considerablemente en cada una de las dosis usadas.

La subpoblación de Poza Rica mostró el mayor porcentaje de mosquitos recuperados (8.3%), razón por la cual sigue presentando la menor susceptibilidad.

Tabla 8. Toxicidad con base en DL_{50} ¹ y DL_{95} en $\mu\text{g}/\text{botella}$ de permetrina sobre adultos de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

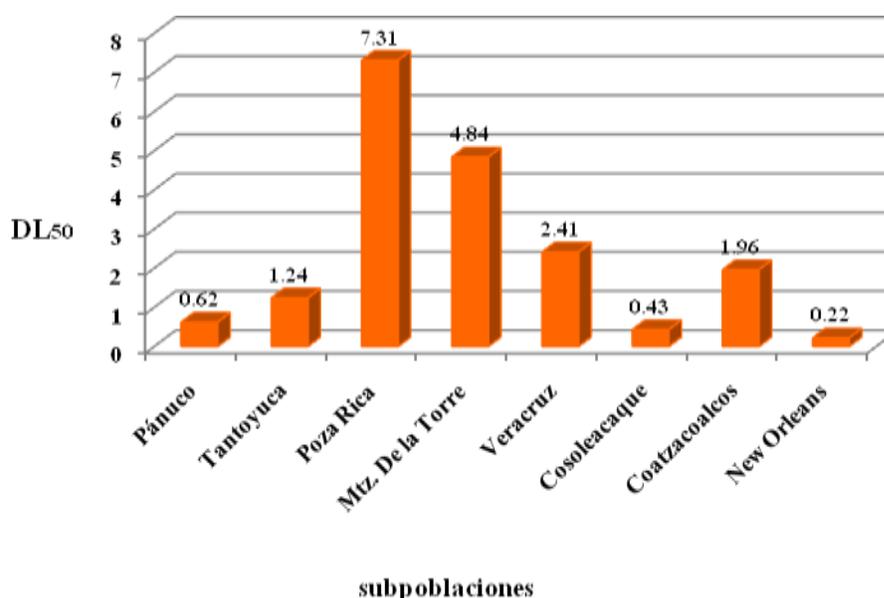
SUBPOBLACION	DL_{50}	(LC95%)	DL_{95}	(LC95%)
Pánuco	0.62 ^d	0.43 - 0.83	11.61 ^c	7.91 – 19.24
Tantoyuca	1.24 ^c	1.05 – 1.44	11.11 ^c	8.41 – 16.02
Poza Rica*	7.31 ^a	4.78 – 10.71	44.17 ^a	24.50 – 163.65
Martínez de la Torre	4.84 ^a	3.94 – 5.74	26.62 ^{ab}	19.67 – 42.24
Veracruz	2.41 ^b	2.03 – 2.83	15.95 ^{cb}	12.08 – 23.06
Cosoleacaque	0.43 ^d	0.35 – 0.51	3.76 ^d	2.72 – 5.90
Coatzacoalcos	1.96 ^b	1.64 – 2.30	10.46 ^c	8.10 – 14.67
New Orleans	0.22 ^e	0.15 – 0.27	1.91 ^d	1.34– 3.34

¹DL: Dosis letal 50 obtenida a 24 hrs después de la exposición al insecticida, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

*Valores obtenidos mediante el programa SPSS.

Para permetrina la DL_{50} de las subpoblaciones se reportaron susceptibles en el siguiente orden: Cosoleacaque > Pánuco > Tantoyuca > Coatzacoalcos > Veracruz > Martínez de la Torre > Poza Rica. Aquí Coatzacoalcos presento una DL_{50} menor que Veracruz, y no viceversa como se presento en la DK_{50} (fig 12).

Las subpoblaciones de Poza Rica y Martínez de la Torre, son igualmente susceptibles entre ellas, sin embargo muestran diferencia significativa con el resto de las subpoblaciones, lo mismo sucede con las subpoblaciones de Veracruz y Coatzacoalcos. En el caso de las subpoblaciones de Cosoleacaque, Pánuco y Tantoyuca, estas muestran diferente susceptibilidad significativa al resto de las subpoblaciones y entre ellas mismas (tabla 8). Comparando los límites fiduciales de DL_{50} obtenidos para fenotrina y permetrina, Tantoyuca no mostro diferencia significativa para ambos insecticidas, al igual que Martínez de la Torre.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

Fig. 12. Dosis Letal media (DL₅₀), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a permetrina.

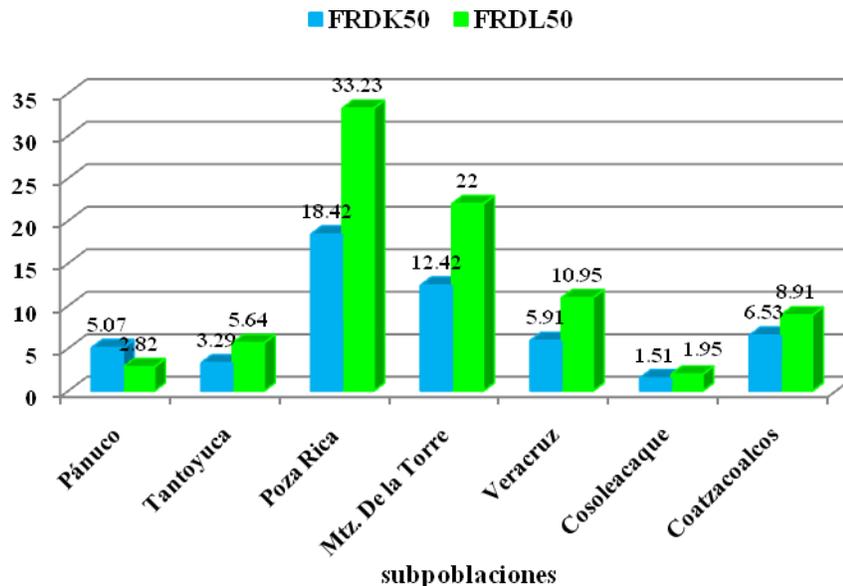
No sucede lo mismo para DL₉₅, las subpoblaciones de Poza Rica y Martínez siguen siendo igualmente susceptibles, no obstante Martínez también es igualmente susceptible a Veracruz, aclarando que la subpoblación de Veracruz y Poza Rica son significativamente diferentes. Veracruz también es igualmente susceptible (según el traslape de los límites fiduciales) a Coatzacoalcos y Tantoyuca, donde estas dos subpoblaciones, no muestran la misma susceptibilidad de Veracruz a Martínez de la Torre. La subpoblación de Cosoleacaque fue la única que se mostro significativamente diferente en su susceptibilidad al resto de las subpoblaciones.

Todas las subpoblaciones mostraron ser significativamente diferentes a la cepa de referencia New Orleans, tanto para DL₅₀ y DL₉₅. Hablando de la cepa New Orleans, los valores DL₅₀ y DL₉₅ tanto para fenotrina como permetrina son significativamente iguales (como se mencionado anteriormente para DK₅₀),

Los valores de DL₉₅ para permetrina son menores que los mostrados por las subpoblaciones para fenotrina y significativamente diferentes, a excepción de Poza Rica, la cual presenta traslape entre los límites fiduciales con fenotrina. Puede comentarse con base en estos resultados que permetrina es más eficiente que fenotrina

(pero igualmente eficiente para Poza Rica), sin embargo se comportó de diferente manera, pues para matar al 95% de los mosquitos de las diferentes subpoblaciones se requieren diferentes concentraciones para cada una.

6.2.3 Resistencia a permetrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 13. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a permetrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

De la figura 12 que representaba a fenotrina, en comparación a esta (figura 13), se observa una gran diferencia en los factores de resistencia que las subpoblaciones mostraron frente a permetrina, donde solo las subpoblaciones de Poza Rica y Martínez de la Torre se mostraron resistentes (siendo Poza Rica, la más resistente de ambas, con valores de 18.42X, 33.23X y 23.13X para DK_{50} , DL_{50} y DL_{95} , respectivamente, sobre la cepa susceptible), Veracruz, Pánico y Tantoyuca se mostraron susceptible a DK_{50} y resistencia moderada en DL_{50} y DL_{95} . Coatzacoalcos mostro resistencia moderada y solo Cosoleacaque se presentó susceptible con valores de 1.51X, 1.95X y 1.97X para DK_{50} , DL_{50} y DL_{95} , respectivamente.

La subpoblación de Poza Rica fue la más resistente con una DL_{95} de 7.31 $\mu\text{g}/\text{botella}$ y 33.23 veces más resistente que la cepa New Orleans.

6.3 Susceptibilidad a deltametrina

6.3.1 DK_{50} para deltametrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades del estado de Veracruz.

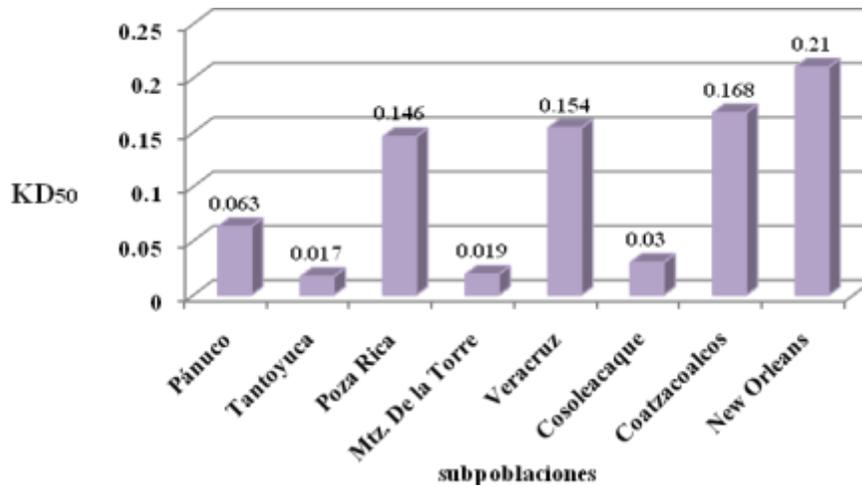
En comparación a fenotrina y permetrina, las subpoblaciones de *Ae. aegypti* se mostraron más susceptibles a deltametrina, utilizándose las dosis más bajas, donde la concentración más alta empleada fue de 0.5 µg/botella para las subpoblaciones de Poza Rica, Coatzacoalcos y Veracruz, 0.1 y 0.01 µg/botella para Tantoyuca y Cosoleacaque, respectivamente.

Como se menciona en la metodología, la selección de las dosis usadas dependieron del comportamiento mostrado por los mosquitos, esto con base en su relación porcentaje de mortalidad / tiempo.

Tabla 9. Toxicidad con base en DK_{50}^1 en µg/botella de deltametrina sobre adultos de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DK_{50}	(LC95%)
Pánuco	0.063 ^b	0.046 - 0.089
Tantoyuca	0.017 ^c	0.015 – 0.020
Poza Rica	0.146 ^a	0.130 – 0.160
Martínez de la Torre	0.019 ^b	0.014 - 0.026
Veracruz	0.154 ^a	0.132 – 0.177
Cosoleacaque	0.030 ^c	0.023 – 0.038
Coatzacoalcos	0.168 ^a	0.149 – 0.189
New Orleans	0.021 ^c	0.017 – 0.024

Como se puede apreciar en la tabla 9, figura 14, de la subpoblación más susceptible a la menos susceptible se mostraron Tantoyuca > Martínez de la Torre > Cosoleacaque > Pánuco > Poza Rica > Veracruz > Coatzacoalcos.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 14. Dosis Knock-down media (DK₅₀), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a deltametrina.

Es ahora en la DK₅₀ donde la subpoblación de Coatzacoalcos se mostró menos susceptible al insecticida (deltametrina), desplazando a la subpoblación de Poza Rica que se había mantenido en la cabecera de la menos susceptible para fenotrina y permetrina. Sin embargo entre las subpoblaciones de Coatzacoalcos, Poza Rica y Veracruz no hay diferencia significativa en sus susceptibilidad al insecticida, ya que muestran traslape en los límites fiduciales, de modo que son igualmente susceptibles a deltametrina. La subpoblación de Tantoyuca, Cosoleacaque y Pánuco, se mostraron significativamente diferentes en susceptibilidad al resto de las subpoblaciones y entre ellas mismas. Solo la subpoblación de Tantoyuca se mostró igualmente susceptible a la cepa de referencia New Orleans, mostrando valores de DK₅₀ = 0.017 y 0.021, respectivamente, donde inclusive Tantoyuca presentó un valor inferior al de New Orleans.

La susceptibilidad DK₅₀ a deltametrina que presentaron las diferentes subpoblaciones es significativamente diferente a la mostrada para los insecticidas fenotrina y permetrina, incluyendo la cepa New Orleans.

Como se mencionó, la cepa New Orleans se mostro igualmente susceptible tanto para fenotrina y permetrina, sin embargo para deltametrina si existió diferencia

significativa, de modo que se considera a deltametrina como el insecticida más eficaz de estos tres piretroides.

6.3.2 DL₅₀ y DL₉₅ para deltametrina en 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades del estado de Veracruz.

A diferencia que fenotrina, pero igualmente que permetrina, las subpoblaciones sometidas a deltametrina presentaron mosquitos recuperados a las 24 hrs.

La subpoblación de Poza Rica presentó mosquitos recuperados en 3 de las 5 dosis empleadas, estas tres fueron las concentraciones más altas para Poza Rica, mostrando una recuperación de 1.6 % a 18 %. El porcentaje de recuperación se mostro en las dosis superiores a DK₅₀, de igual manera se presentó en la subpoblación de Cosoleacaque, sin embargo para el resto de las subpoblaciones los porcentajes de recuperación se presentaron tanto en dosis menores y superiores que la DK₅₀, oscilando entre el 1.6% y 9%. La subpoblación de Veracruz fue la que presentó el mayor porcentaje de recuperación, siendo este del 22 %.

No obstante aun cuando se presentaron porcentajes de recuperación, estos no fueron significativos, pues tanto los valores de DK₅₀ y DL₉₅ presentaron traslape en sus límites fiduciales. Similar a lo que se presento con permetrina.

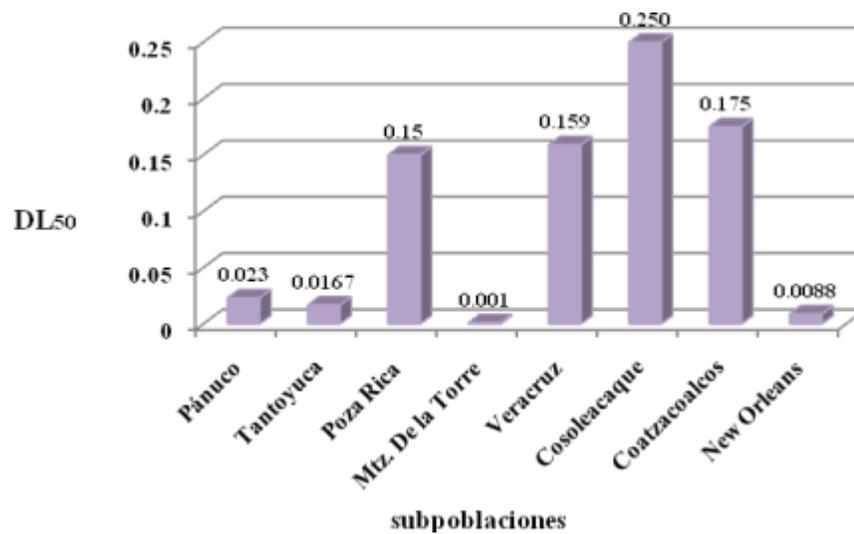
Tabla 10. Toxicidad con base en DL₅₀¹ y DL₉₅ en µg/botella de deltametrina sobre adultos de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

SUB-POBLACIÓN	DL ₅₀	(LC95%)	DL ₉₅	(LC95%)
Pánuco	0.023 ^b	0.016 - 0.031	0.706 ^b	0.372 - 1.843
Tantoyuca	0.0167 ^c	0.014 – 0.018	0.098 ^c	0.076 – 0.136
Poza Rica	0.150 ^a	0.130 – 0.170	0.600 ^b	0.470 – 0.850
Martínez de la Torre	0.001 ^e	0.0004 - 0.0002	1.728 ^a	0.407 -25.775
Veracruz	0.159 ^a	0.126 – 0.197	1.470 ^a	0.890 – 3.520
Cosoleacaque	0.025 ^b	0.019 – 0.033	0.395 ^b	0.226 – 0.956
Coatzacoalcos	0.175 ^a	0.156 – 0.195	0.496 ^b	0.410 – 0.644
New Orleans*	0.0088 ^d	0.0034 – 0.0150	0.0915 ^c	0.047 – 0.430

¹DL : Dosis letal 50 obtenida a 24 hrs después de la exposición al insecticida , diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

*Valores obtenidos mediante el programa SPSS.

Después de las 24 hrs, las sub-poblaciones de mosquitos siguieron comportándose igualmente susceptibles que a DK_{50} , donde la susceptibilidad se mantuvo con el siguiente patrón: Martínez de la Torre > Pánuco > Tantoyuca > Cosoleacaque > Poza Rica > Veracruz > Coatzacoalcos, ordenadas de la más susceptible a la menos susceptible (tabla 10, figura 15).



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 15. Dosis letal media (DL_{50}), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a deltametrina.

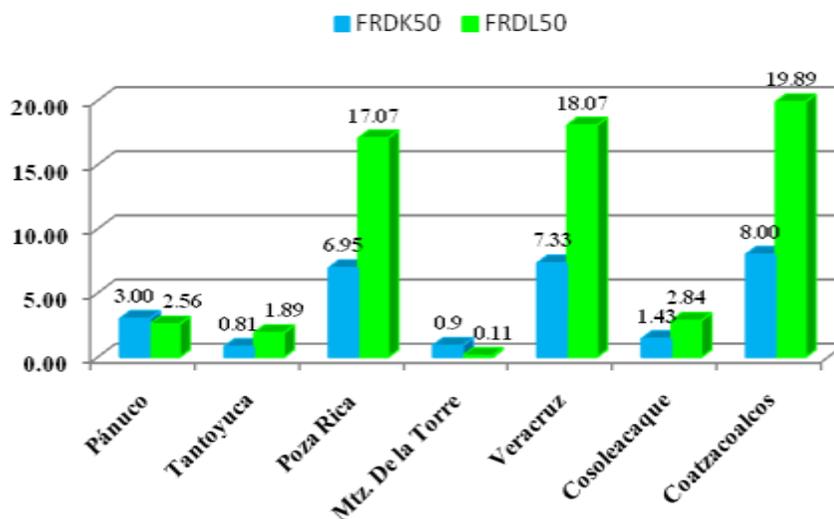
Nuevamente Coatzacoalcos, Veracruz y Poza Rica que presentaron las DL_{50} más altas, se mostraron significativamente igual de susceptibles a deltametrina y diferente al resto de las poblaciones. Cosoleacaque, Pánuco, Martínez de la Torre y Tantoyuca también mostraron susceptibilidad significativamente diferente entre ellas y al resto de las subpoblaciones.

Para DL_{95} las poblaciones presentaron susceptibilidad diferente a la mencionada anteriormente, de la población más susceptible a la menos susceptible, para DL_{95} , se acomodan en el siguiente orden: Tantoyuca > Cosoleacaque > Coatzacoalcos > Poza Rica > Veracruz. Siendo la población de Veracruz con la DL_{95} más alta, se muestra significativamente diferente al resto de las demás poblaciones. Cosoleacaque,

Coatzacoalcos y Poza Rica se comportaron igualmente susceptibles según el traslape de sus límites fiduciales, de modo que se consideran igualmente susceptibles a deltametrina. La población de Tantoyuca, al igual que la de Veracruz y Martínez de la Torre, se mostraron significativamente diferentes al resto de las subpoblaciones. Tantoyuca fue la única subpoblación que se mostró significativamente igual de susceptible que la cepa New Orleans, tanto para DL₅₀ y DL₉₅.

Respecto a la capacidad del insecticida deltametrina de matar al 95% de los mosquitos, se deduce lo mismo que permetrina: se requieren diferentes concentraciones de insecticida para cada una de las subpoblaciones.

6.3.3 Resistencia a deltametrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.



^aCriterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 16. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a deltametrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

Las subpoblaciones se comportaron más susceptibles ante deltametrina, que a permetrina y fenotrina juntos (figura 16).

Las subpoblaciones de Tantoyuca, Martínez de la Torre y Cosoleacaque se mostraron como las más susceptibles con valores de 0.81X, 1.89X; 0.9X, 0.11, y 1.43X, 2.84X respectivamente para DK₅₀ y DL₅₀, en comparación a la cepa New Orleans.

Poza Rica, Veracruz y Coatzacoalcos mostraron resistencia moderada para

DK₅₀ y mientras que para DL₅₀ fueron resistentes. Veracruz fue la más resistente con valores de 7.33X, 18.07X y 16.06X para DK₅₀, DL₅₀ y DL₉₅, respectivamente, con respecto a la cepa susceptible utilizada.

La población de Veracruz fue la más resistente a la DL₉₅ para deltametrina, siendo esta de 1.47 µg/botella con un factor de resistencia de 16.06X.

6.3.4. Tiempo knock-down medio (TDK₅₀) y Tiempo letal medio (TL₅₀) de los insecticidas piretroide fenotrina, permetrina y deltametrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades.

El tiempo Knock-down medio y el tiempo letal medio fue calculado para cada una de las poblaciones estudiadas de *Ae. aegypti* con fenotrina, permetrina y deltametrina, de acuerdo a la dosis que produjo mayor mortalidad en los mosquitos.

Como se muestra en la tabla 11 se compara el tiempo knockdown medio y el tiempo letal medio de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti*. Lo más apropiado sería hacer una comparación en una misma dosis para todas las subpoblaciones, sin embargo cada una de las subpoblaciones presentó un comportamiento diferente ante un mismo insecticida. En el caso de Cosoleacaque y Tantoyuca, ambos pudieron compararse en la misma dosis para fenotrina (3.0 µg/botella), siendo la subpoblación de Cosoleacaque la que presentó el mayor tiempo de resistencia tanto para TDK₅₀ y TL₅₀ con un rango de 66 y 378 min. También se puede comparar la subpoblación de Poza Rica con la de Veracruz y Martínez de la Torre en la misma dosis de 30 µg/botella, siendo para esta dosis más resistente a morir la población de Poza Rica (7:54, hr:min), aun cuando Poza Rica y Martínez presentaron el mismo tiempo de resistencia al efecto knockdown de fenotrina (71 min). Realizar una comparación entre las subpoblaciones ante permetrina no será muy equitativo, pues se sometieron bajo diferentes concentraciones. El caso ante deltametrina es similar al de permetrina, sin embargo Poza Rica, Veracruz y Coatzacoalcos si pueden compararse ante la misma dosis (0.2 µg/botella) siendo más resistente al efecto knockdown la subpoblación de Cosoleacaque.

Tabla 11. Valores de TDK₅₀ y TL₅₀ en horas y minutos que se obtuvieron en cada una de las subpoblaciones de *Ae. aegypti* ante los diferentes insecticidas piretroides en la dosis más cercana a los valores de DK₅₀ y DL₅₀

fenotrina				
Subpoblación	TKD50 hr:mn	(LC95%)	TL50 hr:mn	(LC95%)
Pánuco	01:36	(01:03 - 02:29)	05:33	(01:27:32- 02:76)
Tantoyuca	00:56	(00:51 – 01:05)	04:27	(02:30 – 11:30)
Poza Rica	01:11	(01:01 – 01:38)	07:54	(04:36 – 18:06)
Mtz. de la Torre	01:11	(00:58 – 01:45)	03:30	(02:24 – 05:58)
Veracruz	00:56	(00:51 – 01:06)	03:14	(02:11 – 05:37)
Cosoleacaque	01:06	(00:57 – 01:24)	06:18	(03:54 – 12:31)
Coatzacoalcos	01:34	(01:09 – 03:42)	08:09	(04:36 – 20:36)
New Orleans	01:00	(00:50 – 01:23)	02:55	(01:53 – 05:24)

permetrina				
Subpoblación	TKD50 hr:mn	(LC95%)	TL50 hr:mn	(LC95%)
Pánuco	00:58	(00:50– 01:22)	07:13	(04:60.- 13:23)
Tantoyuca	01:03	(00:51 – 01:19)	04:35	(02:40 – 10:48)
Poza Rica	01:08	(00:57 – 01:33)	18:11	(07:19 –108:30)
Mtz. de la Torre	01:00	(00:52 – 01:16)	04:33	(02:48 – 09:15)
Veracruz	00:52	(00:46 – 01:03)	02:40	(01:48 – 04:33)
Cosoleacaque	01:12	(00:58 – 02:40)	07:40	(03:40 – 33:56)
Coatzacoalcos	01:16	(01:09 – 01:56)	34:30	(12:30 –315:12)
New Orleans	01:19	(01:03 – 02:01)	06:02	(03:41 – 12:26)

deltametrina				
Subpoblación	TKD50 hr:mn	(LC95%)	TL50 hr:mn	(LC95%)
Pánuco	00:51	(00:45 – 01:00)	43:48	(18:36 – 207:98)
Tantoyuca	00:46	(00:42 – 00:52)	02:04	(01:26 – 03:22)
Poza Rica	00:45	(00:40 – 00:51)	03:51	(02:03 – 11:27)
Mtz. de la Torre	01:09	(00:58 – 1.62)	26.15	(13.83 – 71.03)
Veracruz	00:56	(00:49 – 01:08)	04:11	(02:35 – 08:38)
Cosoleacaque	01:32	(01:11 – 02:45)	22:06	(09:54 – 88:20)
Coatzacoalcos	01:06	(00:55 – 01:24)	11:37	(05:31 – 43:30)
New Orleans	00:34 ^a	(00:32 – 00:36)	03:01	(02:00-05:100)

Permetrina y deltametrina, son insecticidas de este grupo que más se han utilizado para el control de *Ae. aegypti*, sin embargo aun cuando fenotrina se ha utilizado para el control de otros insectos, no existe información sobre susceptibilidad o resistencia en mosquitos. Si se ha empleado, pero no por si solo frente a una población (Yoshinori *et al.* 1991), sino que se ha utilizado junto con otros insecticidas más eficientes, inclusive con sinergitas para incrementar su efecto tóxico. Picollo (2006) nos habla del uso de fenotrina sobre el control de piojos, sin embargo no es el único utilizado para esto, también está la permetrina y la deltametrina. En su estudio ella menciona que piojos que desarrollaron resistencia a permetrina, también desarrollaron resistencia a deltametrina y fenotrina. Los mosquitos han demostrado desarrollar resistencia a permetrina y deltametrina, ya sea por tener exposiciones largas al efecto del insecticida o por mecanismos de resistencia cruzada con otros insecticidas, tales como temefos y malation (OP) (Rodríguez *et al.* 1997, 1999, 2002, 2003). Debido a que temefos y malation se han utilizado para el control de *Ae. aegypti* en México, puede deducirse entonces que las subpoblaciones de este vector en el estado de Veracruz pueden presentar resistencia cruzada con permetrina y deltametrina, inclusive fenotrina, que es también un piretroide, y que como interfieren los mismos mecanismos de resistencia que los otros dos (gen *DKr*, citocromo P450, enzimas esterases y Glutación-S-transferasa) (Hemingway *et al.* 1989, Rodríguez *et al.* 2003, Bisset *et al.* 1996, Chandre F. *et al.* 1999) también puede presentarse resistencia cruzada con este insecticida.

En comparación con diferentes estudios que determinan concentraciones letales medias, los resultados obtenidos en este trabajo, manejan las dosis más altas para los tres insecticidas. Por ejemplo en un estudio de Ocampo *et al.* (2000) en Colombia sobre poblaciones de *An. pseudopunctipennis*, para determinar la susceptibilidad frente a permetrina (también para propoxur y malation) ella obtuvo valores de CL_{50} de 0.0007 a 0.00141 mg/L de permetrina (mg/L es equivalente a 1ppm o 1µg/mL), y tiempos letales medios de 29-38 min (TL_{50}), mientras que para nuestras subpoblaciones de mosquito *Ae. aegypti* de Veracruz, las DL_{50} obtenidas para este mismo insecticida oscilaron entre 0.43 y 7.31 µg/botella (que es lo mismo que µg/mL, puesto que se ajusto a 1 mL con acetona) y con TL_{50} de 53 min a 18:11 horas (1091 min). El tiempo también es una determinante importante en la resistencia, sobre todo en el efecto knockdown de

los piretroides. Vargas *et al.* (2006) en su estudio sobre varios vectores de enfermedades de Perú, determino el tiempo knockdown medio para diferentes poblaciones de *Ae. aegypti* frente a deltametrina al 0.025% (con porcentajes de mortalidad altos), obteniendo de entre 59.28-107.20 min, mientras que para deltametrina en poblaciones de Veracruz se obtuvieron tiempos de 46-66 min para las diferentes DK_{50} . De modo que los mosquitos de Perú tardaron más en morir que los de Veracruz. Siendo las subpoblaciones de Veracruz más susceptibles en comparación con las de Perú.

En un estudio realizado por Canyon *et al.* (1999) sobre la susceptibilidad de larvas y mosquitos de *Ae. aegypti* en Australia, para permetrina obtuvo valores de CL_{50} = 0.0028 (en 1989) y .0025 mg/L (en 1995), y comparado con una cepa susceptible ROCK, su factor de resistencia fue de 0.5 (en larvas) , mientras que en los resultados se muestran FR superiores a este (pero en mosquitos), siendo el más pequeño el de 1.95X para DL_{50} (con base en la cepa susceptible New Orleans). Canyon *et al.* realizó pruebas de dosis diagnóstico para deltametrina a 0.025% (método de la OMS) entre la misma población en dos años distantes (1959 y 1995) obteniendo un incremento en la resistencia, con un factor de 1 en comparación a la cepa original, y para el DDT al 4% 0.2 veces. El DDT también a influido en la resistencia a muchos insecticidas en diferentes partes de mundo, en donde los piretroides han mostrado más frecuentemente resistencia cruzada con este organoclorado (Rohani *et al.* 2000)

Rodríguez *et al.* (2002) en su estudio sobre la resistencia cruzada que provoca temefos frente a otros insecticidas organofosforados y piretroides como: malation y deltametrina frente a poblaciones de *Ae. aegypti* de Cuba, se observó que temefos causo resistencia cruzada negativa frente a malation, sin embargo no fue así para deltametrina la cual aumento su FR de 4.75 antes de ser seleccionada bajo presión con temefos, hasta 337.5 veces en comparación con la cepa susceptible Rockefeller ,para la CL_{50} . Si se comparan las dosis en las cuales se mato a la mitad de la población , es decir su CL_{50} (al final de la selección) con la DL_{50} que se obtuvo para deltametrina en Veracruz, los mosquitos de este estado mostraron dosis más altas , siendo estas entre 0.0167 y 0.1750 mg/mL, mientras que para las de Santiago de Cuba se obtuvieron dosis de 0.00038 (en SanF0) , 0.0081 (en SanF3) y 0.027 mg/L (en SanF6), sin embargo la cepa susceptible empleada por ellos obtuvo una CL_{50} de 0.00008 mg/L muy inferior (casi 100 veces) a la

que se obtuvo en la cepa New Orleans que se utilizó en el presente estudio ($DL_{50}=0.0088$), por ello los factores de resistencia mostrados superan por mucho a los que presentaron las subpoblaciones de Veracruz, siendo el FR más grande el de 337.5X en la cepa Santiago de Cuba . Sin embargo si se utilizara el valor de susceptibilidad de su cepa Rockefeller en los resultados obtenidos, se obtendrían factores de resistencia de 208.75 como el más pequeño, hasta 2187.5 X, siendo que las subpoblaciones de Veracruz no se sometieron a ningún tipo de selección con temefos en el laboratorio, sin embargo, puede haberse dado en condiciones de campo, indicándonos que el uso de deltametrina no es efectivo en el control del mosquito, ya que presenta una alta resistencia cruzada con temefos, un insecticida larvario que se utiliza actualmente en las campañas contra el dengue, no obstante, no se utilizó la cepa Rockefeller como susceptible en este estudio, pero sería conveniente utilizarla en México, para verificar si las condiciones ambientales afectan su susceptibilidad frente a deltametrina en nuestro país.

6.4 Susceptibilidad a cipermetrina.

6.4.1. DK_{50} para cipermetrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

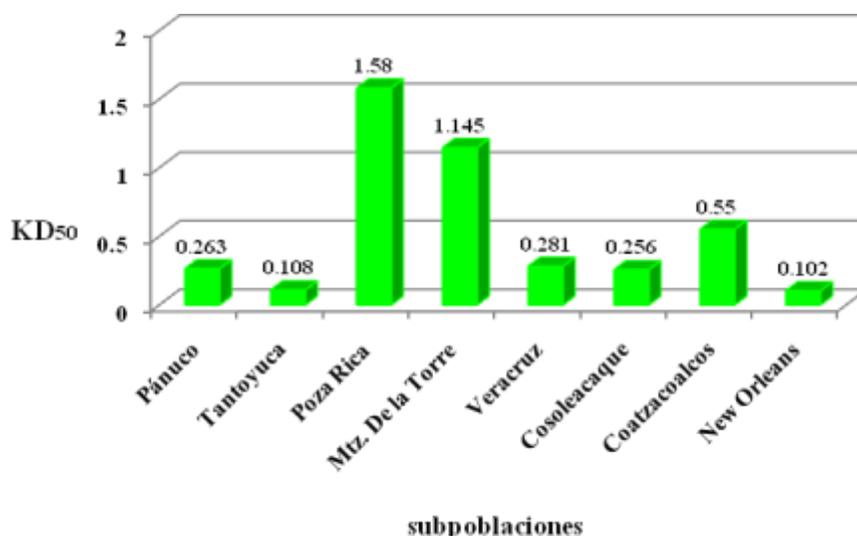
Tabla 12. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a cipermetrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DK_{50}	(LC95%)
Pánuco	0.263 ^d	0.190 - 0.368
Tantoyuca	0.18 ^a	0.076 - 0.148
Poza Rica	1.580 ^b	1.410 - 1.762
Martínez de la Torre	1.145 ^c	1.000 - 1.294
Veracruz	0.281 ^e	0.231 - 0.339
Cosoleacaque	0.256 ^d	0.180 - 0.208
Coatzacoalcos	0.550 ^d	0.447 - 0.662
New Orleans	0.102 ^f	0.084-0.122

Las DK_{50} obtenidas nos marcan que la población de *Ae. aegypti* de Poza Rica necesita más ingrediente activo de cipermetrina para derribar el 50% de los individuos,

asimismo la subpoblación de Tantoyuca es la que necesita menos de este, tal como la cepa New Orleans.

Comparando el valor DK_{50} entre las poblaciones en estudio, podemos encontrar que Poza Rica > Martínez de la Torre > Coatzacoalcos > Veracruz > Cosoleacaque > Panuco > Tantoyuca, lo cual se puede observar en la figura 17.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

Fig. 17. Dosis Know-down media (DK_{50}), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a cipermetrina.

6.4.2. DL_{50} y DL_{95} para cipermetrina en las poblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades.

La dosis letal 50 (DL_{50}) y 95 (DL_{95}) fueron determinadas para las subpoblaciones en estudio después de 24 horas, tras haber recibido exposición al piretroide cipermetrina por una hora. Puesto que los antecedentes antes descritos nos conducen a tomar en cuenta los posibles mecanismos de resistencia presentados en mosquitos, los valores de DL_{50} y DL_{95} presentaron variación con respecto a la DK_{50} antes obtenida para cada una de las subpoblaciones.

La subpoblación de Poza Rica obtuvo una DL_{50} de 1.881 $\mu\text{g}/\text{bt}$ (tabla 13, figura 18), incrementándose en un 16.1% con respecto a la DK_{50} , asimismo las subpoblaciones

de Tantoyuca en un 12.9% y Martínez de la Torre 7.2%; las poblaciones de *Ae. aegypti* provenientes de Panuco y Veracruz no presentaron aumento en este valor.

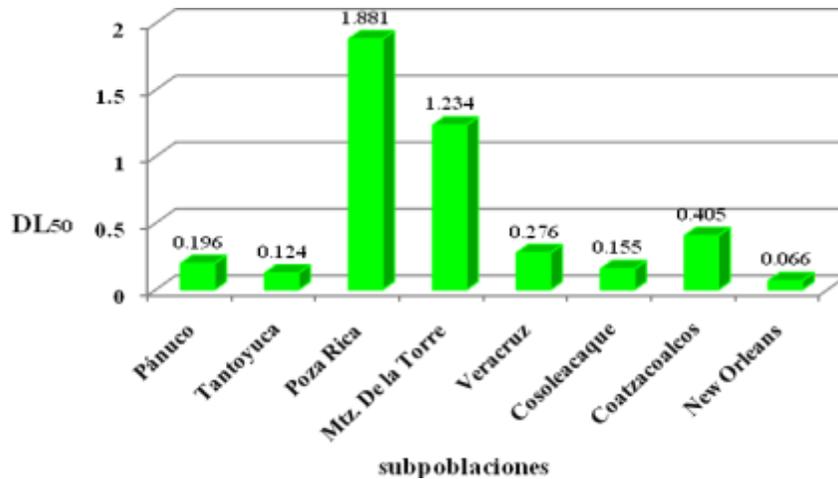
Tabla 13. Toxicidad con base en DL₅₀¹ y DL₉₅ a cipermetrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. Aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DL ₅₀	(LC95%)	DL ₉₅	(LC95%)
Pánuco	0.196 ^{d,e}	0.129-0.299	22.218 ^a	8.176-110.540
Tantoyuca	0.124 ^e	0.085-0.177	7.582 ^{ab}	3.279-29.085
Poza Rica	1.881 ^a	1.502-2.514	26.277 ^a	11.616-166.004
Martínez de la Torre	1.234 ^b	1.055-1.444	7.668 ^{ab}	5.533-12.205
Veracruz	0.276 ^{cd}	0.227-0.333	1.658 ^c	1.184-2.681
Cosoleacaque	0.155 ^e	0.108 - 0.207	3.267 ^b	2.184-5.681
Coatzacoalcos	0.405 ^c	0.315-0.509	4.760 ^b	3.283-7.852
New Orleans*	0.066 ^f	0.054-0.081	0.566 ^d	0.401-0.915

¹DL: dosis letal 50, obtenida a las 24 horas después de la exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

De manera similar a los valores DK₅₀ se puede ver en la figura 18 el patrón Poza Rica > Martínez de la Torre > Coatzacoalcos > Veracruz > Panuco > Tantoyuca > Cosoleacaque para los valores de dosis letal 50.

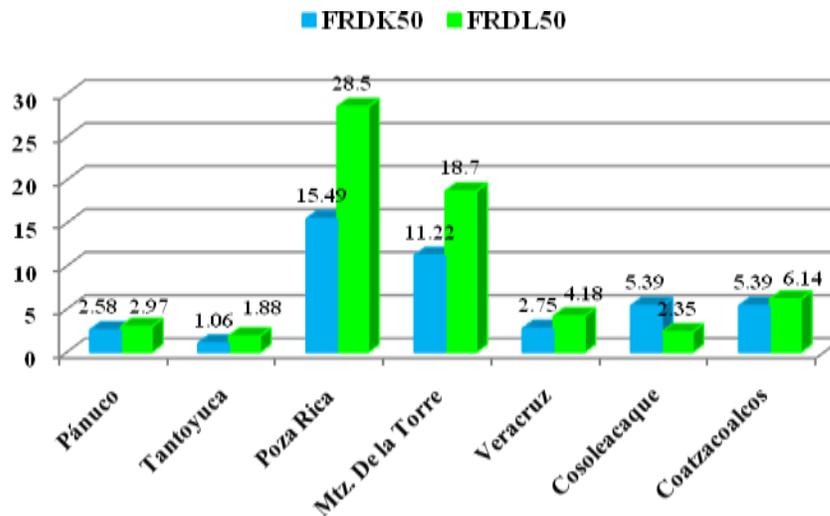
Con lo que respecta a los valores de DL₉₅ la población de Poza Rica obtuvo el valor más alto, con 26.27 µg/bt y el mínimo lo obtuvo Veracruz con 1.65 µg/bt. Según los traslapes en los límites de confianza para este valor las poblaciones de Poza Rica, Martínez de la Torre, Panuco y Tantoyuca comparten niveles de susceptibilidad, asimismo Coatzacoalcos, Cosoleacaque, Martínez de la Torre y Tantoyuca pero en diferente rango, por su parte la subpoblación de Veracruz es diferente a la cepa de referencia y las demás subpoblaciones, además todas las subpoblaciones fueron diferentes a la cepa de referencia; por lo que el patrón de susceptibilidad en forma decreciente indica que Poza Rica > Panuco > Martínez de la Torre > Tantoyuca > Coatzacoalcos > Cosoleacaque > Veracruz, mostrando una notable diferencia al generado con los valores de DL₅₀.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

Fig. 18. Dosis letal media (DK₅₀), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a cipermetrina.

6.4.3. Resistencia a cipermetrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 19. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a cipermetrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

De este modo tenemos que el comportamiento de las subpoblaciones en estudio, respecto al nivel de susceptibilidad a cipermetrina en orden decreciente indican que Poza Rica > Martínez de la Torre > Coahuila > Cosoleacaque > Veracruz > Panuco >

Tantoyuca, igualmente las subpoblaciones no mostraron diferencia al patrón obtenido al comparar el factor de resistencia en los valores DK_{50} (fig. 19).

Con lo que respecta a los valores de DL_{95} la población de Poza Rica obtuvo el valor más alto, con 26.27 $\mu\text{g}/\text{bt}$ y el mínimo lo obtuvo Veracruz con 1.65 $\mu\text{g}/\text{bt}$. Según los traslapes en los límites de confianza para este valor las poblaciones de Poza Rica, Martínez de la Torre, Panuco y Tantoyuca comparten niveles de susceptibilidad, asimismo Coatzacoalcos, Martínez de la Torre y Tantoyuca pero en diferente rango, por su parte la población de Veracruz es diferente a la cepa de referencia y las demás poblaciones, además todas las poblaciones fueron diferentes a la cepa de referencia; por lo que el patrón de susceptibilidad en forma decreciente indica que Poza Rica > Panuco > Martínez de la Torre > Tantoyuca > Coatzacoalcos > Cosoleacaque > Veracruz, mostrando una notable diferencia al generado con los valores de DL_{50} .

6.5 Susceptibilidad a α -cipermetrina.

6.5.1. DK_{50} para α -cipermetrina en las sub-poblaciones de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

Las dosis mayor probada para el insecticida en cuestión fue de 1.5 $\mu\text{g}/\text{bt}$, respondiendo con 89% de mortalidad para la subpoblación de Poza Rica y 91% en la subpoblación de Coatzacoalcos, mientras que la dosis menor utilizada en los bioensayos fue de 0.005 $\mu\text{g}/\text{bt}$ para la subpoblación de Tantoyuca, produciendo el 10% de mortalidad. Se utilizaron dosis mayores a pequeñas para producir en general una genuina mortalidad, en comparación a las dosis mayores utilizadas para cipermetrina y z-cipermetrina. La subpoblación de Poza Rica obtuvo una DK_{50} de 0.462 $\mu\text{g}/\text{bt}$ (tabla 14) siendo la mayor, y la DK_{50} menor fue de 0.047 $\mu\text{g}/\text{bt}$ para la subpoblación de Tantoyuca; sin embargo, según los traslapes en los límites de confianza indican que aunque la subpoblación de Poza Rica presento la dosis mayor, esta presenta susceptibilidad compartida con las subpoblaciones de Coatzacoalcos y Martínez de la Torre, por otra parte las subpoblaciones de Veracruz, Panuco, Cosoleacaque y Tantoyuca son diferentes entre sí y con el grupo antes mencionado, cabe mencionar que ninguna de las subpoblaciones estudiadas presento susceptibilidad compartida con la cepa de referencia.

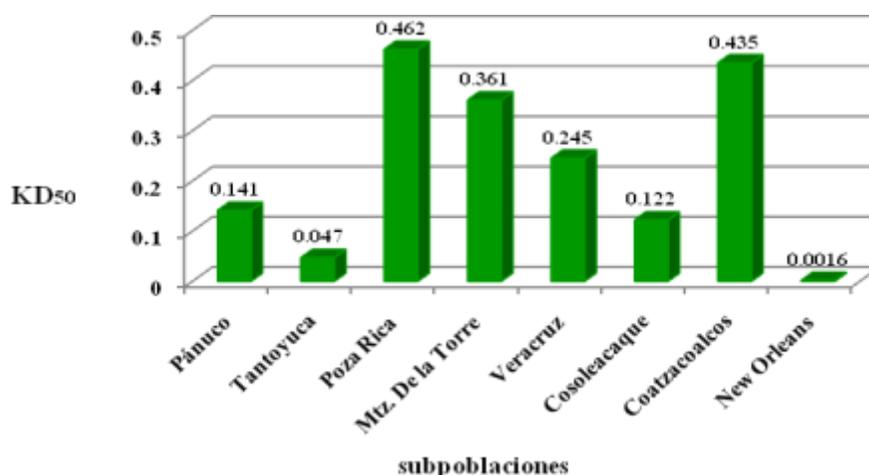
Tabla 14. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a α -cipermetrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACION	DK_{50}	(LC95%)
Pánuco	0.141 ^c	0.113-0.177
Tantoyuca	0.047 ^d	0.032-0.070
Poza Rica	0.462 ^a	0.385-0.560
Martínez de la Torre	0.361 ^a	0.307-0.428
Veracruz	0.245 ^b	0.204-0.297
Cosoleacaque	0.122 ^c	0.089-0.167
Coatzacoalcos	0.435 ^a	0.344-0.562
New Orleans	0.0016 ^e	0.0013-0.0018

¹DK: dosis Knock-down 50, obtenida a 1 hora de exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente.

En la figura 20 se puede observar que el patrón de comportamiento respecto a la DK_{50} , y en orden decreciente se podrían disponer Poza Rica > Coatzacoalcos > Martínez de la Torre > Veracruz > Cosoleacaque > Panuco > Cosoleacaque > Tantoyuca, similarmente con los valores de DK_{50} obtenidos para cipermetrina se puede ver que la subpoblación de Poza Rica obtuvo el valor más alto y Tantoyuca el menor.



^aCriterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 20. Dosis Know-down media (DK_{50}), de las diferentes sub-poblaciones de *Ae. aegypti* a α -cipermetrina.

6.5.2. DL₅₀ y DL₉₅ para α -cipermetrina en las poblaciones de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

Respecto a las DL₅₀ obtenidas en cada subpoblación estudiada, se puede observar que sus valores aumentaron respecto a los valores dados para DK₅₀, lo cual infiere que a las 24 horas después de haber expuesto los mosquitos al insecticida, algunos de estos pudieron recuperarse; la subpoblación de Poza Rica tuvo un aumento del 37.8%, más de una tercera parte, mientras que la subpoblación de Tantoyuca solo tuvo un incremento del 7.8%.

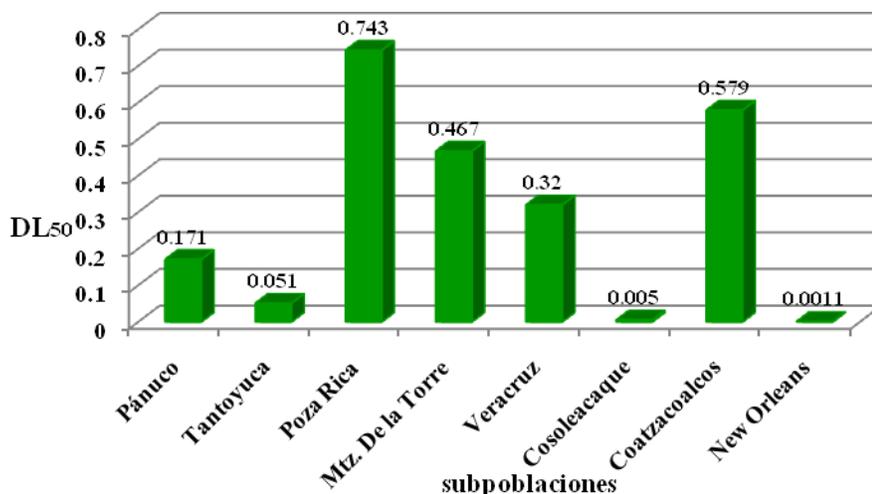
La DL₅₀ mayor registrada fue en la subpoblación de Poza Rica con 0.743 μ g/bt (tabla 15, figura 21), seguida por Coatzacoalcos con 0.579 μ g/bt y 0.467 μ g/bt en Martínez de la Torre, asimismo los traslapes en los límites de confianza de estas subpoblaciones indica que no existe diferencia significativa entre ellas, sin embargo la subpoblación de Veracruz tiene una similitud en susceptibilidad con la subpoblación de Martínez de la Torre, no así las subpoblaciones de Panuco y Tantoyuca que mostraron ser diferentes entre ellas y hacia las demás, incluyendo a la cepa de referencia New Orleans.

Tabla 15. Toxicidad con base en DL₅₀¹ y DL₉₅ a α -cipermetrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. Aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DL ₅₀	(LC95%)	DL ₉₅	(LC95%)
Pánuco	0.171 ^c	0.135-0.222	2.532 ^a	1.440-5.988
Tantoyuca	0.051 ^d	0.032-0.082	17.121 ^a	4.950-129.320
Poza Rica	0.743 ^a	0.595-0.972	7.139 ^a	4.247-15.529
Martínez de la Torre	0.467 ^{ab}	0.373-0.624	4.953 ^a	2.586-16.136
Veracruz	0.320 ^b	0.259-0.408	3.354 ^a	2.015-7.233
Cosoleacaque	0.005 ^e	0.0008-0.014	3.811 ^a	2.121 - 8.692
Coatzacoalcos	0.579 ^a	0.448-0.776	8.350 ^a	4.699-19.424
New Orleans*	0.0011 ^e	0.0009-0.0013	0.0066 ^b	0.0050-0.0097

¹DL: dosis letal 50, obtenida a las 24 horas después de la exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza. Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente.

Comparando gráficamente los valores DL_{50} entre las sub-poblaciones estudiadas, se tiene que Poza Rica > Coatzacoalcos > Martínez de la Torre > Veracruz > Panuco > Tantoyuca > Cosoleacaque.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

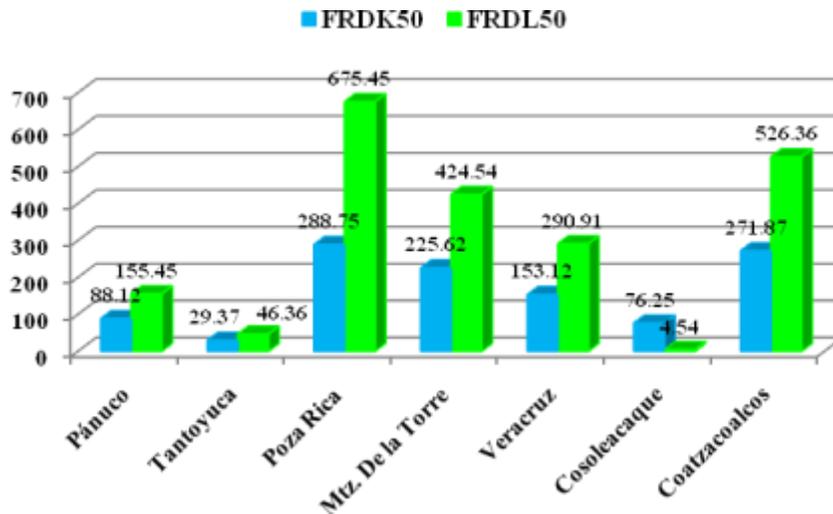
Fig. 21. Dosis letal media (DK₅₀), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a α -cipermetrina.

Los valores obtenidos en DL_{95} para cada subpoblación fueron variables en número, pero no en significancia, ya que los límites de confianza así lo revelan, sin embargo el rango de susceptibilidad si fue diferente entre las subpoblaciones y la cepa de referencia New Orleans. Siguiendo un patrón de susceptibilidad los valores obtenidos para DL_{95} en orden decreciente podría citarse que Tantoyuca > Coatzacoalcos > Poza Rica > Martínez de la Torre > Cosoleacaque > Veracruz > Panuco, siendo este patrón muy diferente al presentados por los valores DL_{95} del insecticida cipermetrina.

6.5.3. Resistencia a α -cipermetrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.

Tomando en cuenta que para los valores DK_{50} de este insecticida existió resistencia completa para las subpoblaciones estudiadas, también se presento resistencia completa respecto a los valores DL_{50} ; visualmente (figura 22) se muestra la subpoblación de Poza Rica como la más resistente, con un FR de 675.45, posteriormente Coatzacoalcos > Martínez de la Torre > Veracruz > Panuco > Tantoyuca >

Cosoleacaque , con lo cual este patrón coexiste al presentado en la comparación FR para los valores DK_{50} de este mismo insecticida.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 22. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a α -cipermetrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

Los valores obtenidos en DL_{95} para cada población fueron variables en número, pero no en significancia, ya que los límites de confianza así lo revelan, sin embargo el rango de susceptibilidad si fue diferente entre las poblaciones y la cepa de referencia New Orleans. Siguiendo un patrón de susceptibilidad los valores obtenidos para DL_{95} en orden decreciente podría citarse que Tantoyuca > Coatzacoalcos > Poza Rica > Martínez de la Torre > Cosoleacaque > Veracruz > Panuco, siendo este patrón muy diferente al presentado por los valores DL_{95} del insecticida cipermetrina.

6.6. Susceptibilidad a z-cipermetrina

6.6.1. DK_{50} para z-cipermetrina en subpoblaciones de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

Al obtener las DK_{50} para las subpoblaciones de mosquitos en estudio con el insecticida z-cipermetrina, se pudo constatar que los resultados fueron similares a los obtenidos con el insecticida cipermetrina. La realización de los bioensayos con este insecticida se llevo a cabo utilizando dosis diferentes, teniendo como dosis máxima 2.5 $\mu\text{g}/\text{bt}$ en la subpoblación de Poza Rica, produciendo una mortalidad del 91% y como

dosis mínima 0.01 µg/bt en la subpoblación de Martínez de la Torre ocurriendo un 5% de mortalidad.

Dentro de los valores de DK₅₀, se encuentra 1.078 µg/bt para Coatzacoalcos (tabla 16), siendo el mayor de estos, pero siguiendo el traslape en los límites de confianza observamos una susceptibilidad compartida con Poza Rica, asimismo las subpoblaciones de Veracruz, Martínez de la Torre y Panuco no muestran diferencias en su grado de susceptibilidad a z-cipermetrina, pero siendo diferentes Coatzacoalcos y Poza Rica; por su parte Tantoyuca se encuentra diferenciada en su nivel de susceptibilidad de las subpoblaciones antes mencionadas, mientras la cepa de referencia New Orleans tampoco se mostró igual en susceptibilidad a las subpoblaciones en estudio.

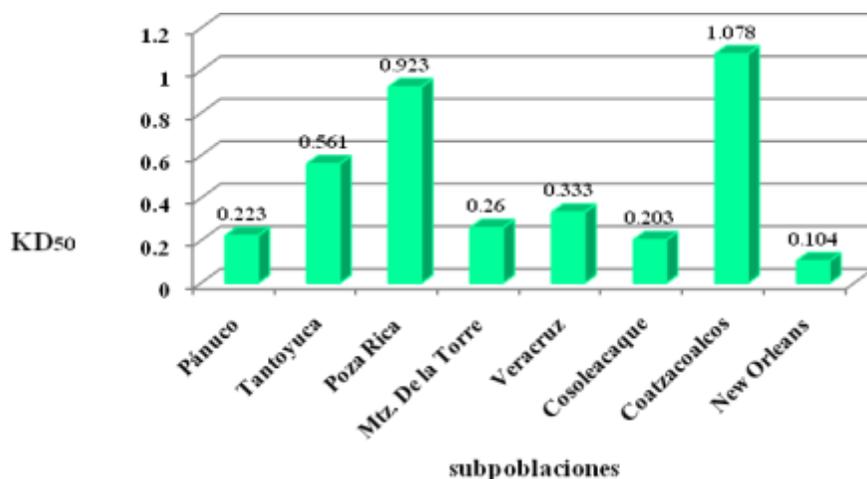
Tabla 16.- Toxicidad con base en DK₅₀¹ a z-cipermetrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACION	DK ₅₀	(LC95%)
Pánuco	0.223 ^c	0.180-0.282
Tantoyuca	0.561 ^b	0.432-0.727
Poza Rica	0.923 ^a	0.790-1.062
Martínez de la Torre	0.260 ^c	0.199-0.339
Veracruz	0.333 ^c	0.259-0.426
Cosoleacaque	0.203 ^c	0.157-0.254
Coatzacoalcos	1.078 ^a	0.937-1.232
New Orleans	0.104 ^d	0.081-0.135

¹DK: dosis Knock-down 50, obtenida a 1 hora de exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente

Como se puede apreciar en la tabla 16, figura 23 los valores de DK₅₀ para este insecticida fueron cercanos o menores a 1 µg/bt, de modo que verificando el patrón de susceptibilidad en orden decreciente tenemos que Coatzacoalcos > Poza Rica > Tantoyuca > Veracruz > Martínez de la Torre > Panuco > Cosoleacaque. Con lo anterior se demuestra una variación total a sus patrones semejantes en los insecticidas cipermetrina y α-cipermetrina.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 23. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a z-cipermetrina.

6.6.2. DL₅₀ y DL₉₅ para z-cipermetrina en subpoblaciones de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

Para este insecticida, la subpoblación menos susceptible fue Coatzacoalcos con una DL₅₀ de 1.364 µg/bt (tabla 17), y la más susceptible fue Panuco con una DL₅₀ de 0.200 µg/bt.

Tabla 17. Toxicidad con base en DL₅₀¹ y DL₉₅ a z-cipermetrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. Aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DL ₅₀	(LC95%)	DL ₉₅	(LC95%)
Pánuco	0.200 ^c	0.158-0.258	2.241 ^b	1.366-4.649
Tantoyuca	0.990 ^a	0.784-1.284	11.973 ^a	6.958-27.360
Poza Rica	1.096 ^a	0.882-1.366	11.730 ^a	6.819-29.481
Martínez de la Torre	0.337 ^b	0.262-0.434	4.017 ^{a,b}	2.560-7.501
Veracruz	0.376 ^b	0.267-0.538	13.570 ^a	5.742-60.069
Cosoleacaque	0.102 ^d	0.060-0.141	1.466 ^{bc}	0.905 - 3.191
Coatzacoalcos	1.364 ^a	1.216-1.545	3.761 ^b	2.932-5.688
New Orleans*	0.051 ^d	0.041-0.064	0.538 ^c	0.362-0.929

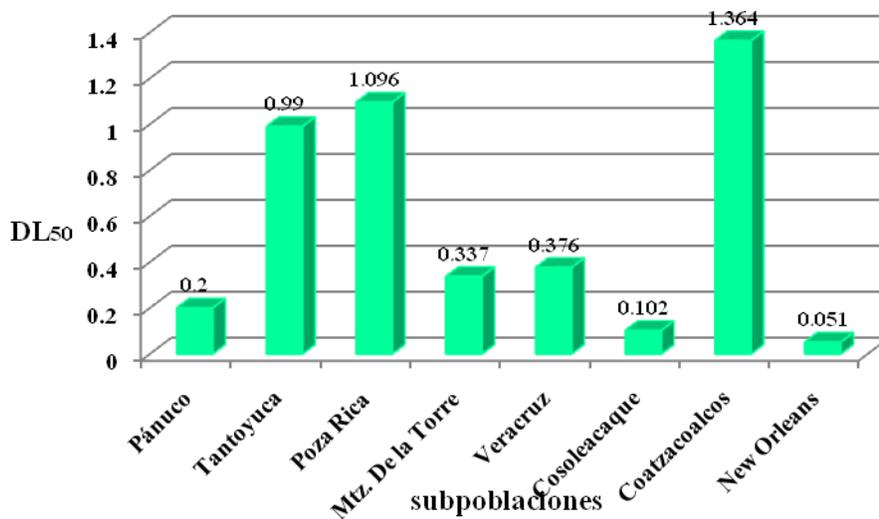
¹DL: dosis letal 50, obtenida a las 24 horas después de la exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente.

Las subpoblaciones de Coatzacoalcos, Poza Rica y Tantoyuca se mostraron igualmente susceptibles a z-cipermetrina, Martínez de la Torre y Veracruz hicieron lo mismo, diferenciándose de las subpoblaciones mencionadas primeramente, mientras que la subpoblación de Panuco y Cosoleacaque, además de no mostrar aumento en su valor DL_{50} , se rebelaron diferente hacia todas las subpoblaciones; la cepa de referencia New Orleans no compartió susceptibilidad hacia alguna subpoblación.

Debido a la recuperación de algunos mosquitos en los bioensayos elaborados con z-cipermetrina, los valores de DL_{50} presentaron aumento respecto a los valores de DK_{50} para las subpoblaciones de Coatzacoalcos (20.1%), Martínez de la Torre (22.8%), Poza Rica (15.8%) y Veracruz (11.4%), siendo la subpoblación de Tantoyuca la que presento un drástico aumento en este valor (43.3%).

Respecto al patrón de susceptibilidad en las subpoblaciones de mosquitos, podemos apreciar en orden decreciente que Coatzacoalcos > Poza Rica > Tantoyuca > Veracruz > Martínez de la Torre > Panuco > Cosoleacaque (Fig. 24), y de este modo concordando con el patrón propuesto para los valores obtenidos en DK_{50} .



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

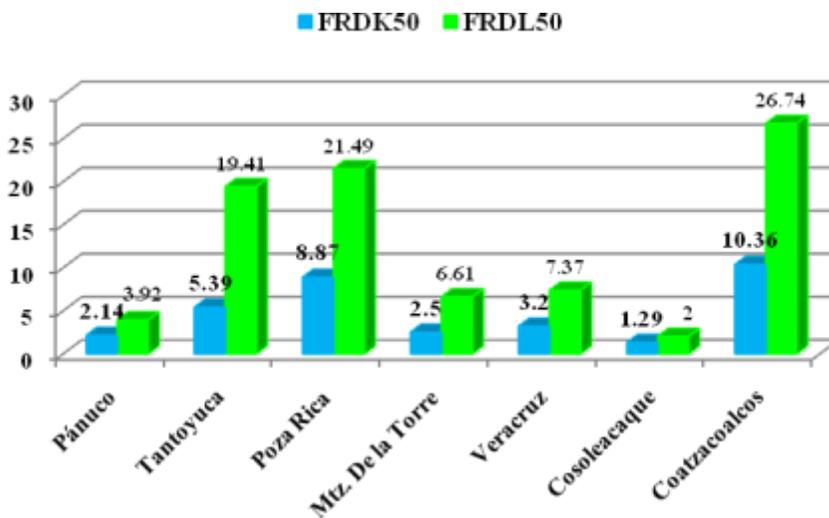
Fig. 24. Dosis letal media (DL_{50}), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a z-cipermetrina.

Para este piretroide, se puede ver que tres de las subpoblaciones fueron resistentes respecto a la DL_{50} : Coatzacoalcos, Poza Rica y Tantoyuca, por su parte las subpoblaciones de Veracruz y Martínez de la Torre aparecieron tolerantes a z-

cipermetrina, singularmente Panuco y Cosoleacaque fueron las subpoblaciones susceptibles.

Los valores obtenidos en DL₉₅ para cada subpoblación fueron variables en número, pero no en significancia, ya que los límites de confianza así lo revelan, sin embargo el rango de susceptibilidad si fue diferente entre las subpoblaciones y la cepa de referencia New Orleans. Siguiendo un patrón de susceptibilidad los valores obtenidos para DL₉₅ en orden decreciente podría citarse que Tantoyuca > Coatzacoalcos > Poza Rica > Martínez de la Torre > Veracruz > Panuco > Cosoleacaque; siendo este patrón muy diferente al presentados por los valores DL₉₅ del insecticida cipermetrina.

6.6.3. Resistencia a z-cipermetrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente. Fig. 25. Factores de resistencia de las diferentes sub-poblaciones de *Ae. aegypti* a z-cipermetrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

Según el FR determinado para DK₅₀, se tiene que solo una subpoblación se registró como resistente a este insecticida, como se observa en la figura 25, se nota que la subpoblación de Coatzacoalcos apenas rebasa el umbral de tolerancia o resistencia moderada (10), las subpoblaciones de Poza Rica y Tantoyuca se muestran como tolerantes o moderadamente resistentes al insecticida, mientras que las subpoblaciones

de Veracruz, Panuco, Martínez de la Torre y Coatzacoalcos son susceptibles a este insecticida respecto a este valor.

Consecuentemente a su susceptibilidad en orden decreciente se tiene que Coatzacoalcos > Poza Rica > Tantoyuca > Veracruz > Martínez de la Torre > Panuco > Cosoleacaque, indicando su semejanza al comparar este patrón con el presentado por valores de DK_{50} solamente, y reiterando su diferencia hacia los generados por cipermetrina y α -cipermetrina.

Con lo anterior se pone en evidencia el papel que juega la recuperación de los mosquitos durante los bioensayos, ya que previamente los valores de DK_{50} mostraban susceptibles a z-cipermetrina las subpoblaciones de Martínez de la Torre y Veracruz, pero al tomar en cuenta la recuperación de los mosquitos, estas mismas subpoblaciones se distinguieron como tolerantes o moderadamente resistentes; por otra parte esto no sucedió con el piretroide α -cipermetrina, ya que los valores de DK_{50} fueron elevados en un principio respecto a la cepa de referencia New Orleans, registrando siempre altos niveles de resistencia. Para este insecticida tenemos en orden decreciente de susceptibilidad que Coatzacoalcos > Poza Rica > Tantoyuca > Veracruz > Martínez de la Torre > Panuco > Cosoleacaque, a diferencia de los patrones visualizados en las comparaciones de FR para los valores de las DL_{50} de los insecticidas cipermetrina y α -cipermetrina, este no presenta semejanza a ninguno de los dos, teniendo subpoblaciones con diferente susceptibilidad.

6.6.4. Tiempo Knockdown medio (TDK_{50}) y Tiempo letal medio (TL_{50}) de los insecticidas piretroides: cipermetrina, α -cipermetrina y z-cipermetrina, en 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* de diferentes localidades del estado de Veracruz.

En el insecticida cipermetrina, se obtuvieron valores de TDK_{50} para la mayoría de las subpoblaciones entre los 21 y 28 minutos, sin embargo la subpoblación de Poza Rica estuvo encima de estos valores con 44 minutos, además según el traslape en los límites de confianza la subpoblación de Poza Rica es diferente a las demás subpoblaciones respecto al valor TDK_{50} . La cepa de referencia New Orleans mostró susceptibilidad compartida con las subpoblaciones de Coatzacoalcos, Martínez de la Torre, Panuco, Tantoyuca y Veracruz. Respecto al valor TL_{50} observamos el mismo

patrón al igual que en TDK_{50} , la subpoblación de Poza Rica se distinguió diferente de las demás subpoblaciones; además fue la subpoblación de Poza Rica quien presentó un mayor tiempo letal medio (2 horas y 18 minutos) a una dosis de $2.5 \mu\text{g}/\text{bt}$, mientras las otras subpoblaciones variaron en un rango de 11 a 26 minutos.

Para el insecticida α -cipermetrina, se obtuvieron valores de TDK_{50} en el rango de 17 a 32 minutos para las subpoblaciones estudiadas, además no mostraron ser diferentes entre sí; la dosis mayor con la que se calculó este dato fue de $1.5 \mu\text{g}/\text{bt}$ para la subpoblación de Coahuila de Zaragoza, mientras que la dosis menor fue de $0.5 \mu\text{g}/\text{bt}$ para la subpoblación de Panuco; por otra parte la cepa de referencia presentó el valor mayor de TDK_{50} , y de esta manera siendo diferente del resto de las subpoblaciones según los límites de confianza. Para los valores de tiempo letal medio, estos fueron muy diferentes en número, en el rango de 6 a 43 minutos, sin embargo el traslape en los límites de confianza indican que no existe diferencia significativa entre los valores obtenidos en las subpoblaciones inclusive sin diferencia a la cepa de referencia New Orleans.

Los valores de TDK_{50} en z-cipermetrina para las subpoblaciones, presentaron una regularidad más evidente respecto a los obtenidos en cipermetrina y α -cipermetrina, ya que los valores estuvieron en el rango de 17 a 27 minutos, existiendo una diferencia de 10 minutos entre estos dos valores. Para la subpoblación de Coahuila de Zaragoza y Veracruz se obtuvieron 27 minutos como TDK_{50} asimismo en la cepa de referencia New Orleans; según los límites de confianza entre las subpoblaciones estudiadas no hubo diferencia significativa entre ellas, ni hacia la cepa New Orleans. En los valores TL_{50} , por el contrario sí existió más diferencia en número, siendo 7 minutos el valor más pequeño obtenido y 26 minutos los valores más elevados, además este último se repitió en dos ocasiones: en la subpoblación de Veracruz y la cepa New Orleans, sin embargo, en vista de la variedad de valores obtenidos en las subpoblaciones todas estas presentaron traslape en el límite de confianza aun con la cepa New Orleans.

Tabla 18. Valores de TDK₅₀ y TL₅₀ en horas y minutos que se obtuvieron en cada una de las subpoblaciones de *Ae. aegypti* ante los diferentes insecticidas piretroides en la dosis más cercana a los valores de DK₅₀ y DL₅₀

c i p e r m e t r i n a				
Subpoblación	TDK50 hr:mn	(LC95%)	TL50 hr:mn	(LC95%)
Pánuco	00:26	(00:22 - 00:29)	00:21	(00:21-00:32)
Tantoyuca	00:20	(00:17 - 00:24)	00:23	(00:19-00:27)
Poza Rica	00:44	(00:41 - 00:48)	00:22	(00:12-00:53)
Mtz. de la Torre	00:21	(00:19 - 00:24)	00:11	(00:05-00:18)
Veracruz	00:25	(00:23 - 00:28)	00:23	(00:19-00:27)
Cosoleacaque	01:07	(00:57 - 1:00)	00:06	(00:04-00:11)
Coatzacoalcos	00:28	(00:25 - 01:30)	00:26	(00:21-00:32)
New Orleans	00:27	(00:25 - 00:29)	00:25	(00:21-00:29)
α - c i p e r m e t r i n a				
Pánuco	00:25	(00:22 - 00:27)	00:20	(00:14-00:20)
Tantoyuca	00:17	(00:14 - 00:27)	00:06 ^a	(00:01-00:11)
Poza Rica	00:29	(00:26 - 00:32)	00:31	(00:20-00:47)
Mtz. de la Torre	00:32	00:30 - 00:35)	00:43	(00:31-01:02)
Veracruz	00:23	(00:20 - 00:26)	00:15	(00:08-00:23)
Cosoleacaque	01:24	(01:02 - 02:23)	00:13	(00:08-00:24)
Coatzacoalcos	00:22	(00:19 - 00:25)	00:12	(00:05-00:20)
New Orleans	00:43	(00:40 - 00:47)	01:13	(00:54-1:43)
z - c i p e r m t r i n a				
Pánuco	00:25	(00:22 - 00:28)	00:21	(00:15-00:28)
Tantoyuca	00:17	(00:14 - 00:20)	00:07	(00:02-00:13)
Poza Rica	00:25	(00:23 - 00:28)	00:17	(00:08-00:27)
Mtz. de la Torre	00:23	(00:20 - 00:27)	00:17	(00:06-00:26)
Veracruz	00:27	(00:25 - 00:30)	00:26	(00:19-00:35)
Cosoleacaque	01:12	(00:58 - 00:01)	00:07	(00:04-00:16)
Coatzacoalcos	00:27	(00:24 - 00:30)	00:25	(00:17-00:34)
New Orleans	00:27	(00:25 - 00:30)	00:26	(00:23-00:30)

La cipermetrina, uno de los piretroides más empleados con fines sanitarios, está compuesta por ocho isómeros distintos y en el mercado existen nuevos insecticidas piretroides con la estructura molecular de la cipermetrina, pero con mayor contenido de los isómeros más activos (Zerba *et al.*, 1997), al igual que α -cipermetrina y z-cipermetrina. En efecto, se puede observar que las KD_{50} y DL_{50} son mayores en muchas de las poblaciones estudiadas para el insecticida cipermetrina en comparación a los insecticidas α -cipermetrina y z-cipermetrina.

Rodríguez *et al.* (1999), al estudiar una cepa de *Ae. aegypti* de Santiago de Cuba sometida a diferentes insecticidas, entre ellos cipermetrina, obtuvo una CL_{50} de 0.00941 mg/mL, con lo cual la cepa se mostró moderadamente resistente (FR 7.23) respecto a la cepa de referencia Rockefeller.

Siguiendo con la población de *Ae. aegypti* en Santiago de Cuba, Montada *et al.* (2007) comprobó los resultados obtenidos por Rodríguez *et al.* 1999 para el insecticida cipermetrina, en el estadio larval se comportó susceptible (FR₉₀ 3.3), mientras en adultos de este mosquito se encontró moderada resistencia (FR₉₀ 7.2) respecto a la cepa Rockefeller.

Al igual que este trabajo, Pereira *et al.* (2005) demuestra en su investigación la resistencia de *Ae. aegypti* provenientes de distintas municipalidades de Brasil al insecticida cipermetrina colectados en dos periodos sucesivos (2001,2002, 2003). Sin embargo estos investigadores utilizaron una dosis de 8 μ g/bt para realizar todos los bioensayos, en vista de que fue la dosis que mató el 100% de la cepa de referencia Rockefeller tras 24 horas, sin presentar recuperación. Cerca del 30% de recuperación fue notado en los mosquitos de Itaperuna y Nova Iguaçu, así como el 46% en la población de Três Rios tras 24 horas, mientras en este estudio el valor máximo de recuperación fue de 25.45% en la población de Poza Rica para el insecticida z-cipermetrina.

En Panamá, también se ha verificado el estado de susceptibilidad/resistencia en *Ae. aegypti*, el trabajo realizado por Bisset *et al.* (2003) en dos poblaciones del mosquito (Rio Abajo y Victoriano Lorenzo) revela susceptibilidad en ambas al insecticida cipermetrina, tanto en larvas y adultos, esto al obtener valores de $FR_{CL50} < 5$.

En un trabajo realizado por Grieco *et al.* (2007), llevaron a cabo una investigación para cuantificar y describir la acción de químicos así como la respuesta de mosquitos hacia estas acciones, utilizando *Ae. aegypti* provenientes de Tailandia. En el estudio se utilizó DDT, α -cipermetrina y dieldrin. Para el insecticida α -cipermetrina se le encontró que presentaba un efecto significativo en irritancia de contacto ($p < 0.05$); además ofreció altos niveles en efecto de derribo (knock-down) tras una hora de exposición en el rango de 72-98% así como un 54% de mortalidad tras 24 de exposición en concentración de 0.25 nmoles/cm² y 63% en 2.5 nmoles/cm². Por otra parte α -cipermetrina, no tuvo un efecto satisfactorio de repelencia.

Al utilizar el insecticida α -cipermetrina en poblaciones de mosquitos veracruzanos, también se pudo comprobar un excelente resultado respecto al efecto knock-down, teniendo valores pequeños de KD₅₀ al compáralos con los obtenidos en cipermetrina y z-cipermetrina, asimismo fueron pequeños los valores DL₅₀, pero al compararlos con la cepa de referencia New Orleans las poblaciones de mosquitos estudiadas resultaron resistentes.

Trabajando con el insecticida α -cipermetrina (30 mg/m²) y de otros grupos, Huong *et al.* (2004) verificaron el nivel de susceptibilidad/resistencia de *Ae. aegypti* en Viet Nam, utilizando la metodología propuesta por la WHO así como sus criterios para adjudicar títulos de susceptibilidad en las poblaciones estudiadas. De este modo se encontraron resistentes 6 poblaciones de entre 22 poblaciones estudiadas, esto en el sur y partes altas del centro de Viet Nam.

Thanispong *et al.* (2008) evaluaron la susceptibilidad/resistencia en diferentes poblaciones de *Ae. aegypti* y *Culex quinquefasciatus* en Tailandia, utilizando piretroides y organoclorados. Tomando en cuenta los criterios y metodología de la WHO, comprobaron que 4 poblaciones fueron susceptibles a α -cipermetrina (concentración operacional de campo 0.05%), mientras 2 de ellas fueron tolerantes a este insecticida.

En este trabajo, utilizando poblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz solo se verificaron 6 de estas, todas resistentes, número igual que encontró Huong *et al.* (2004) en su investigación de una muestra de 22 poblaciones, asimismo Thanispong *et al.* (2008) observó 2 poblaciones tolerantes o moderadamente resistentes a α -cipermetrina en una muestra de 6 poblaciones.

Respecto al insecticida z-cipermetrina, aun no se han publicado extensos documentos que registren la susceptibilidad/resistencia presentadas en *Ae. aegypti*, lo mas cercano que se tiene es la investigación elaborada por Lloyd *et al.*, (2002) en la cual encontraron efecto repelente en este insecticida frente a mosquitos del genero *Ochlerotatus*, esto al ser una plaga para el ganado.

Por otra Parte Rothwell *et al.* (1998) informan un satisfactorio control de *Haematobia irritans exigua* (mosca del cuerno) hasta por 4 semanas utilizando z-cipermetrina en forma tópica en ganado, esto a una dosis de 2.5 mg/kg, inclusive fue mejor a los resultados obtenidos con el piretroide deltametrina.

Rothwell *et al.* (1999) en una investigación consecuente, también detecto que el uso de z-cipermetrina como tratamiento terapéutico contra piojos del ganado bovino era capaz de controlarlos, a dosis de 1 y 2.5 mg/kg, sin embargo el tratamiento con este insecticida fue reportado igual o marginalmente mayor al obtenido con deltametrina.

En las poblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz se tienen resultados alentadores con el insecticida z-cipermetrina, encontrando solamente una población resistente respecto al valor KD_{50} y tres para los valores DL_{50} .

6.7 Susceptibilidad a λ -cialotrina.

6.7.1 DK_{50} para λ -cialotrina en las subpoblaciones de *Aedes aegypti* (L) de las diferentes localidades.

Las subpoblaciones de *Aedes aegypti* de las diferentes localidades del estado de Veracruz, mostraron ser susceptibles al insecticida piretroide λ -cialotrina, como se puede apreciar en la tabla 19 de la más susceptible a la menos susceptible se mostraron Panuco, Martínez de la Torre, Tantoyuca, Cosoleacaque, Veracruz, Poza Rica y Coatzacoalcos.

Como se menciona con anterioridad, las subpoblaciones más susceptibles fueron Panuco y Tantoyuca con un valor de DK_{50} de 0.0138 y 0.0162 respectivamente, no se encontró diferencia significativa entre ellas (según los límites fiduciales), pero si para el resto de las subpoblaciones (tabla 18). En el caso de la subpoblación menos susceptible fue Coatzacoalcos con un valor de DK_{50} de 0.120, en la cual si hubo una diferencia significativa pero solo con algunas subpoblaciones como Cosoleacaque, Tantoyuca, Panuco y New Orleans.

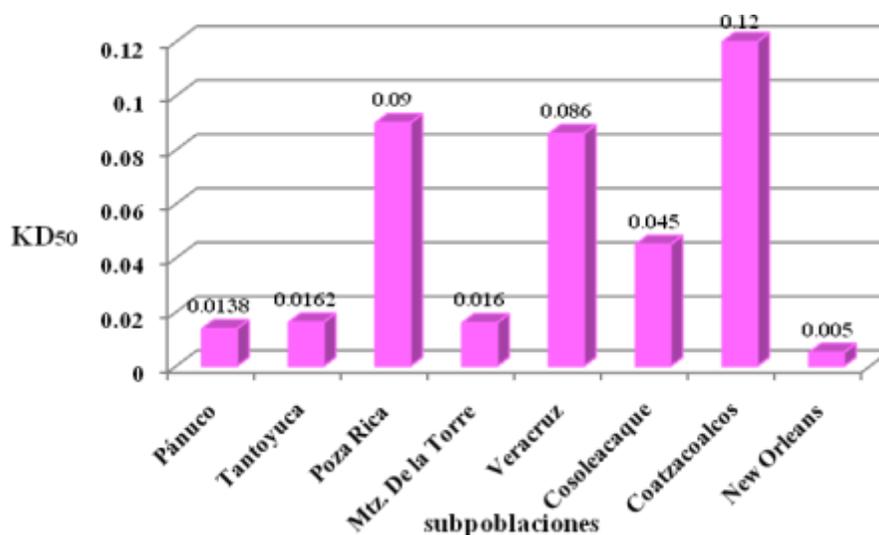
Tabla 19. Toxicidad con base en DK_{50}^1 a λ -cialotrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACION	DK_{50}	(LC95%)
Pánuco	0.0138 ^c	0.0099-0.0191
Tantoyuca	0.0162 ^c	0.0096-0.0285
Poza Rica	0.09 ^a	0.0700-0.1200
Martínez de la Torre	0.016 ^c	0.0140-0.0190
Veracruz	0.086 ^a	0.0600-0.1200
Cosoleacaque	0.045 ^b	0.0300-0.0600
Coatzacoalcos	0.120 ^a	0.0800-0.1800
New Orleans	0.005 ^d	0.0040-0.0080

¹DK: dosis Knock-down 50, obtenida a 1 hora de exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente

Al comparar la susceptibilidad de las subpoblaciones con la cepa de referencia New Orleans, como se puede apreciar en la (figura 26), ninguna subpoblación presentó susceptibilidad compartida con la cepa New Orleans.



^aCriterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 26. Dosis Know-down media (DK50), de las diferentes sub-poblaciones de *Ae. aegypti* a λ -cialotrina.

Si comparamos la susceptibilidad de las subpoblaciones con la cepa de referencia New Orleans, como se puede apreciar en la figura 27, hay dos subpoblaciones más susceptibles, que fueron Tantoyuca y Panuco con un valor de DK_{50} 0.18 y 0.09, mientras que la cepa de New Orleans, obtuvo un valor de DK_{50} de 0.21, la única subpoblación que no se encontró diferencia significativa según los límites fiduciales es Tantoyuca, sin embargo si mostro diferencia significativa New Orleans con Panuco.

6.7.2. DL_{50} y DL_{95} para λ -cialotrina en subpoblaciones de *Aedes aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

Al igual que la DK_{50} , la DL_{50} las subpoblaciones se mostraron igualmente susceptibles a λ -cialotrina, como se puede apreciar en la tabla 20, figura 27 de la más susceptible a la menos susceptible se mostraron Tantoyuca, Martínez de la Torre, Panuco, Coatzacoalcos, Poza Rica, Cosoleacaque y Veracruz, al comparar con la DK_{50} , se observa que no sigue el mismo patrón de susceptibilidad al principio ya que en la DK_{50} primero es Panuco seguido por Martínez de la Torre; en las demás subpoblaciones si se sigue el mismo patrón de susceptibilidad.

Al igual que la DK_{50} , la subpoblación menos susceptible fue Coatzacoalcos, con un valor de DL_{50} 0.138, el cual se encontró diferencia significativa entre las subpoblaciones, excepto en Poza Rica, ya que no hay diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales.

Al igual que la DK_{50} , la subpoblación menos susceptible fue Coatzacoalcos, con un valor de DL_{50} 0.138, el cual se encontró diferencia significativa entre las subpoblaciones, excepto en Poza Rica, ya que no hay diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales.

Al comparar la susceptibilidad de las subpoblaciones con la cepa de referencia New Orleans, estas subpoblaciones mostraron diferencia significativa con la cepa de referencia (figura 27), excepto Tantoyuca la cual no presentó diferencia significativa.

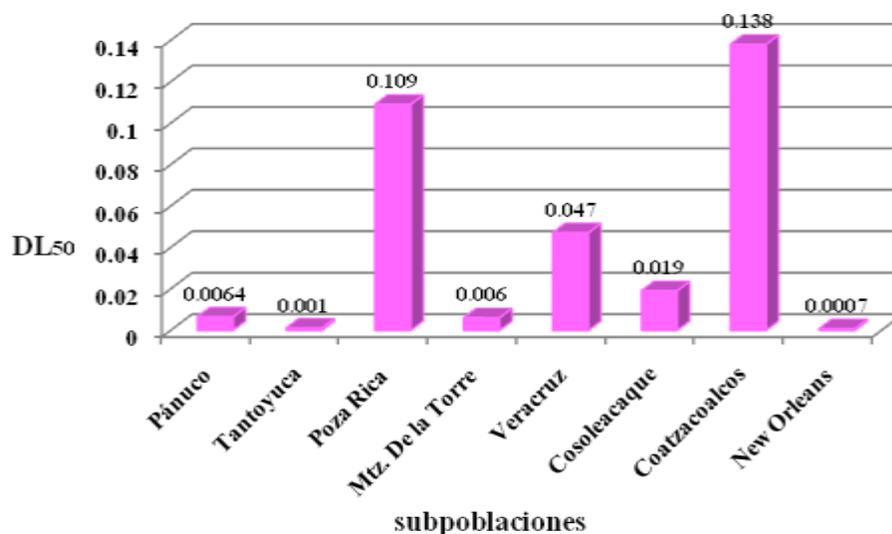
Para los valores de DL_{95} , todas las subpoblaciones se muestran igualmente susceptibles a λ -cialotrina (menos la cepa de New Orleans), ya que no se encontró diferencia significativa según el traslape de los límites fiduciales.

Tabla 20. Toxicidad con base en DL_{50}^1 y DL_{95} a sobre adultos de λ -cialotrina 7 subpoblaciones de *Ae. Aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DL_{50}	(LC95%)	DL_{95}	(LC95%)
Pánuco	0.0064 ^{ab}	0.0032-0.114	20.782 ^a	3.966-352.924
Tantoyuca	0.001 ^{de}	0.0004-0.002	18.982 ^a	3.106-395.351
Poza Rica	0.109 ^a	0.081-0.143	3.126 ^a	1.731-7.502
Martínez de la Torre	0.006 ^d	0.0042-0.0074	0.175 ^{ab}	0.103 - 0.381
Veracruz	0.047 ^b	0.029-0.073	6.209 ^a	2.513-36.248
Cosoleacaque	0.019 ^{bc}	0.010-0.033	12.124 ^a	3.310-107.578
Coatzacoalcos	0.138 ^a	0.084-0.243	20.378 ^a	5.747-181.031
New Orleans*	0.0007 ^{de}	0.0002-0.001	1.684 ^a	0.323-49.052

¹DL: dosis letal 50, obtenida a las 24 horas después de la exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente.



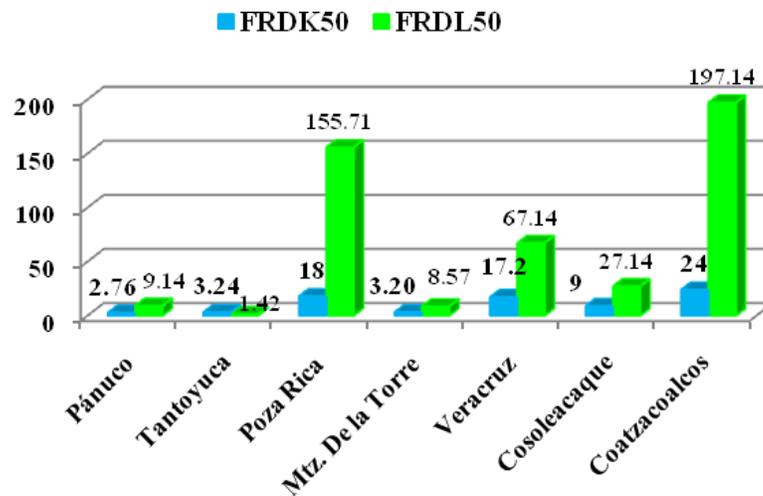
^a Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 27. Dosis letal media (LD_{50}), de las diferentes sub-poblaciones de *Ae. aegypti* a λ -cialotrina.

6.7.3. Resistencia a λ -cialotrina en las subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.

Como se puede mostrar en la figura 28, no todas las subpoblaciones se mostraron resistentes, las subpoblaciones que se mostraron resistentes fueron: Coatzacoalcos (24),

Poza Rica (28) y Veracruz (17.2), entre estas subpoblaciones no se encontró diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales ($p=0.05$). Solo una subpoblación se mostró tolerante o con resistencia moderada, la cual fue Cosoleacaque (9). Y por último las subpoblaciones que se mostraron susceptibles fueron: Panuco (2.76) y Tantoyuca (3.24), entre estas subpoblaciones tampoco se encontró diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales ($p=0.05$).



^a Criterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 28. Factores de resistencia de las diferentes sub-poblaciones de *Ae. aegypti* a λ -cialotrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

En la figura 28, encontramos que no todas las subpoblaciones se mostraron resistentes, las subpoblaciones en donde se presentó resistencia fueron: Coatzacoalcos (197.14), Poza Rica (155.71), Veracruz (67.14) y Cosoleacaque (27.14), al comparar estas subpoblaciones encontramos que entre Coatzacoalcos y Poza Rica no se encontró diferencia significativa entre ellas, sin embargo con Veracruz y Cosoleacaque si hay diferencia significativa, mientras en que entre estas subpoblaciones (Veracruz y Cosoleacaque) no se encontró tampoco diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales ($p=0.05$). Solo una subpoblación se mostró tolerante o con resistencia moderada, la cual es Panuco (9.14). Y por último la subpoblación que se mostró susceptible es: Tantoyuca (1.42).

Al comparar los factores de resistencia de DK_{50} y DL_{50} , nos mostraron que en la DK_{50} las subpoblaciones que tardaron más en el derribo fueron Poza Rica, Veracruz y Coatzacoalcos, entre estas subpoblaciones no se encontró diferencia significativa con base en los traslapes de los límites fiduciales ($p=0.05$), mientras que para DL_{50} las subpoblaciones más resistentes fueron Coatzacoalcos, Poza Rica, Veracruz y Cosoleacaque, entre estas subpoblaciones si se encontró diferencia significativa entre ellas, según con base en los traslapes de los límites fiduciales ($p=0.05$). En la subpoblación que fue tolerante o con resistencia moderada en DK_{50} es Cosoleacaque mientras que en la DL_{50} es Panuco. La subpoblación que fue susceptible para la DK_{50} fueron Martínez de la Torre, Tantoyuca y Panuco, entre estas subpoblaciones no se encontró diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales ($p=0.05$). Mientras que en la DL_{50} la subpoblación susceptible fue Tantoyuca.

La subpoblación más resistente al efecto de derribo fue Coatzacoalcos para lambda-dialotrina; al igual que para DL_{50} .

En el caso de lambda-dialotrina la subpoblación que presentó mayor tiempo de derribo fue Coatzacoalcos con 32.59 minutos a una dosis de 3 μ /botella, y la subpoblación que obtuvo el mayor tiempo de mortalidad, fue Veracruz con un tiempo de 35.31 minutos, a una dosis de 1.5 μ /botella; la subpoblación que obtuvo menor tiempo de derribo fue Cosoleacaque con 21.67 minutos, la subpoblación que obtuvo el menor tiempo de mortalidad fue también Cosoleacaque con 16.66 minutos, en una dosis de 1.5 μ /botella.

6.8. Susceptibilidad a bifentrina.

6.8.1 DK_{50} para bifentrina en subpoblaciones de *Ae. aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

La dosis más alta que se utilizó fue de 20 μ g/botella en la subpoblación de Veracruz para obtener un 95 % de mortalidad, mientras que para Poza Rica y Cosoleacaque se utilizó la dosis más alta 3 μ g/botella para obtener como máximo 93% y 88% de mortalidad respectivamente. Para Coatzacoalcos y Panuco se utilizaron como dosis más altas de 1.5 μ g/botella teniendo un 88% y 85% de mortalidad, respectivamente. Para Tantoyuca la dosis más alta fue de 1 μ g/botella teniendo un 84%

de mortalidad. La dosis más pequeña utilizada para bifentrina fue de 0.001µg/botella en la sub-población de Panuco obteniendo un 11% de mortalidad.

Anteriormente, se mencionó que las subpoblaciones más susceptibles fueron Panuco, Martínez de la Torre y Tantoyuca con un valor de DK_{50} de 0.09, 0.153 y 0.18 respectivamente, no se encontró diferencia significativa entre ellas, pero si para el resto de las subpoblaciones (tabla 21). La subpoblación menos susceptible fue Veracruz con un valor de DK_{50} de 4.40, diferente significativamente a los valores obtenidos para el resto de las subpoblaciones ($p=0.05$).

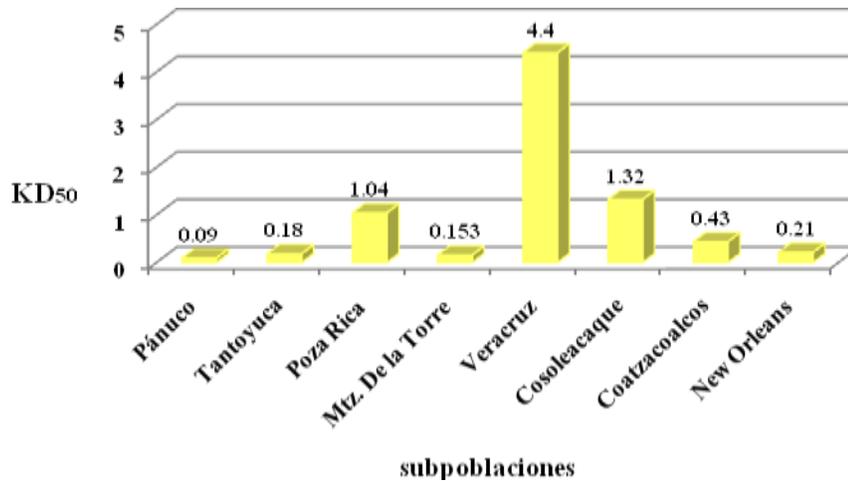
Tabla 21. Toxicidad con base en DK_{50} ¹ a bifentrina sobre adultos de 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Veracruz.

SUBPOBLACIÓN	DK_{50}	(LC95%)
Pánuco	0.09 ^c	0.06-0.14
Tantoyuca	0.18 ^d	0.14-0.23
Poza Rica	1.04 ^b	0.90-1.20
Martínez de la Torre	0.15 ^d	0.127-0.28
Veracruz	4.40 ^a	3.87-4.97
Cosoleacaque	1.32 ^b	1.06-1.66
Coatzacoalcos	0.43 ^c	0.31-0.60
New Orleans	0.21 ^d	0.17-0.28

¹DK: dosis Knock-down 50, obtenida a 1 hora de exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente

Como se aprecia en la figura 29, al comparar la susceptibilidad de las subpoblaciones con la cepa de referencia New Orleans, hay tres subpoblaciones más susceptibles, que fueron Tantoyuca, Martínez de la Torre y Panuco con un valor de DK_{50} 0.18, 0.153 y 0.09, mientras que la cepa New Orleans, obtuvo un valor de DK_{50} de 0.21, la única subpoblación en la que no se encontró diferencia significativa según los límites fiduciales es Tantoyuca, sin embargo si mostro diferencia significativa New Orleans con la subpoblación Pánuco.



^a Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 29. Dosis Know-down media (DK₅₀), de las diferentes sub-poblaciones de *Ae. aegypti* a bifentrina.

6.8.2. DL₅₀ y DL₉₅ para bifentrina en subpoblaciones de *Aedes aegypti* de 7 localidades del estado de Veracruz.

La DL₅₀ y DL₉₅ se obtienen después de 24 horas de haber sido expuestas las subpoblaciones al insecticida, ya que hay mosquitos que se recuperaron en el lapso en el que se determinó DK₅₀, por lo tanto pueden variar los resultados, entre DK₅₀ y DL₅₀. Sin embargo para bifentrina todas las subpoblaciones aumentaron su porcentaje de mortalidad, excepto Tantoyuca, que conservó su porcentaje y Coatzacoalcos disminuyó de un 88.8% a un 80%. Para bifentrina algunas subpoblaciones se llegaron a recuperar a las 24 horas. Tal es el caso de Poza Rica, Veracruz, Tantoyuca, Coatzacoalcos y Cosoleacaque; oscilando entre los valores de 2.22% a 5.55%.

Al igual que la DK₅₀, la DL₅₀ las subpoblaciones se muestran igualmente susceptibles a bifentrina, como se puede apreciar en la tabla 22 de la más susceptible a la menos susceptible se mostraron Panuco, Martínez de la Torre, Tantoyuca, Coatzacoalcos, Poza Rica, Cosoleacaque y Veracruz, al comparar con la DK₅₀, se observa que sigue el mismo patrón de susceptibilidad.

Tabla 22. Toxicidad con base en DL_{50} ¹ y DL_{95} a sobre adultos de bifentrina 7 subpoblaciones de *Ae. Aegypti* del estado de Veracruz.

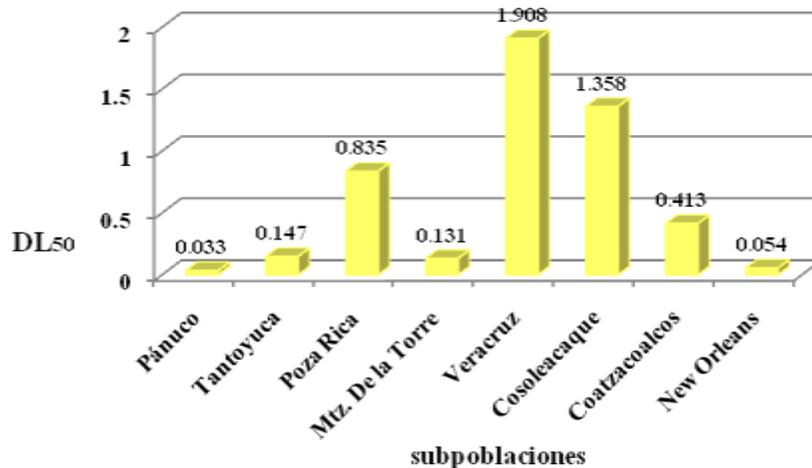
<i>SUBPOBLACIÓN</i>	DL_{50}	(<i>LC95%</i>)	DL_{95}	(<i>LC95%</i>)
Pánuco	0.033 ^c	0.019-0.056	45.245 ^a	12.476-320.316
Tantoyuca	0.147 ^d	0.113-0.188	1.728 ^b	1.042-3.857
Poza Rica	0.835 ^b	0.737-0.947	3.754 ^b	2.988-5.053
Martínez de la Torre	0.131	0.110-0.153	0.96 ^b	0.655 - 1.662
Veracruz	1.908 ^a	1.508-2.276	8.572 ^a	6.902-11.689
Cosoleacaque	1.358 ^a	1.082-1.722	18.552 ^a	10.597-45.188
Coatzacoalcos	0.413 ^c	0.281-0.608	12.910 ^a	5.634-53.899
New Orleans*	0.054 ^e	0.040-0.071	0.856 ^b	0.564-1.522

¹DL: dosis letal 50, obtenida a las 24 horas después de la exposición al piretroide, diferente letra indica diferencia significativa basado en el traslape de los límites de confianza.

Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa tolerante o resistente moderadamente y > 10 cepa resistente.

Así como para la DK_{50} , las subpoblaciones menos susceptibles fueron Veracruz y Cosoleacaque, con un valor de 1.905 y 1.358, no se encontró diferencia significativa entre ellas (según los límites fiduciales), también es el caso entre las subpoblaciones de Martínez de la Torre y Tantoyuca pero si con el resto de las subpoblaciones. Sin embargo Panuco, Tantoyuca, Poza Rica y Coatzacoalcos si muestran diferencia significativa entre ellas.

Como se aprecia en la figura siguiente, al comparar la susceptibilidad de las subpoblaciones con la cepa de referencia New Orleans, todas presentaron valores diferentes con respecto a la cepa de referencia, , excepto la subpoblación de Panuco, la cual se mostró significativamente igual de susceptible, según los límites fiduciales.



^a Criterio de la WHO: FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente.

Fig. 30. Dosis letal media (LD₅₀), de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a bifentrina.

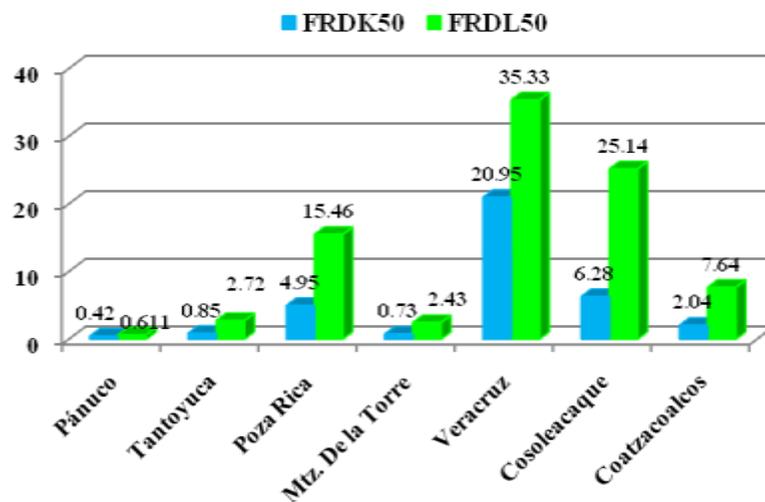
Para los valores de DL₉₅, las subpoblaciones que se mostraron menos susceptibles fueron Panuco, Cosoleacaque, Coatzacoalcos y Veracruz, las cuales no se encontraron diferencia significativa con base en el traslape de los límites de confianza, sin embargo las subpoblaciones que se presentaron más susceptibles New Orleans, Martínez de la Torre, Tantoyuca y Poza Rica, estas sub-poblaciones no muestran diferencia significativa con base en el traslape de los límites de confianza.

6.8.3. Resistencia a bifentrina en subpoblaciones de *Ae. aegypti* de las diferentes localidades con base en una cepa susceptible “New Orleans”.

Al comparar el FR de DK₅₀ con DL₅₀, nos muestra que la de DK₅₀ es el tiempo en que el insecticida derribo al mosquito, mientras que la DL₅₀ es el tiempo el que el insecticida mata al mosquito. Las subpoblaciones que se mostraron resistentes para el FR de DK₅₀ fue Veracruz, mientras que en el de DL₅₀, también fueron Veracruz, Cosoleacaque y Poza Rica, al comparar estas subpoblaciones, se encontró que entre Veracruz y Cosoleacaque no hubo diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales (p=0.05). La que fue tolerante o con resistencia moderada en DK₅₀ es Cosoleacaque mientras que en la DL₅₀ es Coatzacoalcos. Por último las subpoblaciones que se mostraron susceptibles en DK₅₀ fueron Panuco, Martínez de la Torre Tantoyuca,

Coatzacoalcos y Poza Rica, entre estas subpoblaciones si hubo diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales ($p=0.05$). Y en DL_{50} , solo son susceptibles Panuco, Martínez de la Torre y Tantoyuca al comparar estas subpoblaciones no muestran que si se encontró diferencia significativa con base en el traslape de los límites fiduciales ($p=0.05$).

Como se observa en la figura 31, no todas las subpoblaciones se mostraron resistentes, solo la subpoblación de Veracruz (20.95) mostró resistencia, así mismo solo la subpoblación de Cosoleacaque (6.28), mostró tolerancia o resistencia moderada; por último las subpoblaciones que se mostraron susceptibles fueron: Poza Rica (4.95), Coatzacoalcos (2.04), Tantoyuca (0.85), Martínez de la Torre (0.73) y Panuco (0.42), por lo tanto si se encontró diferencia significativa con base en el traslape de los límites de confianza ($p=0.05$).



^aCriterio de la WHO : FR < 5 cepa susceptible, 5-10 cepa con resistencia moderada y >10 cepa resistente

Fig. 31. Factores de resistencia de las diferentes subpoblaciones de *Ae. aegypti* a bifentrina con base en la cepa susceptible New Orleans.

6.8.4. Tiempo Knockdown medio (TDK_{50}) y Tiempo letal medio (TL_{50}) de los insecticidas piretroides: λ -cialotrina y bifentrina, en 7 subpoblaciones de *Ae. aegypti* de diferentes localidades del estado de Veracruz.

En bifentrina la subpoblación de Coatzacoalcos fue la que obtuvo un tiempo mayor de derribo de 40.32 minutos, la misma subpoblación que obtuvo el mayor tiempo de derribo, también obtuvo mayor tiempo con 57.24 minutos, a una dosis de 3 μ /botella; mientras que la subpoblación que obtuvo menor tiempo de derribo fue Poza Rica con 28.42 minutos, y la subpoblación que obtuvo el menor tiempo de mortalidad fue también Poza Rica con un tiempo de 24 minutos, en una dosis de 1 μ /botella.

Tabla 23. Valores de TDK₅₀ y TL₅₀ en horas y minutos que se obtuvieron en cada una de las subpoblaciones de *Ae. aegypti* ante los diferentes insecticidas piretroides en la dosis más cercana a los valores de DK₅₀ y DL₅₀.

λ - c i a l o t r i n a				
Subpoblación	TDK ₅₀ min	(LC95%)	TL ₅₀ min	(LC95%)
Pánuco	00:27	00:24 - 00:30	00:49	00:31-01:19
Tantoyuca	00:29	00:25 - 00:32	00:49	00:36-01:06
Poza Rica	00:29	00:26 - 00:32	00:24	00:15-00:30
Mtz. de la Torre	01:34	01:11 - 01:58	02:23	01:71-03:10
Veracruz	00:31	00:27- 00:36	00:32	00:27-00:37
Cosoleacaque	00:22	00:19 -00:24	00:57	00:38-01:28
Coatzacoalcos	00:32	00:29 - 00:36	00:39	00:31-00:49
New Orleans	00:23	00:21 - 00:26	00:27	00:25-00:30
b i f e n t r i n a				
Pánuco	00:34	00:30 - 00:38	00:23	00:14-00:35
Tantoyuca	00:36	00:33 - 00:39	00:28	00:22-00:36
Poza Rica	00:28	00:24 - 00:31	00:28	00:17-00:40
Mtz. de la Torre	00:58	00:54 - 01:05	01:34	01:00-1.54
Veracruz	00:31	00:28 - 00:35	00:35	00:24-00:50
Cosoleacaque	00:33	00:31. - 00:36	00:22	00:9-00:36
Coatzacoalcos	00:40	00:37 - 00:43	00:17	00:11-00:22
New Orleans	00:20	00:21 -00:26	00:20	00:16-00:24

En comparación con diferentes estudios que determinan concentraciones letales medias, los resultados obtenidos con este trabajo, manejan dosis más altas para los dos insecticidas (bifentrina y λ -cialotrina). Por ejemplo un estudio de Bisset et al. (2003) en Panamá sobre poblaciones de *Aedes aegypti* (L) para determinar la susceptibilidad frente a lambdacialotrina (también a deltametrina, b cipermetrina y ciflutrina) en dos municipios diferentes, Rio abajo y Victoriano Lorenzo, en Rio abajo se obtuvo valores de CL_{50} de 0.0047 mg/L, en Victoriano Lorenzo se obtuvo un valor de CL_{50} de 0.0003mg/L (mg/L es equivalente a 1 μ g/mL), y en Factor de resistencia en Rio abajo fue de 1.56 y en Victoriano Lorenzo obtuvo un valor de 0.35, mientras que para nuestras subpoblaciones de Veracruz, las DL50 obtenidas para este mismo insecticida oscilaron entre 0.0138 a 0.120 μ g/botella (es igual que μ g/mL) y con el factor de resistencia oscilaron entre 2.76 a 24.

Rodríguez *et al.* (2003) en su estudio sobre la resistencia cruzada que provoca temefos frente a otros insecticidas organofosforados y piretroides como: malatión y lambdacialotrina frente a poblaciones de *Aedes aegypti* (L) de Cuba, se observó que temefos causo resistencia cruzada negativa frente a malatión, sin embargo no fue así para lambdacialotrina la cual aumento su FR 8.10 antes de ser seleccionada bajo presión con temefos, hasta 283.75 veces en comparación con la cepa susceptible Rockefeller, para la CL_{50} . Si se comparan las dosis en las cuales se mato la mitad de la subpoblación, con la DL_{50} que se obtuvo para lambdacialotrina en Veracruz, los mosquitos mostraron dosis más bajas, siendo estas entre 0.0064 y 0.138 mg/mL, mientras que para las de Santiago de Cuba se obtuvieron dosis de 0.0081 (San F0), 0.013 (San F3) y 0.019 mg/mL (San F5), sin embargo la cepa susceptible Rockefeller obtuvo una CL_{50} de 0.0010 mg/L muy alta a la que se obtuvo en la cepa New Orleans que se utilizo como cepa de referencia en el presente estudio el cual su DL_{50} fue de 0.0007.

Para el insecticida bifentrina, no se han reportado pruebas de susceptibilidad y/o resistencia en mosquitos de *Aedes aegypti* (L), sin embargo si se ha utilizado este insecticida para controlar la mosquita blanca, que al combinarse este insecticida con un organofosforado, presenta resistencia en estas mosquitas, para el control de plagas del racimo en el cultivo de banano y para medir la resistencia en ácaros.

6.9. Análisis concentrado de resistencia de derribo (knockdown) y resistencia postrecuperación.

Valores de dosis-mortalida knockdown (KD_{50}) y dosis postrecuperación a las 24h (DL_{50}) se muestran en la figura 32.

Resistencia al derribo RR_{DK50} . Todas las sub-poblaciones mostraron resistencia al derribo ($RR_{DK50} > 10$) a alfa-cipermetrina, superando valores de 100X en las sub-poblaciones: Poza Rica (289X), Coatzacoalcos (272X), M. de la Torre (226X) y Veracruz (153X) y menores valores para las sub-poblaciones Panuco (88X) y Tantoyuca (29X). Cinco de las siete sub-poblaciones mostraron resistencia a d-fenotrina, siendo el valor más alto de RR_{DK50} para la sub-población Poza Rica (62X) seguido por Veracruz (58X), Coatzacoalcos (42X), M. de la Torre (32X) y Panuco (18X). Las sub-poblaciones Tantoyuca y Cosoleacaque exhibieron resistencia moderada a d-fenotrina (7X y 9X, respectivamente). Para lambda-cialotrina tres de las siete sub-poblaciones analizadas para este insecticida mostraron resistencia al derribo, siendo mayor para la sub-población Coatzacoalcos (24X) seguida por Poza Rica (18X) y Veracruz (17X), resistencia moderada se encontró en las sub-poblaciones de Cosoleacaque (9X) M. de la Torre (8.57X) y las sub-poblaciones Panuco y Tantoyuca se mostraron susceptibles a este insecticida. Dos sub-poblaciones mostraron resistencia a permetrina: Poza Rica (18X) y M. de la Torre (12X), las sub-poblaciones Coatzacoalcos (7X), Veracruz (6X) y Panuco (5X) exhibieron resistencia moderada a este insecticida. Solo las sub-poblaciones Cosoleacaque y Tantoyuca fueron susceptibles a permetrina. Situación similar se presentó para el insecticida cipermetrina, registrándose resistencia para las sub-poblaciones Poza Rica (15X) y M. de la Torre (11X), resistencia moderada en las sub-poblaciones Coatzacoalcos y Cosoleacaque, ambas con valor de RR_{DK50} de 5X. Solo la sub-población Coatzacoalcos exhibió resistencia a z-cypermethrin alcanzando el valor de RR_{DK50} de 10, resistencia moderada para este insecticida lo exhibieron las sub-poblaciones Poza Rica (9X) y Tantoyuca (5X), las sub-poblaciones Panuco, M. de la Torre y Veracruz se mostraron susceptibles a este insecticida. Para bifentrina, sólo la sub-población de Veracruz exhibió resistencia (21X), resistencia moderada la sub-población Cosoleacaque (6X) y Poza Rica (5X) y susceptibles las sub-poblaciones:

Panuco, Tantoyuca, M. de la Torre y Coatzacoalcos con valores de $RR_{DK50} \leq 2$. Ninguna de las sub-poblaciones estudiadas mostró resistencia ($RR_{DK50} > 10$) a deltametrina, solo las sub-poblaciones Coatzacoalcos (8X), Veracruz (7X) y Tantoyuca (7X) exhibieron resistencia moderada. Las sub-poblaciones Panuco, M. de la Torre y Cosoleacaque se mostraron susceptibles a deltametrina.

Resistencia post-recuperación RR_{DL50} . Al registrar la mortalidad 24h posteriores a la hora de exposición al insecticida sugieren la presencia de mecanismos aditivos de resistencia en las poblaciones, tales como enzimas. Seis sub-poblaciones exhibieron resistencia a alfa-cipermetrina, también superando valores de RR_{DL50} de 100X para 5 de las 7 sub-poblaciones analizadas, siendo de mayor a menor los valores obtenidos para las sub-poblaciones Poza Rica (675X), Coatzacoalcos (526X), M. de la Torre (425X), Veracruz (290X) y Panuco (155X), Tantoyuca con el menor valor (46X). Cosoleacaque fue susceptible a este piretroide. Para lambda-cialotrina cuatro de las siete sub-poblaciones analizadas mostraron valores de $RR_{DL50} > 10$, siendo las sub-poblaciones Coatzacoalcos y Poza Rica las cuales exhibieron los valores más altos (197X y 156X, respectivamente), seguido por las sub-poblaciones Veracruz (67X) y Cosoleacaque (27X). M. de la Torre mostró resistencia moderada (9X) y Panuco y Tantoyuca se mostraron susceptibles. Para d-fenotrina cuatro de siete sub-poblaciones analizadas exhibieron resistencia, de mayor a menor Poza Rica (51X), Veracruz (43X), Coatzacoalcos (29X) y M. de la Torre (14X). Las sub-poblaciones Tantoyuca y Cosoleacaque exhibieron resistencia moderada (7X Y 6X, respectivamente) y susceptibles las sub-poblaciones Panuco y Tantoyuca. Para bifentrina, las sub-poblaciones Veracruz, Cosoleacaque y Poza Rica exhibieron resistencia con valores de RR_{DL50} de 35X, 25X y 15X, respectivamente. Solo la sub-población Coatzacoalcos exhibió resistencia moderada (8X) y las sub-poblaciones Panuco, Tantoyuca y M. de la Torre se mostraron susceptibles. Para z-cypermtrina la sub-población Coatzacoalcos se mostró más resistente (27X), seguida por las sub-poblaciones Poza Rica (22X) y Tantoyuca (19X), las sub-poblaciones Veracruz y M. de la Torre exhibieron resistencia moderada (7X) y las sub-poblaciones Panuco y Cosoleacaque se mostraron susceptibles. En el caso de deltametrina, aunque ninguna sub-población mostró resistencia al derribo,

si se observó recuperación a las 24h, lo que resultó en que 3 sub-poblaciones de 7 analizadas mostraran resistencia, siendo estas la sub-población Coatzacoalcos (19X), Veracruz (18X) y Poza Rica (17X). Las sub-poblaciones Panuco, Tantoyuca, M de la Torre y Cosoleacaque se mantuvieron susceptibles. Para permetrina la sub-población Poza Rica exhibió mayor resistencia (33X) seguida por M. de la Torre (22X) y Veracruz (11X). Las sub-poblaciones Coatzacoalcos y Tantoyuca exhibieron resistencia moderada (9X y 6X, respectivamente) y las sub-poblaciones Panuco y Cosoleacaque se mostraron susceptibles a la permetrina. Para cipermetrina las sub-poblaciones Poza Rica y M. de la Torre se mostraron resistentes (29X y 19X, respectivamente), solo la sub-población Coatzacoalcos mostró resistencia moderada (6X) y susceptibles las sub-poblaciones Panuco, Tantoyuca, Veracruz y Cosoleacaque con valores de $RR_{DL50} < 5$.

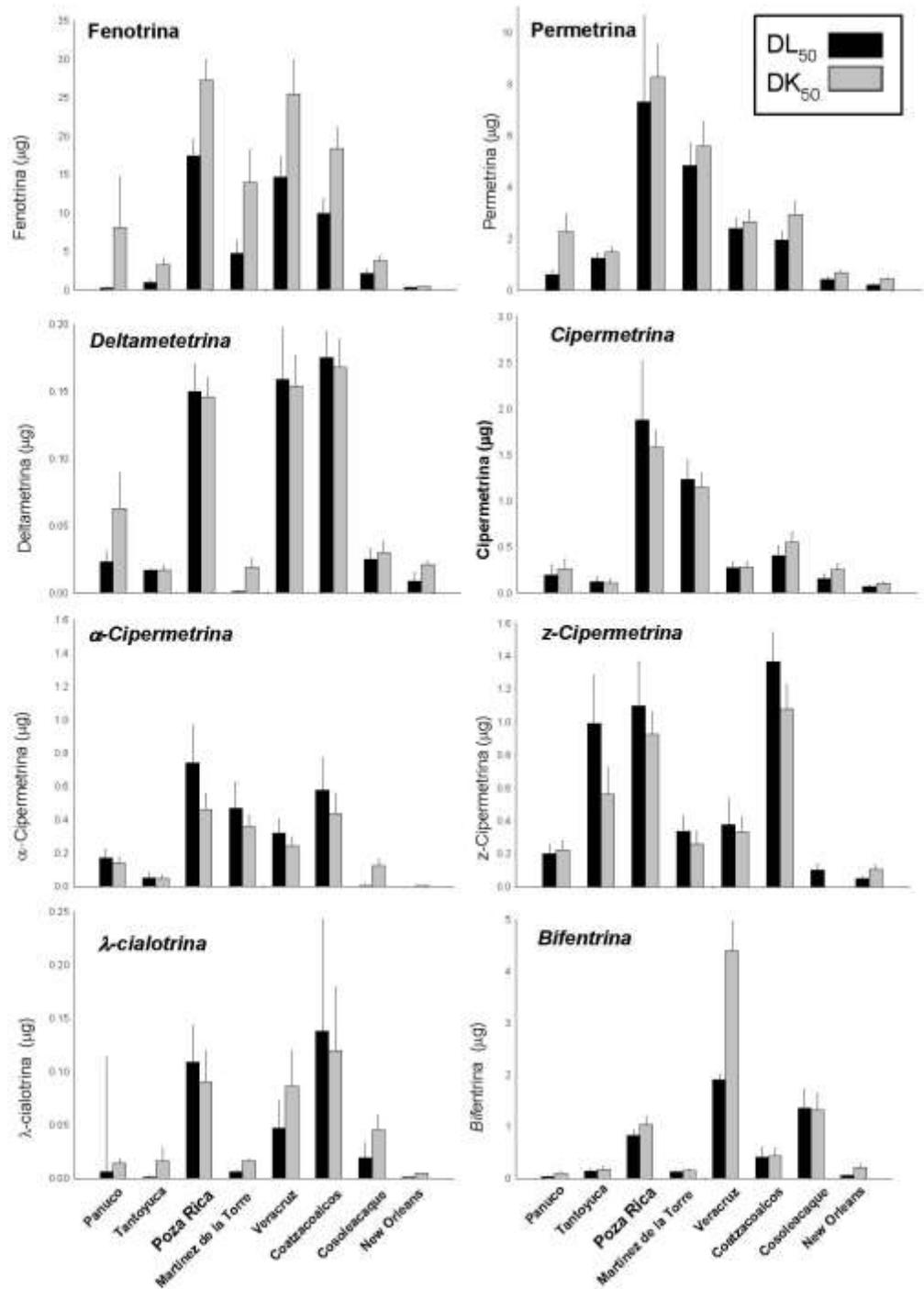


Fig. 32. Resistencia knockdown (DK₅₀) y mortalidad (DL₅₀) de siete sub-poblaciones de *Ae. aegypti* de Veracruz, México a 8 insecticidas piretroides.

El análisis de conglomerados que se realizó con los valores de DL_{50} , DK_{50} , $FR_{DL_{50}}$, $FR_{dk_{50}}$, para cada uno de los ocho piretroides (figura 33) mostró que los dendrogramas resultantes tanto para DL_{50} y $FR_{DL_{50}}$ fueron casi idénticos, de igual forma para DK_{50} y $FR_{DK_{50}}$. Los perfiles de resistencia estuvieron altamente correlacionados para deltametrina y λ -ciaolotrina ($\rho = 0.924$), seguido de permetrina con cipermetrina ($\rho = 0.911$) y d-fenotrina con α -cipermetrina ($\rho = 0.796$). Bifentrina no estuvo correlacionada con alguno de los 7 compuestos analizados.

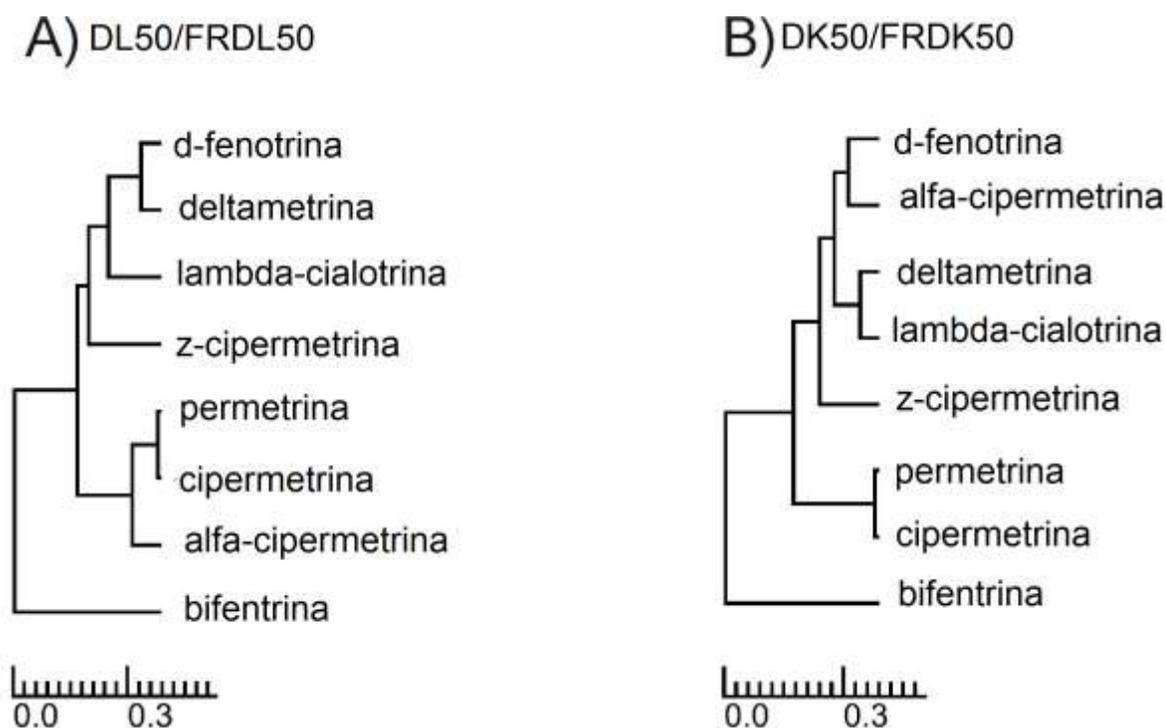


Fig. 33. Análisis de conglomerados para valores de mortalidad (DL_{50}) vs resistencia ($FR_{DL_{50}}$) postrecuperación y mortalidad (DK_{50}) vs resistencia ($FR_{DK_{50}}$) “knockdown”.

Los análisis de componentes principales y análisis biplot se realizaron sobre los valores de DL_{50} , DK_{50} , FR_{DL50} , y FR_{DK50} . Los 4 plots fueron muy similares por lo que solo se muestran los resultados de RR_{DK50} (figura 34).

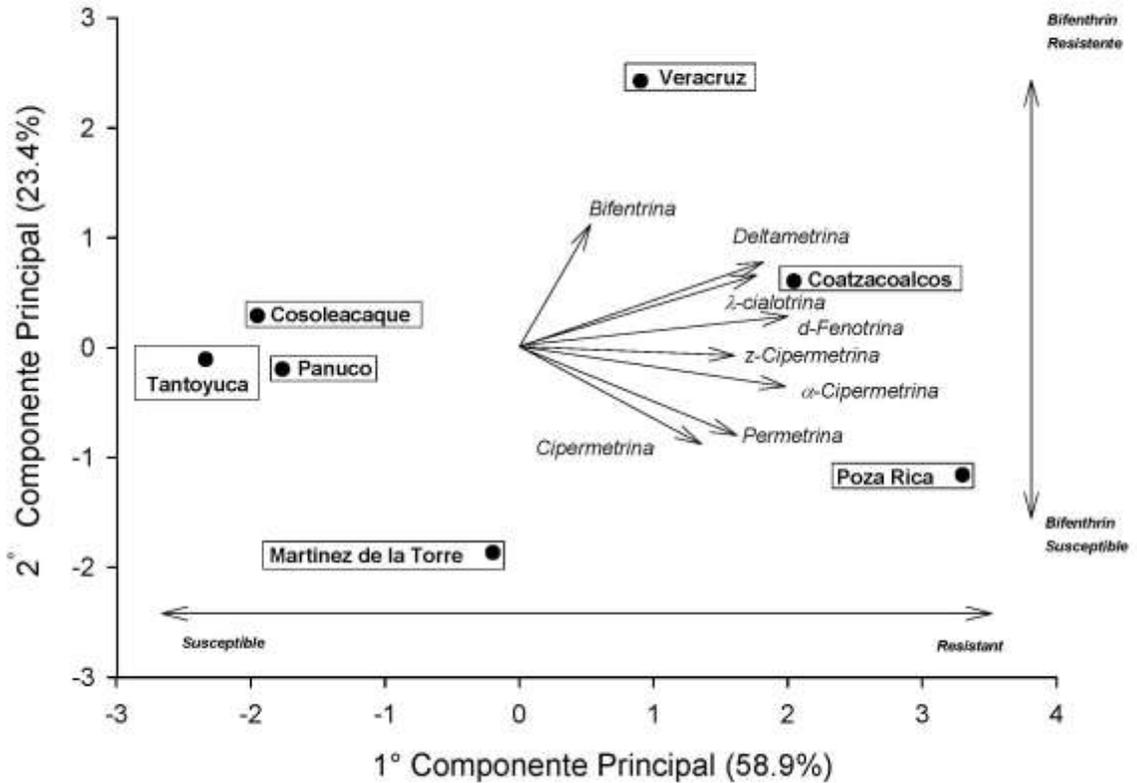


Fig. 34 . Análisis biplot para los valores de RR_{DK50} . El primer y segundo componentes principales están representados por los puntos para cada una de las 7 sub-poblaciones. Biplots están representados por flechas para los 8 piretroides. .

El primer y segundo componentes principales acumularon el 58.9 y 23.4% (acumulativo 82.3%) de la covarianza entre los valores de DL_{50} lo que representa un buen resumen de los perfiles de resistencia en las sub-poblaciones analizadas. La distribución de las subpoblaciones como primer componente principal representa resistencia global. Tantoyuca, Cosoleacaque, Panuco and M. de la Torre fueron mas siceptibles en general a todos los piretroides (except para bifentrina) comparado con Veracruz, Coatzacoalcos y Poza Rica. El segundo componente principal representa la

resistencia a bifentrina. Veracruz mostró 21X de resistencia. El remanente exhibió resistencia moderada o fueron susceptibles. EL análisis biplot para todos los piretroides, con excepción de bifentrina apunta a la misma dirección. Como se observa en el análisis de conglomerados, los perfiles de resistencia son muy similares para deltametrina y λ -cialotrina, permetrina y cipermetrina y para d-denotrina - α -cipermetrina.

Mortalidad 24h postrecuperación: La recuperación 24h posteriores a la exposición provee evidencia sobre mecanismos metabólicos aditivos de resistencia. El análisis de regression entre RR_{DL50} and RR_{DK50} se muestran en la figura 35. Para *d*-fenotrina se obtuvo un valor de $R^2 = 0.93$ con una pendiente de 0.875. Esto indica que la mayoría de los mosquitos derribados con *d*-fenotrina no se recuperaron. En contraste, para permetrina se obtuvo un valor de $R^2 = 0.96$ con una pendiente de 1.91, lo que indica que se requiere aproximadamente el doble de la cantidad de insecticida para producir una mortalidad a las 24h con respecto a la dosis de derribo.

Un patrón similar se observó para otros piretroides excepto para λ -cialotrina donde el valor de la pendiente fue de 8.67, indicando que se requieren aproximadamente nueve veces más insecticida para producir una mortalidad a las 24h con respecto a una mortalidad knockdown.

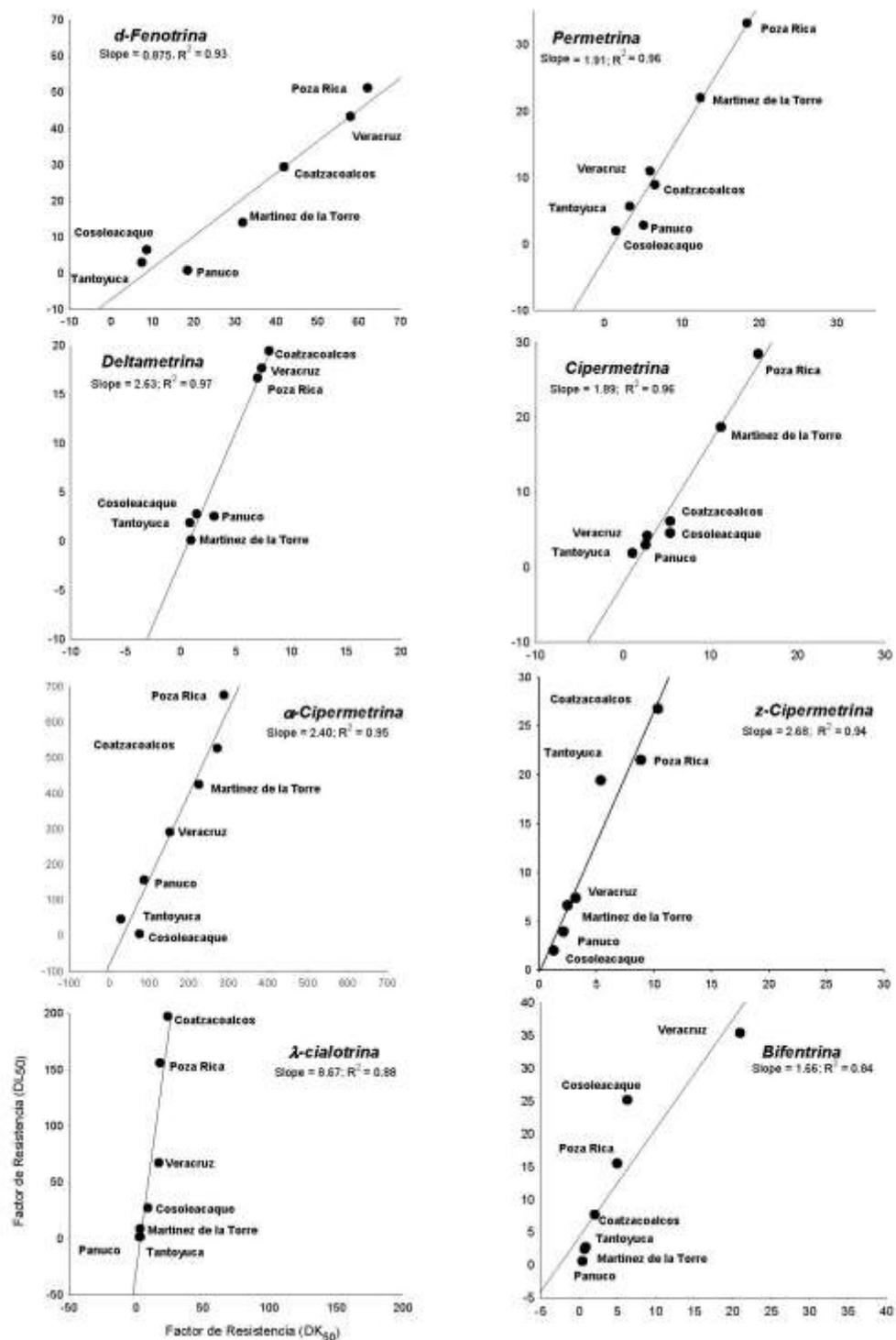


Fig. 35. Análisis de regression entre RR_{DL50} y RR_{DK50}.

6.10 Resistencia “kdr”

6. 10. 1 Frecuencia de la mutación *Ile1016*.

La tabla 24 muestra los datos de 7 sub-poblaciones de *Ae. aegypti* con un total de 350 mosquitos analizados para la mutación *Ile1,016*.

Tabla 24. Subpoblación, tamaño de las muestra y número de mosquitos de cada genotipo (AA= Iso1, 016 homocigotos, AG= Iso1,016/ Val1,016 heterocigotos, GG= Val1,016 homocigotos). También figuran la frecuencia de Iso1,016 en cada sitio, el 95% intervalo de confianza alrededor de esa frecuencia y la estimación y significado de F_{IS} .

SUBPOBLACIÓN	Muestra	AA	AG	GG	Frecuencia <i>Ile1016</i>	Wald 95% CI	F_{IS}
Panuco	50	1	18	31	0.20	(0.13 - 0.29)	-0.125
Tantoyuca	50	6	26	18	0.38	(0.29 - 0.48)	-0.104
Poza Rica	50	26	18	6	0.70	(0.60 - 0.78)	0.143
Martínez de la Torre	50	6	31	13	0.43	(0.34 - 0.53)	-0.265
Veracruz	50	19	23	8	0.61	(0.51 - 0.70)	0.033
Coatzacoalcos	50	0	27	23	0.27	(0.19 - 0.36)	-0.370
Cosoleacaque	50	6	23	21	0.35	(0.26 - 0.45)	-0.011

Los resultados muestran que las sub-población de Poza Rica presentó la mayor frecuencia de la mutación *Ile1, 016* (0.70) y Pánuco la menor (0.20). Podemos observar que las frecuencias son muy variables aun dentro del mismo estado, esto puede ser debido a que en las localidades la aplicación de insecticidas no es homogénea.

Trabajos recientes (Saavedra et al. 2007, 2008) documentan que *Ile1,016* se segrega como un alelo recesivo confiriendo resistencia completa a la permetrina en mosquitos homocigotos, pero hay un 86 a 95.7% de mortalidad en mosquitos heterocigotos y mortalidad completa en mosquitos homocigotos de Val 1,016.

Las aplicaciones de adulticidas no son uniformes en México. Por ejemplo los jarrones y contenedores en y alrededor de cementerios proveen abundantes sitios de criaderos de *Ae. aegypti*, pero estos son raramente tratados con insecticidas, así a través del transporte de *Aedes aegypti* a largas distancias durante el comercio humano y a través de la migración local hay la oportunidad de un constante reclutamiento de homocigotos Val 1,016 dentro de una población.

Hemos presentado los resultados sobre la prevalencia de la mutación Ile 1,016 en poblaciones naturales de *Aedes aegypti*. Esto sería importante para empezar estudios prospectivos en México. Estudios intensos de Ile 1,016 en sitios individuales pueden revelar la intensidad de la selección en estos sitios. La identificación de ciudades o sitios donde no se han usado piretroides durante un periodo prolongado puede permitirnos probar efectos negativos en la aptitud asociados con la mutación Ile 1,016. El concepto de manejo de resistencia a insecticidas (IRM) (Brattsten et al. 1986, Curtis 1985) trata a la susceptibilidad a insecticidas como un recurso finito. Como los plaguicidas son aplicados y la población blanco llega a ser resistente, el recurso de susceptibilidad es empobrecida. Una suposición clave del manejo de resistencia a insecticidas es que los alelos que confieren resistencia disminuyen su aptitud ante la ausencia de insecticidas. Así cuando un insecticida específico es discontinuado, la resistencia puede disminuir y la susceptibilidad se renueva. Con suficiente tiempo, durante el cual insecticidas alternativos pueden utilizarse y así el insecticida original puede ser nuevamente aplicado. La vigilancia de la resistencia, es un paso en el manejo de resistencia de insecticidas proveyendo una base de datos para los programas de planeación y selección de plaguicidas, para el monitoreo continuo de la resistencia y en la detección de resistencia en una etapa temprana de modo que las alternativas puedan ser implementadas. Los resultados presentados aquí sugieren que el amplio uso de permetrina por más de 9 años en nuestro país pudo estar incrementando rápidamente la frecuencia de la mutación Ile1,016, sugiriendo que el uso de la permetrina debe ser discontinuado para mantener la susceptibilidad y así preservar el uso de estos y otros piretroides sintéticos en la población. La necesidad de esta investigación es oportuna porque los materiales tratados con piretroides para el control del vector del dengue están llegando a ser ampliamente distribuidos.

7. CONCLUSIONES

Los resultados tanto de resistencia al derribo así como resistencia post-recuperación muestran que las sub-poblaciones de campo analizadas del estado de Veracruz son resistentes prácticamente a todos los piretroides analizados, aunque la resistencia al derribo no estuvo presente para deltametrina, tres de las siete sub-poblaciones estudiadas (Poza Rica, Veracruz y Coahuila) mostraron resistencia a este insecticida post-recuperación (24h). La resistencia, evidentemente presentó variaciones, así pues las sub-poblaciones provenientes del centro-sur del estado mostraron en general valores mayores para todos los insecticidas analizados.

Un aspecto inusual en el presente estudio fue la comparación de valores de RR_{DL50} y RR_{DK50} . Este aspecto se analizó considerando de que muchos mosquitos que fueron derribados después de la exposición con los piretroides se recuperaban cuando eran alejados del insecticida.

Con la excepción de *d*-fenotrina, el estudio demuestra que se requiere de 2-9 veces mas insecticida para producir una mortalidad a las 24h con respecto a la dosis que se requiere para producir un efecto de derribo, siendo esto para permetrina, deltametrina, cipermetrina, α -cipermetrina, *z*-cipermetrina, λ -cialotrina y bifentrina. Sin embargo, la relevancia de estos resultados es incierta. Asumiendo que los mosquitos que son derribados caigan en un ambiente libre de insecticida éste morirá por varias causas: desecación, depredación o bien por cualquier factor causado por intemperismo. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que al menos una proporción se recuperan de su exposición inicial. Esto es especialmente importante con la presencia del alelo *Ile1,016* el cual se encontró presente en todas las sub-poblaciones analizadas siendo el valor mas alto para la sub-población de Poza Rica con un 70%.

Los resultados sugieren que las poblaciones del estado de Veracruz han estado sometidas a una fuerte presión de selección en el campo, resultado de una aplicación continua de temefos por más de 30 años y permetrina por más de 10 años, aunado al efecto de insecticidas aplicados para el control de plagas agrícolas y otras plagas urbanas. En virtud de la prevalencia de resistencia cruzada mostrada para piretroides es

necesario considerar si este grupo insecticida seguirán siendo de primera elección para controlar las poblaciones de *Ae. aegypti* en México.

8. LITERATURA CITADA

- Abbott WS.1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Econ Entomol 18: 265–267.
- Agresti A, Coull BA. 1998. Approximate is better than "exact" for interval estimation of binomial proportions. American Statistician 52: 119-126.
- Albert LA, Alpuche L, Aranda HE, Badillo F, Bárcenas PC, Chediack R, Loera GR, Pomares TG, Rendón Von OJ, Viveros RA. 1990. Los plaguicidas, el ambiente y la salud. Centro de Ecodesarrollo ; México Pp. 157-173.
- Ansari MA, Razdan RK. 2003. Bio-efficacy and operational feasibility of alphacypermethrin (Fendona) impregnated mosquito nets to control rural malaria in northern India. J Vector Borne Dis; 40(1-2):33-42.
- Balta R y Villaseca P. 2006. Determinación de la susceptibilidad y/o resistencia a los insecticidas de los mosquitos *Anopheles* de las principales áreas maláricas del Perú. Ministerio de la Salud. Series de Informes Técnicos No. 29.
- Bennett KE, Olson KE, Munoz M de, Fernandez-Salas I. and Farfan-Ale JA. 2002. Variation in vector competence for dengue 2 virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. Am. J. Trop. Med. Hyg. 67: 85–92.
- Bisset J, Rodríguez M y Cáceres L. 2003. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. Rev. Cubana Med. Trop. v.55 n.3.
- Bisset J, Rodríguez M, Molina D, Díaz C, Soca L. 2001. Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. Rev. Cubana Med Trop v.53 n.1.
- Bisset JA , Rodríguez I, Rodríguez M, Dóaz C, González T, Vásquez R .1996. Tres combinaciones de esterazas y su relación con la resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides en *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera:Culicidae) de Cuba. Rev Cub Med Trop ; 48(1):150-55.
- Bisset JA, Rodríguez MM, Fernández D, Palomino M. 2007. Resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en 2 provincias del Perú. Rev Cubana Med Trop; 59 (3).

- Bisset, J.A, Rodríguez MM, Fernández D, Pérez O. 2004. Estado de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en larvas del municipio Playa, colectadas durante la etapa intensiva contra el *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, 2001-2002 [Rev. Cuba. Med. Trop.](#) 56: 61-66.
- Black WC, Krafur ES. 1985. A Fortran Program for Analysis of Genotypic Frequencies and Description of the Breeding Structure of Populations. *Theoretical and Applied Genetics* 70: 484-490.
- Blomquist RJ. 2003. *Insecticidas : Química y Características*. Departamento de Entomología, Instituto Politécnico y Universidad del Estado de Virginia, Blacksburg, Virginia.
- Bowman D, Randy CL, Mark L , Eberhard J y Georgi R. 2004. *Parasitología Veterinaria de Georgia*. Elsevier España. Pp. 257-258.
- Brattsen, LB. 1989. Insecticide resistance: Research and Management. *Pestic. Sci.* 26: 329-332.
- Bregues C, Hawkes NJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, Manguin S, Morgan JC, Hemingway J. 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med. Vet. Entomol.* 17: 87-94.
- Brogdon WG, Beach RF, Steward JT y Castanaza L. 1998. Microplate assay analysis of organophosphate and carbamate resistance distribution in Guatemalan *Anopheles albimanus*, *Bull. WHO* 66:339-346.
- Brogdon WG. and McAllister JC. 1998. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time-mortality determinations in bottles, *J Am Mosq Control Assoc.* 14: 159-164.
- Brown AWA y Pal R. 1971. *Insecticide resistance in arthropods*. World Health Organization, Geneva, Switzerland
- Canyon DV y Hii JLK. 1999. Insecticide susceptibility status of *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) from Townsville. *Australian Journal of Entomology* 38, 40-43.
- Castro M, Quintana N, Quiñones ML. 2007. Evaluación de dos piretroides en el control del vector del dengue en Putumayo, Colombia. *Rev. Salud Pública*; 9(1): 106-116.
- Chandre F, Darriet F, Darder M, Cuany A, Doannio JMC, Pasteur N y Guillet P.1998. Pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* (Say) from West African *Journal of Medical Entomology*: 12,359-366.

- Chandre F, Darriet F, Manga L, Akogbeto M, Faye O, Mouchet J, Guillet P. 1999. Status of pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae sensu lato*. *Bull World Health Organ*, 77:230-234.
- Chavez J, Vargas J, Vargas F. 2005. Resistencia a deltametrina en dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) del Perú. *Rev. Peru. Biol.* 12(1): 161-164.
- Cheikh HB y Pasteur N. 1993. Resistance to temephos an organophosphates insecticide in *Culex pipiens* from Tunisia, North Africa. *J Am Mosq Control Assoc*, 9(3):335-337.
- Chirebvu E, Nzira L. 2000. The efficacy and residual life span of two alphacypermethrin insecticide formulations (Fendona 6% suspension concentrate and Fendona Dry 15%) treated on mosquito bed nets. *Cent Afr J Med*; 46(7):190-4.
- Chouaibou M., Simard F, Chandre F, Etang J, Darriet F, Hougard JM. 2006. Efficacy of bifenthrin-impregnated bednets against *Anopheles funestus* and pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae* in North Cameroon. *Malaria Journal*, 5:77.
- Clark GG. 1995. Situación epidemiológica del dengue en América, desafíos para su vigilancia y control. *Salud Pública México*; 37: 5-20.
- Curtis C.F, Hill N y Kasim SH. 1993. Are there effective resistance management strategies for vectors of human disease? *Biol. J. Linn. Soc.* 48: 3-18.
- Curtis CF. 1985. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. *Bull. Entomol. Res.* 75: 259-265
- Cutkomp, LK y Subramanyan BH. 1986. Toxicity of pyrethroids to *Aedes aegypti* larvae in relation to temperature. *J Am Mosq Control Assoc.* 2: 347-349.
- Díaz C, Enríquez D y Bisset J. 2003. Estado de la resistencia a insecticidas en cepas de terreno de la especie *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) procedentes del municipio Pinar del Río. *Rev. Cubana Med Trop* v.55 n.3.
- Dorta D, Castex M, Suarez S, Fugueredo D y Leyva M. 2005. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop* v.57 n.2
- Duque LJE, Ferrer MM, Felix DAA, Fumio KE, Navarro-Silva MA. 2004. Susceptibility of *Aedes aegypti* to temephos and cypermethrin insecticides, Brazil. *Rev Saúde Pública*; 38(6): 1-2.

- Eldridge BF. 2005. Mosquitoes, the Culicidae. pp 95-11 en *Biology of Disease Vectors* (2nd ed) editado por W. C. Marquardt *et al.*. Elsevier Academic Press.
- Escobar-Mesa J, Gómez-Dantés H. 2003. Determinantes de la transmisión de dengue en Veracruz: un abordaje ecológico para su control. *Salud Pública Méx.ico*; 45(1): 43-53.
- Failloux A, Ung A , Raymond M y Pasteur N. 1994. Insecticide susceptibility in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from French Polynesia. *Journal of Medical Entomology*: 31(5) : 639-644.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 1982. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. *Plant Protection Bull.* 30:36 71 and 141-143.
- Felsenstein J. 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. *Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle*
- Fernández, SI. 1999. Biología y control de *Aedes aegypti*. Manual de operaciones. Editorial UANL.ISBN 968-7808-88-8. Monterrey , México.
- Finney,DJ. 1971. Probit Analysis. Cambridge University.3º Edition. Pp 50-80.
- Flores A.E, Albeldaño-Vázquez W, Fernández Salas I, Badii M.H, Loaiza Becerra H, Ponce GG, Lozano-Fuentes S, Brogdon WG, Black WC y Beaty BJ. 2005. Elevated alpha-esterase levels associated with permethrin tolerance in *Aedes aegypti* (L.) from Baja California, Mexico. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 82: 66-78.
- Flores AE, Grajales JS, Salas IF, Ponce GG, Becerra MHL, Lozano S, Brogdon WG, Black WC, Beaty B. 2006. Mechanisms of insecticida resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) from Quintana Roo, Southern Mexico. *J Am Mosq Control Assoc*; 22(4): 672 – 677.
- Flores AE, Reyes-Solis G, Fernández Salas I, Sanchez-Ramos FJ y Ponce GG. 2009. Resistance to permethrin in *Aedes aegypti* (L.) in northern Mexico. *Southwestern Entomologist* 34: 167177.
- Fonseca I, Quiñones ML. 2005. Resistencia a insecticidas en mosquitos (Diptera: Culicidae): mecanismos, detección y vigilancia en salud pública. *Revista Colombiana de Entomología*, [ONLINE] disponible en:
http://www.accessmylibrary.com/coms2/summary_0286-32134834_ITM.

- Fox I, García M. 1961. Multi resistant *Aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgen Islands. Science; 233-246.
- Fox I. 1973. Malathion resistance in *Aedes aegypti* from pressure on adults. Mosquito News Vol. 33(2): 161-164.
- Frances SP. 2007. Evaluation of bifenthrin and permethrin as barrier treatments for military tents against mosquitoes in Queensland, Australia. J Am Mosq Control Assoc; 23(2):208–212.
- Georghiou, G P. 1965. Genetic Studies on Insecticide Resistance. Adv. Pest. Control Res. 6: 171.
- Georghiou, GP .1971. Resistance of Insects and Mites to Insecticide and Acaricides and the Future of Pesticide Chemicals. In: Swift, J. E. (Ed.) Agricultural Chemicals Harmony or Discord for Food People and Environment. Univ. California Div. Agr. Sci. 151 pp.
- González T, Bisset J, Díaz C, Rodríguez M y Diéguez L. 1996. Evolución de la resistencia en una cepa de *Culex quinquefasciatus* a partir de la selección con el insecticida piretroide lambdacialotrina. Rev. Cuba. Med. Tropical. 1996; 48(3).
- Gordon J. 1988. Health Education Research: Mixed strategies in health education and community participation: an evaluation of dengue control in the Dominican Republic. Oxford University Press 3(4): 399-419.
- Graça MML, Macoris AMT, Camargo GOV, Carvalho LR, Caldas JAL, Brogdon WG. 2007. Association of insecticide use and alteration on *Aedes aegypti* susceptibility status. Mem Inst Oswaldo Cruz; 102(8): 895-900.
- Grieco JP, Achee NL, Chareonviriyapha T, Suwonkerd W, Chauhan K, Sardelis MR, Roberts DR. 2007. A new classification system for the actions of IRS chemicals traditionally used for malaria control. Plos One; 2(8): e716.
- Gubler DJ. 1989. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti*-borne disease control in the 1990s: top down or bottom up. Am J Trop Med Hyg;40:571-578.
- Gubler DJ. 1998 (b). Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. Clinical Microbiology Reviews. 11(3): 480–496.
- Gubler, D.J. & Trent, DW. 1994. Emergence of epidemic Dengue: Dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infectious Agents and Disease* 2, 383-393.

- Gubler, DJ. 1998 (a). Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerg. Infect. Dis.* 4, 442–450.
- Hemingway J, Boddington RG, Harris J. 1989. Mechanisms of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L.) (Díptera :Culicidae) from Puerto Rico. *Bull Ent Res* 79 :123-30.
- Hemingway and Ranson, 2000. Insecticide Resistance in Insect Vectors of Human Disease. *Annu. Rev Entomol.* 45:371-391
- Hemingway J, R.P. Penilla, A.D. Rodriguez, B.M. James and W. Edge. 1997. Resistance management strategies in malaria vector mosquito control. A large scale trial in Southern Mexico. *Pest. Sci.* 51: 375-382.
- Hogsette JA, Nalli A, Foil LD. (2008). Evaluation of different insecticides and fabric types for development of treated targets for stable fly (Diptera: Muscidae) control. *J Econ Entomol*; 101(3):1034-8.
- Hougard JM, Duchan S, Zaim M y Guillet P. 2003. Bifenthrin: A useful Pyrethroid insecticide for treatment of mosquito nets, *Journal of Medical Entomology*, Vol. 39, No. 3, pp. 526 – 533
- Huong VD, Bach NNT, Hien DT, Bich LNT. 2004. Susceptibility of *Aedes aegypti* to Insecticides in Viet Nam. *Dengue Bulletin*; 28: 179 – 183.
- Ibáñez-Bernal S, Gómez Dantés H. 1995. Los vectores del dengue en México: una revisión crítica. *Salud Pública México*; 37: 53-63.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED). 2005. Enciclopedia de los municipios de México. Secretaría de Gobernación.
- Lagunes-Tejeda A. and Villanueva-Jiménez JA. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados. México. 264 pp.
- Lai Tze Ping, Rosinah Yatiman y Lam-Phua Sai Gek. 2001. Susceptibility of adult field strains of *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* in Singapore to pirimiphos-methyl and permethrin. *J Am Mosq Control Assoc*, 17 (2) : 144-146.
- Lloyd JE, Schmidtman ET, Kumar R, Bobian RJ, Waggoner JW, Legg DE, Hill DC. 2002. Suppression of blood feeding by *Ochlerotatus dorsalis* and *Ochlerotatus melanimon* on cattle treated with python ear tags. *J Am Mosq Control Assoc*, 18(3):207-9.
- Malcom CA y Wood RJ. 1982. The establishment of a laboratory strain of *Aedes aegypti* homogeneous for high resistance to permethrin. *Pesticide Science*, 13,104-108.

- Malcom CA. 1988. Current status of pyrethroid resistance in anophelines. *Parasitology Today* ;4:S13-S6.
- Mazzarri M.B y Georghion GP. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in fiel population of *Aedes aegypti* (L) from Venezuela. *Journal J Am Mosq Control Assoc.* 11(3); 315-322
- Mazzarri MB y Georghiou GP. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in fiel population of *Aedes aegypti* from Venezuela. *J Am Mosq Control Assoc.* 11(3):315-322.
- Mebrahtu YB, Norem J y Taylor M. 1997. Inheritance of larval resistance to permethrin in *Aedes aegypti* and association with sex ratio distortion and life history variation. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 56, 456-465.
- Mekurian YT, Gwinn DC. Williams y Tidwell MA. 1991. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo. Dominican Republic. *J Am Mosq Control Assoc.* 7(1):69-72.
- Montada DD, Castex RM, Suárez DS, Figueredo SD, Leyva SM. 2005. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop*; 57(2):137-42.
- Morillo F y Notz A. 2001. Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. *Entomotropica* Vol. 16(2):79-87.
- Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-003-SSA2-2008, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector.
- Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector.
- Ocampo CB, Brogdon WG, Orrego CM, Toro G, Montoya-Lerma J. 2000. Insecticide susceptibility in *An. pseudopunctipennis* from Colombia :Comparision between bioassays and biochemical assays. *J Am Mosq Control Assoc.* 16(4):331-338.
- Pereira CM., Pereira LJB., Brogdon WG, Moya GE, Valle D. 2005. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 100(4): 441-444.

- Philip CB, Rozenboom LE. 1973. Medico-veterinary entomology: a generation of progress. In: Smith RF, Mittler TE, Smith CN, editors. History of entomology. Palo Alto (CA): Annual Reviews Inc.
- Picollo Ma I. 2006. Manejo de la Resistencia en plagas sanitarias. Revista de la Sociedad Entomológica de Argentina.
- Ping LT, Yatiman R, Gek LPS. 2001. Susceptibility of adult field strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Singapore to pirimiphos-methyl and permethrin. J Am Mosq Control Assoc; 17(2):144 -146.
- Platt KB, Linthicum KJ, Myint KS, Innis BL, Lerdthusnee K, Vaughn DW. 1997. Impact of dengue virus infection on feeding behavior of *Aedes aegypti*. Am J Trop Med Hyg. 57(2):119-25.
- Prapanthadara L, Promtet N, Koottathep S, Somboon P, Suwonkerd W, McCarroll L, Hemingway J. 2002. Mechanisms of DDT and Permethrin Resistance in *Aedes aegypti* from Chiang Mai, Thailand. Dengue Bull. 26, 185–189.
- Ratovonjato J, Le Goff G, Rajaonarivelo E, Rakotondraibe EM, Robert V. 2003. Recent observations on the sensitivity to pyrethroids and DDT of *Anopheles arabiensis* and *Anopheles funestus* in the central Highlands of Madagascar; preliminary results on the absence of the kdr mutation in *An. arabiensis*. Arch Inst Pasteur Madagascar; 69(1-2):63-9.
- Reis MI, Martins AJ, Viana-Medeiros PF, Pereira LJB, Aparecida BI, Valle D. 2007. Insecticide Resistance Mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* Populations from 2001 to 2004. Am J Trop Med Hyg, 77(3): 467–477.
- Rodríguez M, Bisset J, Rodríguez I, Díaz C. 1997. Determinación de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos bioquímicos en 2 cepas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Santiago de Cuba. Rev Cub Med Tropical. 1997;49(3):209-14
- Rodríguez M, Bisset J, Díaz C y Soca A. 1998. Selección de una cepa de *Culex quinquefasciatus* resistente a lambdacialotrina y su espectro de resistencia cruzada a otros insecticidas. Rev Cubana Med Trop 1998. v.50 n.2
- Rodríguez MM, Bisset JA, Díaz C, Soca LA. 2003. Resistencia cruzada a piretorides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malation. Rev Cub Med Tropical 2003 ; 55(2):105-11.

- Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D. 2007. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American Countries. *J Am Mosq Control Assoc*; 23(4):420–429.
- Rodríguez MM, Bisset JA, Ruiz M y Soca LA. 2002. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by Selección with temephos in *Aedes aegypti* from Cuba. *Rev Cub Med Tropical* ; 55(2):105-11.
- Rodríguez MM., Bisset JA., Fernández D. 2007. Determinación *in vivo* del papel de las enzimas esterasas y glutatión transferasa en la resistencia a piretroides en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev Cubana Med Trop*; 59(3).
- Rodríguez MM., Bisset JA., Mila LH., Calvo E., Diaz C., Alain SL. 1999. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. *Rev Cubana Med Trop*; 51(2): 83 – 88.
- Rohani A, Bugor H, Nazni WA, y Lee HL. 2000. Evaluation of the insecticide introduction susceptibility of urban and rural *Aedes albopictus*. Division of Medical Entomology, Institute of Medical Research, 50588 Kuala Lumpur.
- Rothwell JT, Hackett KC, Friend M, Farnsworth WR, Lowe LB. 1998. Efficacy of zeta-cypermethrin as pour-on or spray formulations for the control of buffalo fly (*Haematobia irritans exigua*) in cattle. *Aust Vet J*; 76(9):610-2.
- Rothwell JT, Hackett KC, Ridley I, Mitchell L, Donaldson C, Lowe LB. 1999. Therapeutic efficacy of zeta-cypermethrin pour-on for the treatment of biting and sucking lice in cattle under field conditions. *Aust Vet J*; 77(4):255-8.
- Roush RT. 1989. Designing resistance management programmes: how can you choose? *Pestic. Sci.* 26: 423-42.
- Rowland M, Mahmood P, Iqbal J, Carneiro I, Chavasse D. 2000. Indoor residual spraying with alphacypermethrin controls malaria in Pakistan: a community-randomized trial. *Trop Med Int Health*; 5(7):472-81.
- Saavedra-Rodríguez K, Strode C, Flores-Suarez AE, Fernandez Salas I, Ranson H, Hemingway J y Black IV WC. 2008. QTL mapping of genome regions controlling permethrin resistance in the mosquito *Aedes aegypti*. *Genetics* 180: 1137–1152.
- Saavedra-Rodríguez K, Urdaneta-Marquez L, Rajatileka S, Moulton M, Flores AE, Fernandez-Salas I, Bisset J, Rodríguez M, McCall PJ, Donnelly MJ, Ranson H,

- Hemingway J y Black IV WC. 2007. Mutations in the voltage gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Molecular Biology* 16: 785–798.
- Sames IV WJ, Bueno R, JackHayes JR and Olson JK. 1996. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *albopictus* in the lower Rio Grande Valley of Texas and México. *J Am Mosq Control Assoc.* 12(3):487-490
- San-Martín JL, Prado M. 2004. Percepción del riesgo y estrategias de comunicación social sobre el dengue en las Américas. *Rev Panam Salud Pública;* 15(2): 135-139.
- Severson DW, Anthony NM, Andreev O, French-Constant RH. 1997. Molecular mapping of insecticide resistance genes in the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). *J. Hered.* 88:520–24
- Sneath PHE y Sokal RR. 1963. *Principles of Numerical Taxonomy*. Freeman & Co., San Francisco.
- Soderlund D y Bloomquist J. 1990. Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance. pp58-96 en *Pesticide Resistance in Arthropods* editada por Roush R. T. and Tabashnik B.E.. Routledge Chapman & Hall Inc. Great Britain.
- Strong AC, Kondratieff BC, Doyle MS, Black WC. 2008. Resistance to permethrin in *Culex tarsalis* in northeastern Colorado. *J Am Mosq Control Assoc;* 24(2):281-8.
- Tabashnik BE. 1989. Managing resistance with multiple pesticide tactics: theory, evidence and recommendation. *J. Econ Entomol.* 82: 1263-1269.
- Thanispong K, Sathantriphop S, Chareonviriyapha T. 2008. Insecticide resistance of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Thailand. *J Pestic Sci.;* 33(4), 351–356.
- Torres LTM, Caballero HR, Barraza SJH, Romero PJJ. 2006. Cultural conceptions about dengue in Nayarit, Mexico. *Dengue Bulletin;* 30: 223-233.
- Vargas F, Cordova O y Alvarado A. 2006. Determinación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti*, *Anopheles albimanus* Y *Lutzomyia peruensis* procedentes del norte peruano. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica* 23(4). Pp: 1-6.
- Vaseena C y Picollo M. 2003. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la Enfermedad de Chagas. Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas. Pp: 1-21

- WHO .1997. Dengue hemorrhagic Fever: Diagnosis, Treatment, Prevention and Control, 2nd edition. Geneva.
- WHO. 1981 Instruction for Determining the susceptibility or resistance in adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides. Establishment of baseline. WHO/VBC/81.805.
- Williamson M.S Denhold I, Bell CA, Devonshire AL. 1993. Knockdown resistance (kdr) to DDT and pyrethroid insecticides maps to a sodium channel gene in the housefly (*Musca domestica*). Mol Gen Genet 240:17-22
- Wirth MC and Georghiuo GP. 1999. Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, Bitish Virgin Islands. J Am Mosq Control Assoc. 15(3):315-320.
- Xiao YW, Fuming H and Dazong C. 1992. Susceptibility of *Aedes albopictus* from China to insecticides, and mechanism of DDT resistance. J Am Mosq Control Assoc; 8(1):394-397.
- Yoshoinori Shono, Very Jean-Francois, Saint Jean Y y Takaaki Itoh. 1991. Field evaluation of ultra-low volume applications with a mixture of d- allethrin and d-phenothrin for control of *Anopheles albimanus* in Haiti.
- Zerba EN., Wallace G., Picollo MI., Casabé N., Licastro Sd., Wood E., Hurvitz A., Andres A 1997. Evaluación de la β -cipermetrina para el control de *Triatoma infestans*. Rev Panam Salud Publica; 1(2): 133-137.
- Ziv M , Brown NJ y Brown AWA. 1969. Resistance Potentialities of *Aedes aegypti* and *Culex fatigans* to organophosphorus and other insecticides. WHO/VBC/869.148. Whorld Health Organization, Geneva.