

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

PÉRDIDA Y RECUPERACIÓN DE LA RESISTENCIA A PERMETRINA EN EL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) PROCEDENTE DE CIUDAD VALLES, SAN LUIS POTOSI.

ESTELA TREJO TREJO

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: **PÉRDIDA Y RECUPERACIÓN DE LA RESISTENCIA A PERMETRINA EN EL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) PROCEDENTE DE CIUDAD VALLES, SAN LUIS POTOSÍ.** realizada por el alumno: ESTELA TREJO TREJO bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. HUSSEIN SÁNCHEZ ARROYO

ASESOR



DR. J. CONCEPCIÓN RODRÍGUEZ MACIEL

ASESOR



DR. JUAN CIBRIAN TOVAR

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre de 2014

PÉRDIDA Y RECUPERACIÓN DE LA RESISTENCIA A PERMETRINA EN EL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) PROCEDENTE DE CIUDAD VALLES, SAN LUIS POTOSI.

Estela Trejo Trejo, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2014

RESUMEN

El mosquito *Aedes aegypti* L es vector de los virus que producen el dengue, fiebre amarilla y fiebre de Chikungunya. El control de este insecto se hace, principalmente, con insecticidas sintéticos, y las aplicaciones programadas han ocasionado el desarrollo de resistencia en varias localidades del mundo. En el presente trabajo, se determinó la pérdida y recuperación de la resistencia a permetrina de una población de *Aedes aegypti* proveniente de Ciudad Valles, San Luis Potosí, México, previamente reportada como resistente a este producto. Se determinó el número de generaciones requeridas, en laboratorio y en ausencia de selección, para que el insecto recuperara la susceptibilidad a este producto. Por otro lado, se determinó el número de generaciones requeridas para que la población recupere la resistencia operativa, mediante selección artificial con la CL_{60} . Los bioensayos se realizaron con larvas, mediante aplicación residual, de acuerdo a la metodología de la OMS. La mortalidad en larvas se evaluó 24 h después de la aplicación, y se determinó la línea respuesta log dosis-mortalidad, los valores de CL_{50} y FR_{50} , y los CL_{90} y FR_{90} para cada generación del insecto. La efectividad de la permetrina en campo se determinó en adultos de cada generación obtenida en laboratorio, aplicando una formulación comercial del insecticida. Se requirieron siete generaciones del mosquito en ausencia de selección para revertir el problema de resistencia y volver a controlar en condiciones de campo hasta 97.8%. Fue suficiente una generación de selección con la CL_{60} para que la población recuperara la resistencia operativa y se controlara en campo solo 43% de los insectos.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, Resistencia, Permetrina.

LOSS AND RECOVERY OF RESISTANCE TO PERMETHRIN IN *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) FROM CIUDAD VALLES, SAN LUIS POTOSI.

Estela Trejo Trejo, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2014

ABSTRACT

The mosquito *Aedes aegypti*, is vector of dengue, yellow fever and Chikungunya diseases. The control of this insect is carry out with synthetic insecticides mainly, and because of the programmed application of insecticides, the vector has developed resistance in many countries around the world. In this experiment, the loss of resistance to permethrin, in laboratory, was determined in a population of *Aedes aegypti* from Ciudad Valles, San Luis Potosí. Additionally the recovery of field resistance to permethrin of this population was determined applying the CL₆₀.

The insecticide was evaluated by residual application in early fourth instar larvae, according to the methodology proposed by the World Health Organization (WHO). The mortality was recorded 24 h after exposure. Probit analysis was used to determine the response lines log dose-mortality (CL₅₀ and CL₉₀) and resistant factors for each generation (FR₅₀ and FR₉₀). Field effectivity was determined for each laboratory mosquito generation, using a commercial permethrin formulation.

Seven generations of *Aedes aegypti*, reared in laboratory and without insecticide selection, were required to loss resistance and to obtain 97.8 % of field mortality. However, only one generation was required (selecting with CL₆₀) to loss field control and to obtain only 43 % mortality.

Key Words: *Aedes aegypti*, Resistance, Permethrin.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados por haberme brindado la oportunidad y facilidades para continuar con mi formación profesional y obtener el grado de maestría.

A la empresa Quimix S.A. de C.V. por la donación de permetrina en grado técnico para la realización del presente trabajo.

Agradezco a los integrantes de mi consejo particular: Dr. Juan Cibrián Tovar, Dr. J. Concepción Rodríguez Maciel por la asesoría brindada, las correcciones y sugerencia para la mejora de la tesis; y en especial al Dr. Hussein Sánchez Arroyo, por el tiempo dedicado, la enseñanza aportada, así como el apoyo incondicional a lo largo de este proceso de formación y culminación del presente trabajo.

A los técnicos laboratoristas C. Oscar Moreno Cernas y C. Oscar Vega Ortiz, por su compañerismo y apoyo brindado en la preparación de material biológico para las evaluaciones en campo, durante la fase experimental del presente.

DEDICATORIA

Con mucho amor dedico el presente, a mi pequeño hijo Sebastián Sánchez Trejo, quien me ha acompañado y ha llenado de alegría mis días en la fase final de este proyecto.

CONTENIDO

PÁG.

RESUMEN.....	ii
ABSTRACT	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
DEDICATORIA.....	v
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2.OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo general	2
2.2 Objetivos específicos.....	3
3.HIPÓTESIS.....	3
4.REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1 Importancia de <i>Aedes aegypti</i>	4
4.2. Principales enfermedades transmitidas por <i>Aedes aegypti</i>	4
4.2.1 Dengue	4
4.2.2 Fiebre amarilla.....	5
4.2.3 Fiebre de Chikungunya	6
4.3 Manejo y control de <i>Aedes aegypti</i>	6
4.3.1 Problemática en el manejo	7
4.3.2 Manejo físico	7
4.3.3 Control químico	8
4.3.4 Uso de Insecticidas piretroides	9
4.3.4.1 Uso de permetrina en México.....	10
4.3.5 Modo de acción de piretroides.....	10
4.3.6 Resistencia de <i>Aedes aegypti</i> a piretroides	11
5.METODOLOGÍA.....	11
5.1 Localización del experimento	11
5.2 Procedencia de la población de campo	12

	PÁG.
5.3 Población de referencia.....	12
5.4 Insecticida evaluado.....	12
5.5 Establecimiento y mantenimiento de la cría del mosquito	13
5.6 Pérdida de la resistencia en larvas	14
5.7 Análisis de mortalidad en larvas.....	15
5.8 Evaluación de la efectividad de permetrina en la población San Luis en aplicaciones de campo	15
5.9 Selección de la población San Luis a permetrina.....	17
5.10 Análisis de mortalidad en pruebas lineales	18
6.RESULTADOS	18
6.1 Comportamiento de las CL₅₀ y FR₅₀ en la población San Luis.....	18
6.2 Comportamiento de las CL₉₀ y FR₉₀ en la población San Luis.....	20
6.3 Mortalidad en pruebas lineales	22
7.DISCUSION	26
8.CONCLUSIONES	30
9.LITERATURA CITADA.....	31

ÍNDICE DE CUADROS

PÁG.

Cuadro 1. CL₅₀ y FR₅₀ a permetrina de <i>Aedes aegypti</i>, de la población San Luis, en ausencia de selección.....	21
Cuadro 2. CL₅₀ y FR₅₀ en la población San Luis de <i>Aedes aegypti</i>, seleccionada con la CL₆₀ a permetrina.....	21
Cuadro 3. CL₉₀ y FR₉₀ a permetrina de <i>Aedes aegypti</i>, de la población San Luis.....	22
Cuadro 4. FR₅₀ y FR₉₀ de la población San Luis, comparados con el porcentaje de mortalidad en las poblaciones San Luis y New Orleans.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁG.

- Figura 1. Mortalidad en 11 generaciones de adultos de *Aedes aegypti* en pruebas lineales. (Con barras de error estándar)..... 25**
- Figura 2. Mortalidad en 11 generaciones de *Aedes aegypti* en las poblaciones San Luis y New Orleans, así como FR₅₀ y FR₉₀ en la población San Luis. 26**

PÉRDIDA Y RECUPERACIÓN DE LA RESISTENCIA A PERMETRINA EN EL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) PROCEDENTE DE CIUDAD VALLES, SAN LUIS POTOSI.

1. INTRODUCCIÓN

Los mosquitos se han convertido en uno de los problemas más importantes en la salud pública ya que representan un papel importante en la transmisión de patógenos que producen enfermedades como paludismo, filariasis, encefalitis japonesa, dengue clásico, dengue hemorrágico, fiebre amarilla y fiebre de Chikungunya (OPS, 2009). Por esa razón, el manejo y control de estos vectores es el elemento más importante para reducir el riesgo del surgimiento y diseminación de estas enfermedades a nivel mundial, y está basado, principalmente, en el uso de insecticidas sintéticos, lo que ha ocasionado el desarrollo de resistencia en varias localidades del mundo, la cual limita la eficiencia de las campañas de control de estos insectos (Karunamoorthi y Sabesan, 2013).

En la actualidad las enfermedades transmitidas por el mosquito *Aedes aegypti* L. se presentan en áreas tropicales y subtropicales de todo el mundo. Este insecto es vector de enfermedades como dengue clásico, dengue hemorrágico, fiebre amarilla y fiebre de Chikungunya, causando un gran impacto en el sector salud, donde se considera que la sexta parte de la población se ve afectada por una o más enfermedades de transmisión vectorial (Secretaría de Salud, 2008). Este vector está adaptado a condiciones domésticas y peridomésticas, por los hábitos hematófagos de las hembras (Thirion, 2003), y debido a la importancia que representa para la salud pública, muchos países mantienen campañas de control permanente a este insecto, (OPS, 2009).

Debido a las necesidades operativas para reducir la problemática ocasionada por este mosquito, en las campañas de control de vectores en México, la aplicación de insecticidas se hace en forma programada (Secretaría de Salud, 2008), lo que sumado a la poca capacidad de dispersión del insecto favorece el desarrollo de resistencia (Hemingway y Ranson, 2000), y de forma indirecta la transmisión de las enfermedades (WHO, 2007). En México, se ha aplicado permetrina en forma rutinaria y programada para controlar al mosquito *Aedes aegypti* desde la década de los 90's, utilizando la técnica de ULV con equipos montados en un vehículo, o a través de la aplicación dentro de las casas con motomochilas. En 2009, se documentaron fallas en el control a este mosquito al aplicar permetrina en Ciudad Valles San Luis Potosí, por lo que se realizó un estudio con una población de mosquitos (Población San Luis) colectada en esa localidad, donde se determinó que era 47.34 veces resistente a este insecticida. En pruebas de campo con esta misma población, se obtuvo 73.5 % de mortalidad, lo que indica falta de efectividad, ya que de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana 032-SSA2- 2010, para que el control sea satisfactorio se debe presentar el 90 % o más de mortalidad. De acuerdo con Tabashnick *et al.*, 2014, este es un caso de resistencia práctica u operativa, la cual podría detectarse con mayor anticipación si se hicieran evaluaciones de efectividad de campo con mayor frecuencia. Debido a la importancia de este producto a nivel mundial y considerando que este insecticida está reconocido por la OMS en campañas de salud pública, se planteó la siguiente investigación con los objetivos indicados a continuación.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar las generaciones requeridas para que una población de *Aedes aegypti* que desarrolló resistencia en campo a permetrina retorne a la

susceptibilidad en ausencia de selección; y determinar las generaciones requeridas para que recupere la resistencia operativa.

2.2 Objetivos específicos

1. Determinar la CL_{50} , en generaciones sucesivas y en ausencia de selección, de una población de *Aedes aegypti* resistente a permetrina, hasta que recupere la susceptibilidad.
2. Seleccionar con la CL_{60} en generaciones sucesivas de la población San Luis, una vez que haya perdido la resistencia. Adicionalmente, determinar la CL_{50} en cada generación seleccionada.
3. Realizar pruebas de campo en cada generación para determinar la efectividad de la permetrina, durante el proceso de pérdida y recuperación de la resistencia.

3. HIPÓTESIS

1. La CL_{50} en la población de San Luis Potosí, descenderá en forma gradual, conforme se incremente el número de generaciones en condiciones de laboratorio y en ausencia de selección.
2. Se requiere más de una generación del insecto con presión de selección artificial con la CL_{60} para que se recupere la resistencia en laboratorio y campo a permetrina.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Importancia de *Aedes aegypti*

El mosquito *Aedes aegypti* transmite el patógeno que produce tanto el dengue clásico como el dengue hemorrágico y ocasiona la muerte de miles de personas a nivel mundial, convirtiéndose en un asunto de salud pública de gran importancia. Esta especie de mosquito es endémica de Asia y África, sin embargo en las últimas tres décadas los casos de dengue en América han aumentado progresivamente (OPS, 2010). Por otro lado, esta especie tiene gran relevancia económica por la inversión de capital que se hace para implementar campañas de control del vector. Casi la mitad de la población está en condiciones de sufrir una enfermedad por transmisión vectorial por habitar áreas tropicales y subtropicales.

4.2. Principales enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti*

4.2.1 Dengue

El dengue es una enfermedad de carácter endémico-epidémico, que constituye hoy en día la arbovirosis más importante a nivel mundial. Según cifras de la OMS a nivel mundial, 2,500 millones de personas se contagian de dengue, de las cuales cerca de 500,000 casos son personas con dengue severo y requieren hospitalización, y 2.5% mueren (WHO, 2014).

Antes de los 70's, solo nueve países habían registrado epidemias severas de dengue, sin embargo, ahora la enfermedad es endémica en más de 100 países de África, el continente americano y el sureste de Asia; siendo más seriamente afectado dicho continente, el sureste de Asia y la región oeste-pacífico. En 2010, se documentaron en el continente americano 1.6 millones de casos, de los cuales 49,000 fueron de dengue severo. Adicionalmente al incremento del número de casos, han surgido nuevos

brotos en países europeos como Francia y Croacia; en 2012 se presentaron los primeros casos en Islas Madeira Portugal, y otros 2,000 casos se detectaron este año en otros diez países de Europa. En 2013 se documentaron casos en Florida USA, y en Yunnan provincia de China, además de un nuevo brote en Singapur después de un lapso de varios años sin presencia de la enfermedad (WHO, 2014).

La OMS coloca a México en el quinto lugar en incidencias en América Latina (De La Mora, 2010). En 2012 se presentaron un total de 50, 368 casos, de los cuales 17,706 fueron de dengue hemorrágico, provocando 170 defunciones; en 2013 hubo un total de 62, 333, de los cuales 18,667 fueron de dengue hemorrágico provocando así la muerte de 104 personas. Durante 2014 se han presentado 26,853 casos, de los cuales 7,287 son de dengue hemorrágico, 19,566 de dengue clásico y con 33 defunciones documentados hasta la semana 46 (CENAPRECE, 2014).

4.2.2 Fiebre amarilla

La fiebre amarilla es una enfermedad viral, causada por un arbovirus del género Flavivirus (Barrett y Higgs, 2007). La enfermedad se puede presentar en dos fases: la fase general y la fase tóxica. La fase general causa fiebre, dolor muscular con dolor de espalda, dolor de cabeza, escalofríos, pérdida de apetito, náuseas o vómitos. La mayoría de los pacientes mejoran, sin embargo, el 15 % de los pacientes entran en la fase tóxica, y la mitad de los pacientes muere. Esta enfermedad es difícil de diagnosticar, debido a que se puede confundir con paludismo grave, el dengue hemorrágico, la leptospirosis, la hepatitis viral, otras fiebres hemorrágicas y otras enfermedades, así como envenenamiento (Barrett y Higgs, 2007).

La población en riesgo está presente en cuarenta y cuatro países endémicos de África y América Latina. En África, se estima que 508 millones

de personas viven en 31 países en riesgo. La población restante en riesgo se encuentra en 13 países de América Latina, entre los que destacan: Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador y Perú. Así mismo se estima que se presentan 200 000 casos de fiebre amarilla en todo el mundo cada año, causando 30,000 muertes. Aunque la enfermedad no ha sido documentada en Asia, la región está en riesgo debido a que las condiciones requeridas para la transmisión están presentes. De los siglos XVII al XIX, se registraron brotes en América del Norte y de Europa (OPS, 2009).

4.2.3 Fiebre de Chikungunya

El virus que produce la enfermedad conocida como Chikungunya es miembro del género *alfavirus*, de la familia *Togaviridae*. Esta enfermedad se diagnostica basándose en síntomas como inflamación de las articulaciones y pruebas de laboratorio. Los síntomas son parecidos a los que produce el dengue clásico. No existe un tratamiento específico para esta enfermedad, y solo se da atención sintomática; generalmente no es fatal. Se sugiere que para prevenir la transmisión del virus se utilice ropa repelente o repelente en forma de cremas o lociones, así como utilizar tela mosquitera (WHO, 2008).

Este virus se aisló por primera vez de la sangre de un paciente febril en Tanzania en 1953, y desde entonces se ha citado como la causa de numerosas epidemias humanas en muchas zonas de África y Asia y más recientemente en áreas limitadas de Europa (Nagpal et al., 2012). Actualmente se presenta también en varias islas del Caribe y se tiene alto riesgo de que sea introducido a Estados Unidos y México (CDC, 2014)

4.3 Manejo y control de *Aedes aegypti*

Para el manejo de *Ae. aegypti* se destacan cuatro elementos básicos: la voluntad política, la coordinación intersectorial, la participación activa de la comunidad y el fortalecimiento de las leyes sanitarias (Kouri, 2006).

Aun cuando las estrategias para el control del vector, se dirigen principalmente a reducir los criaderos, ante epidemias de dengue clásico o hemorrágico, las acciones prioritarias que realizan las autoridades de salud, son el uso de insecticidas a fin de interrumpir rápidamente la transmisión de la enfermedad, disminuyendo la densidad de mosquitos adultos (Castro *et al.*, 2007). En México se mantiene una campaña permanente de atención a esta problemática a través de la Secretaría de Salud, donde sus esfuerzos van desde concientizar a los habitantes de las zonas en riesgo, hasta la aplicación de insecticidas por aspersiones espaciales, impregnación de paredes, o colocación de estos a los contenedores de agua de uso doméstico (Secretaría de Salud, 2008).

4.3.1 Problemática en el manejo

En general, las estrategias de control del mosquito, han sido poco efectivas, debido al uso intensivo e inadecuado de insecticidas y a la poca participación de la comunidad (Gómez-Dantes *et al.*, 2011); además de que ha sido difícil controlar este mosquito por su capacidad de adaptación y recuperación ante perturbaciones de fenómenos naturales (sequías) o intervenciones humanas (medidas de control). Un ejemplo de ellas es la capacidad del huevo para resistir a la desecación y sobrevivir sin agua (CDC, 2012) durante semanas, meses e inclusive hasta años (Fernández, 2009).

4.3.2 Manejo físico

El manejo físico del mosquito transmisor del dengue, forma parte de las estrategias de manejo del vector dentro de la Secretaría de Salud, donde se trabaja constantemente en la reducción de criaderos y los programas de saneamiento ambiental. Esto se hace a través de la colaboración de la población para eliminar llantas viejas, macetas y demás contenedores

inservibles que puedan almacenar agua de lluvia, que favorecen la proliferación del mosquito (Montada, 2006).

El programa patio limpio y cuidados del agua consiste en concientizar a la comunidad sobre acciones sencillas, para que los habitantes las adopten e integren como rutinas culturales; incluyendo acciones de eliminación de basura, destrucción o protección de recipientes que puedan funcionar como criaderos, así como el uso de mosquiteros en puertas y ventanas. Los cuidados del agua en el hogar incluyen mantener cerrados o tapados los recipientes que contienen el vital líquido para uso doméstico y consumo humano (Secretaría de Salud, 2008) En esta área del programa de manejo de vectores, es de suma importancia la colaboración de la comunidad, es decir, que las personas se involucren en actividades relacionadas a la prevención. Este programa puede ser eficiente en la medida en que trabajen en conjunto la Secretaría de Salud y la población (Bobadilla, 2010).

El impacto en la eliminación de recipientes tiene dos efectos: en el primero se consigue que la población identifique los contenedores que debe eliminar, tales como llantas, latas vacías, botellas, macetas, y cualquier otro objeto o recipiente que permita el almacenamiento de agua. El segundo efecto benéfico es concientizar a la comunidad acerca del problema de salud ocasionado por el dengue, lo que ayuda a que adopten las precauciones recomendadas (Fernández, 2009).

4.3.3 Control químico

En Singapur se usó el malatión al 5 % en la década de los 70's para el control de mosquitos del género *Aedes* (Lai *et. al.* 2001), sin embargo, se discontinuó su uso por su fuerte olor y se remplazó por la bioresmetrina. A su vez, ésta fue remplazada por la permetrina en 1980 (Sulaiman *et. al.* 1993).

En México se hacen aplicaciones periódicas con productos insecticidas como gránulos de temefos y espinosad a los cuerpos de agua en áreas urbanas para el control de larvas (WHO, 2006). Para adultos se realizan aplicaciones de productos a base de permetrina, lambdacialotrina, pirimifós metílico, propoxur, malatión y clorpirifós en tratamientos espaciales o residuales (Secretaria de Salud, 2008). Los piretroides tienen una aceptación favorable para el control de mosquitos debido a la baja toxicidad para personas y por ser altamente eficaces a bajas concentraciones para producir efecto de derribo (knockdown) y matar a los insectos (Hemingway and Ranson, 2000).

4.3.4 Uso de Insecticidas piretroides

Los insecticidas piretroides son productos de amplio espectro que actúan principalmente por contacto y se han utilizado en campañas de salud pública en todo el mundo para controlar mosquitos; tienen una toxicidad aguda relativamente baja para los mamíferos, resultando en un control de plagas más selectivo y seguro que los organofosforados y carbamatos (Bobadilla, 2010).

Aun cuando existen otros grupos químicos autorizados para el control de mosquitos, los piretroides tienen una participación activa en el sector salud y son ampliamente utilizados ya que se consideran adulticidas muy eficaces (MOPH, 2010). Aun cuando fue en la década de los 80's cuando se empezaron a utilizar en áreas agrícolas, fue a partir de la década de los 90 cuando se autorizó su uso en campañas de salud pública. En México los piretroides son el grupo que sustituyó al DDT y el primer producto utilizado fue la deltametrina en polvo humectable al 5%, a dosis de 15 mg/m² para aplicaciones con motomochila y de 25 mg/m² para rociado con equipo manual. Otros productos recomendados de este grupo químico son la lambdacihalotrina PH al 10%, (a la dosis de 15 mg/m²); lambdacihalotrina CS al 2.5 % (a la dosis de 15 mg/m²); bifentrina PH al 10% (a la dosis de 20

mg/m² y ciflutrina PH al 10% (a la dosis de 20 mg/m²) (NOM-032-SSA2-2002).

4.3.4.1 Uso de permetrina en México

En México, la permetrina fue uno de los ingredientes activos más usados para el control de vectores en la década de los 90's, y en la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, se recomendó para tratamientos espaciales el uso de permetrina, esbioaletrina y butóxido de piperonilo, (esos ingredientes están presentes en los productos comerciales Aqua Reslin Super y Aquamist). Cuando se detectaban posibles casos de dengue, se aplicaban en las comunidades ciclos de tres a cinco días consecutivos y podía variar dependiendo de la evolución epidemiológica del padecimiento y del efecto de otras medidas dirigidas a las etapas larvarias de los mosquitos. Al estar recomendado dentro de una Norma Oficial Mexicana, el uso de permetrina para nebulización fue intensivo en todo el país, lo que trajo como consecuencia que se generara resistencia en varias localidades (Ponce, 2009). En 2009 se publicó la primera lista de insecticidas aprobados por el CENAVECE y en ella ya no se incluyó la permetrina. Actualmente, en la lista de insecticidas aprobados se incluyen varios productos piretroides, por lo que su uso puede seguir incrementando el problema de resistencia (al compartir los mecanismos de resistencia), y como consecuencia, disminuir la efectividad en campo de este grupo químico.

4.3.5 Modo de acción de piretroides

Los insecticidas piretroides actúan sobre el axón en los sistemas nerviosos central y periférico, manteniendo abiertos los canales de sodio en las membranas de las neuronas, causando hiperexcitación y, en algunos casos, bloqueo de nervios. Inicialmente estimulan las células nerviosas a producir descargas repetitivas y eventualmente causan parálisis y la muerte. Comparten el modo de acción con los insecticidas organoclorados y son

considerados venenos axónicos. El efecto estimulante de los piretroides es mucho más pronunciado que el de los organoclorados. (DeVries, 1979).

4.3.6 Resistencia de *Aedes aegypti* a piretroides

La resistencia a piretroides es amplia en *Ae. aegypti*, aunque también se ha detectado en *An. albimanus*, (Dzul, et al. 2007), *An. stephensi*, *An. gambiae* y *Cx. quinquefasciatus*, entre otros (Hemingway y Ranson, 2000). Bisset *et al.*, (2007) documentaron que en Perú existen poblaciones de *Ae. aegypti* con altos niveles de resistencia a DDT y piretroides. En otros países, partir de la década de los 80's se detectaron los primeros casos de resistencia a permetrina en *Ae. aegypti* (Bisset, 2009).

En México los piretroides son los insecticidas más utilizados por el sector salud para el control de mosquitos adultos y se ha reportado en varios Estados, falta de efectividad de estos productos (Rodríguez, 2004, Rojas, 2011). En estudios más completos realizados en México, (Ponce et al. 2009) detectaron resistencia generalizada a permetrina por el mecanismo de kdr (knockdown resistance) en varios estados de la República, situación que podría comprometer la eficiencia de control con este grupo químico en las campañas de Sector Salud.

5. METODOLOGÍA

5.1 Localización del experimento

Los experimentos con larvas se realizaron en el insectario de Entomología y Acarología, del Posgrado en Fitosanidad, del Colegio de Postgraduados, ubicado en el Km 36.5 de la carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México y en áreas abiertas del campo experimental del mismo Campus, se realizaron pruebas lineales sin obstáculos con insectos adultos.

5.2 Procedencia de la población de campo.

La población San Luis fue colectada en 2010 en estado de huevo en Ciudad Valles, San Luis Potosí, con el apoyo de la Coordinación de Control de Vectores de este Estado. La colecta de huevos se realizó con ovitrampas que fueron colocadas en áreas sombreadas de las casas (en patios e interiores). Estas ovitrampas consisten en recipientes de medio litro de capacidad, los cuales se llenan con agua y después se les coloca en las paredes un pedazo de tela conocida como vellón, la cual se retira a los ocho días y se guarda en un lugar fresco y seco, evitando exponerla al sol.

5.3 Población de referencia

Con el fin de comparar la población San Luis, se usó como referencia la población susceptible de *Aedes aegypti* (Población New Orleans), que fue proporcionada por la Universidad de Nuevo León, y que a su vez se mantiene en cría permanente en el insectario.

5.4 Insecticida evaluado

Para evaluar la pérdida y recuperación de la resistencia a permetrina en la población San Luis de *Aedes aegypti*, se realizaron los bioensayos en larvas, utilizando el insecticida piretroide permetrina en grado técnico (93%), que fue proporcionado por la empresa Quimix S.A de C.V. y como solvente se usó acetona pura. Para las evaluaciones de campo, se utilizó la formulación comercial Aqua Reslin Super que contiene 10.87 % de permetrina, 0.15 % de esbioaletrina y 11 % de butóxido de piperonilo.

5.5 Establecimiento y mantenimiento de la cría del mosquito

Se estableció la colonia y se criaron los insectos por el procedimiento de rutina: el material biológico en estado de huevo fue llevado a una cámara de cría a temperatura de 26 ± 2 °C y humedad relativa de $70 \pm 5\%$ y fotoperiodo 12:12 h, donde se colocaron los huevos en charolas plásticas con capacidad de 14 L de agua. Una vez que eclosionaron los huevos, las larvas se separaron en varias charolas con la finalidad de concentrarlas en densidades poblacionales adecuadas, para que pudieran alcanzar un óptimo desarrollo. A las larvas se les proporcionó para su desarrollo alimento especial para roedor (Rat Chow 5001).

El período larval transcurrió en las charolas plásticas de 14 L de capacidad. Cada tres o cuatro días se cambió el agua para evitar la acumulación de residuos en la superficie y la muerte por asfixia de las larvas, a causa del exceso de alimento disuelto en el agua. Una vez que las larvas puparon, se separaron en recipientes de 500 mL, los cuales fueron colocados en jaulas entomológicas de 80X50X50 cm, con una abertura al frente para manipular los insectos adultos. Dentro de la jaula se colocó un recipiente con 100 mL de agua azucarada a una concentración del 10% para alimentar a los insectos adultos. Para alimentar a las hembras, se colocó un hámster dorado inmovilizado durante 15 minutos todos los días. Para coleccionar los huevos se colocó un recipiente con agua, recubierto con papel bond para que las hembras ovipositaran.

Del material biológico que se obtuvo en cada generación del mosquito, se usó una parte para realizar los bioensayos con larvas, otra para realizar las pruebas de campo con insectos adultos, y a partir de la generación F_8 , y hasta la F_{10} , se usó una parte del material en estado de larva, para realizar la selección artificial con la CL_{60} de permetrina.

5.6 Pérdida de la resistencia en larvas

Los bioensayos se realizaron en larvas ya que se ha reportado que aun cuando el producto comercial sea un adulticida, también se exponen las larvas durante la aplicación de un producto en campo y como consecuencia puede haber desarrollo de resistencia a piretroides en el estado larval de este mosquito (Rodríguez et al. 2007, Ardila-Roldán et al. 2013). En la población San Luis, utilizada para esta investigación, Rojas (2011) había determinado que era 47.34 veces más resistente a permetrina.

Los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología sugerida por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2005). Para obtener la ventana de respuesta biológica, se emplearon vasos desechables (marca Reyma) de 120 mL de capacidad, a los que se agregaron 100 mL de agua. Posteriormente se transfirieron 20 larvas de tercer estadio tardío. Por otra parte se preparó una solución madre de permetrina al 1%, a partir de la cual se realizaron diluciones seriadas con acetona de forma logarítmica de 1 hasta 1×10^{-6} %. Se aplicó 1 mL de la solución de insecticida a cada vaso.

Posteriormente se determinaron las dosis intermedias para realizar el bioensayo completo. Se aplicaron entre cinco y nueve dosis por bioensayo y se realizaron 5 repeticiones en días diferentes; al testigo se le aplicó 1 mL de acetona. Los datos de mortalidad se tomaron a las 24 horas, considerando muertas las larvas que carecían de movimiento o que no presentaban movimientos normales, típicos de su comportamiento.

Estos bioensayos se realizaron en cada generación, en ausencia de selección, hasta que los valores de la CL_{50} (originalmente 47.34X) fueron iguales estadísticamente a la población susceptible de referencia.

5.7 Análisis de mortalidad en larvas

El análisis de datos de mortalidad en larvas se realizó mediante el programa PROC PROBIT (SAS Institute, 2001) para obtener los valores de la Concentración Letal 50 (CL₅₀), los límites de confianza al 95% y línea de respuesta logarítmica dosis-mortalidad. El factor de resistencia (FR₅₀) (CL₅₀ de la población San Luis entre la CL₅₀ de la población susceptible de referencia); error estándar de la pendiente, valor de ajuste del modelo de Chi-cuadrada y la Concentración Letal del 95% (CL₉₅) (ppm).

Para el análisis e interpretación de los FR₅₀, se emplearon los criterios de resistencia establecidos por la WHO (2005), que establece: FR₅₀ de 0-10 = Población susceptible, FR₅₀ \geq 10 y \leq 20 = verificación, FR $>$ 20, se trata de una población resistente.

5.8 Evaluación de la efectividad de permetrina en la población San Luis en aplicaciones de campo

La variación de la efectividad de la permetrina en la población San Luis, se determinó en condiciones de campo, través de pruebas lineales. Esto se hizo para cada generación del mosquito que se crió en laboratorio en ausencia de selección, hasta que perdió la resistencia. Paralelamente se hizo la misma prueba con la población New Orleans, para comparación.

Cuando la población San Luis ya era susceptible se empezó a seleccionar con la CL₆₀ de permetrina en estado larval y los adultos que se obtuvieron se utilizaron para determinar la efectividad del producto comercial en campo.

Las pruebas se llevaron a cabo en un área abierta sin obstáculos que obstruyeran el contacto entre el insecticida y los insectos expuestos. El diseño experimental consistió en un trayecto lineal de 100 m de longitud, a

lo largo del cual se colocaron 20 jaulas entomológicas (dos cada 10 metros) de dimensiones 10X10X10 cm, a las que previamente se les habían introducido (a cada una) 20 mosquitos hembras de 3 a 5 días de edad, alimentadas con una solución azucarada al 10% (WHO, 2006).

Las jaulas fueron colgadas en estructuras en forma de “T” a una altura de 150 cm del suelo. En cada estructura se colocaron dos jaulas, una con la población San Luis y la otra con la población New Orleans. Las jaulas se colocaron a diferentes distancias de la boquilla de salida del insecticida (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 m) (WHO, 1996). El testigo consistió de una jaula con 20 insectos de la población San Luis y otra con la misma cantidad de insectos de la población New Orleans, sin exposición al insecticida, que fueron colocadas en una zona alejada de donde se hizo el tratamiento. Se hicieron seis repeticiones por generación para ambas poblaciones de mosquitos.

Para la aplicación del insecticida se usó una máquina nebulizadora de ULV, (marca London de 18 HP) con sistema de control de flujo insecticida, montada sobre un vehículo. Se mezcló 100 mL del producto comercial por cada 900 mL de agua para hacer una mezcla insecticida de 1 L. El equipo fue calibrado para que descargara 420 ml/min. El tamaño de gotas estuvo comprendido entre 22 y 25 μ y se determinó con la técnica de impregnar laminillas de vidrio (portaobjetos) con óxido de magnesio. Estas pruebas se hicieron siguiendo las técnicas y procedimientos sugeridos por OMS (WHO, 2006).

Las aplicaciones se realizaron entre las 18:00 y 21:00 horas para aprovechar los momentos en que existen condiciones de inversión de temperatura (Fernández, 2009) que son ideales para la aplicación de los insecticidas a ULV. Así mismo la velocidad del vehículo, durante la aplicación fue de 10 km/h y el recorrido fue perpendicular a la dirección del

viento y a la línea que formaba la colocación de las jaulas, por una distancia de 100 m antes y después de donde se encontraban los insectos, de modo que la distancia total durante la aplicación fue de 200 m (WHO, 2009).

Después de realizar la aplicación, las jaulas se dejaron 30 minutos en el campo, posteriormente se llevaron al laboratorio y los mosquitos se transfirieron a vasos encerados de 500 ml de capacidad, los cuales se taparon con un pedazo de tul y una liga, para evitar que se salieran los insectos, sobre el tul se colocó un algodón previamente humedecido con solución azucarada al 10%, con la finalidad de alimentar los insectos. Una hora después de la aplicación, se realizó el conteo de mosquitos caídos. A las 24 h se registró la mortalidad (WHO, 1996). Con el número de insectos muertos se calculó el porcentaje de mortalidad para cada población.

5.9 Selección de la población San Luis a permetrina

Una vez que la población de San Luis perdió la resistencia, se seleccionó con permetrina en laboratorio en estado larval y se utilizaron los adultos (provenientes de cada generación) para determinar la pérdida de efectividad en pruebas lineales en campo. Para realizar esta selección a permetrina, se utilizaron aproximadamente diez mil larvas de tercer instar tardío por generación, a partir de la F₈. Las larvas se expusieron a la CL₆₀ del insecticida, previamente determinada (para cada generación). Este procedimiento se hizo colocando las larvas en un recipiente de cristal Pírex, aforando el mismo a 990 mL de agua y aplicando 10 mL de solución de insecticida. Se dejaron en este tratamiento durante 24 horas y las larvas sobrevivientes se pasaron a charolas plásticas de 14 L de capacidad y se alimentaron para llevarlas a estado adulto. Se usaron 1320 adultos hembras (por generación de selección) para hacer la prueba de campo y el resto se empleó para obtener huevo y continuar con la selección de la generación siguiente.

Con una parte del huevo obtenido en la primera selección, se obtuvieron larvas con las que se determinó la CL_{50} . Con el huevo restante se obtuvieron larvas a las que se aplicó la CL_{60} . Este procedimiento de laboratorio solo se repitió tres veces, ya que durante las pruebas paralelas de efectividad de campo se obtuvo baja mortalidad, por lo que se decidió detener la selección artificial.

5.10 Análisis de mortalidad en pruebas lineales

La efectividad del producto en campo, se determinó considerando los criterios de la Secretaría de Salud, donde, (de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2010, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector) se establece que si el producto mata el 90 % o más de los adultos en la prueba, es efectivo, lo que indica susceptibilidad de la población. Mortalidades menores al 90 % no se consideran satisfactorias y pueden ser un indicador de que se esté desarrollando resistencia en esa población particular. Se determinó el promedio del porcentaje de mortalidad en las seis repeticiones de pruebas lineales.

6. RESULTADOS

6.1 Comportamiento de las CL_{50} y FR_{50} en la población San Luis

En ausencia de selección, el factor de resistencia en la población San Luis disminuyó de 47.34X hasta 2.27X en la F_7 , valor que se confirmó en la F_8 , ya que se repitió, estadísticamente. Esto significa, que la población San Luis, requiere aproximadamente siete generaciones sin selección para que pierda la resistencia y los valores de CL_{50} sean estadísticamente iguales a la población New Orleans (Cuadro 1).

Se consideró que en la F_8 , la población había llegado a un nivel de susceptibilidad, donde era difícil que descendiera más el valor de la CL_{50} (los límites de confianza al 95 % se superponen con la población susceptible). Por tal situación, se inició la selección artificial con la CL_{60} a partir de esta generación.

En la primera selección, F_9 (Cuadro 2), se obtuvo un FR_{50} de 1.64X, valor inferior al obtenido en la generación previa. En la segunda selección, F_{10} , se obtuvo un FR de 5.8X, y en una tercera selección, F_{11} , se obtuvo un FR de 2.9X. Estadísticamente los resultados de la F_9 y F_{11} son iguales, la F_{10} es ligeramente diferente. Estos resultados, así como la baja mortalidad obtenida en las pruebas lineales en mosquitos adultos, (Cuadro 4) indican que una población previamente seleccionada con permetrina, aunque presente valores de CL_{50} cercanos a los de la población susceptible, en el campo se comporta como una población resistente.

En cuanto a las pruebas de ajuste de bondad, para la ji-cuadrada (X^2) con $\alpha=0.05$, se establece a manera de hipótesis nula, que hay ajuste del modelo probit a los datos obtenidos de los bioensayos; y en la hipótesis alternativa, se establece que no existe dicho ajuste del modelo a los datos. Para que se acepte la Hipótesis nula, el valor de P (value), debe ser menor que el valor de X^2 ($P \leq X^2$). De acuerdo a los valores obtenidos para X^2 , (Cuadros 1 y 2) en los bioensayos, y considerando que los valores obtenidos para P, son menores a 1 ($F_1,0.5872$; $F_2,0.7716$; $F_3,0.0368$; $F_4,0.4459$; $F_5,0.6050$; $F_6,0.4860$; $F_7,0.3421$, $F_8,0.4165$; $F_9,0.0500$; $F_{10},0.1964$; y $F_{11},0.4360$), se determina que si hay un ajuste del modelo probit a los datos obtenidos, por lo que la información obtenida mediante los bioensayos es confiable.

La pendiente de las líneas de regresión (Cuadro 1 y Cuadro 2) obtenidas en la población San Luis, fueron mayores que las obtenidas en la

población New Orleans; esto sugiere, que en la población New Orleans con una dosis menor se produce una mayor mortalidad.

6.2 Comportamiento de las CL₉₀ y FR₉₀ en la población San Luis

El comportamiento en los factores de resistencia del 90% (FR₉₀), sigue el mismo patrón que el de los FR₅₀ (Cuadro 1), para F₁, el FR₉₀ es de 54.32X, F₇, 7.38X y F₈ con 6.47X (Cuadro 3), los valores son diferentes solo numéricamente a los obtenidos en los FR₅₀, porque en términos de resistencia, de acuerdo a lo establecido por WHO, (2005), la pérdida de la resistencia se observa igual en ambos indicadores.

En los bioensayos realizados después de la selección con la CL₆₀, se tiene, para la F₉, primer generación de selección un FR₉₀ de 5.36X, para la F₁₀, 8.01X, y para F₁₁ 4.29X (Cuadro 3), estos valores presentan diferencias mínimas a los obtenidos en los FR₅₀ (Cuadro 2), y en términos de resistencia, indican que posterior a la selección, la población se mantiene susceptible.

Cuadro 1. CL₅₀ y FR₅₀ a permetrina de *Aedes aegypti*, de la población San Luis, en ausencia de selección.

Población	(CL₅₀)^a	(LC.95%)^b	(FR₅₀)^c	(b±EE)^d	(X²)^e
New Orleans	0.0059	0.0023-0.0062	-----	0.5 ± 0.08	4.85
(S. L.)*F1	0.2793	0.2521-0.3242	47.34	2.23 ± 0.16	2.83
S. L. F2	0.1977	0.1703-0.2342	33.51	1.59 ± 0.11	2.53
S. L. F3	0.1268	0.0912-0.1421	21.49	1.63 ± 0.21	10.22
S. L. F4	0.0658	0.0544-0.0821	11.14	1.48 ± 0.11	3.72
S. L. F5	0.0377	0.0338-0.0431	6.38	1.87 ± 0.15	2.72
S. L. F6	0.0267	0.0212-0.0319	4.54	1.78 ± 0.12	4.45
S. L. F7	0.0134	0.0133-0.0337	2.27	1.11 ± 0.08	1.76
S. L. F8	0.0134	0.0059-0.0225	2.27	1.60 ± 0.21	2.55

^aConcentración letal media (ppm), ^blímites de confianza del 95%, ^cfactor de resistencia 50 (CL₅₀ de la población San Luis entre la CL₅₀ de la población de referencia), ^derror estándar de la pendiente, ^evalor de ajuste del modelo de ji-cuadrada. *Población San Luis.

Cuadro 2. CL₅₀ y FR₅₀ en la población San Luis de *Aedes aegypti*, seleccionada con la CL₆₀ a permetrina.

Población	(CL₅₀)^a	(LC.95%)^b	(FR₅₀)^c	(b±EE)^d	(X²)^e
S. L. F9	0.0097	0.0074-0.0162	1.64	2.39 ± 0.37	7.81
S. L. F10	0.0342	0.0617-0.0927	5.8	1.55 ± 0.18	4.69
S. L. F11	0.0171	0.0167-0.1057	2.9	2.03 ± 0.15	4.84

^aConcentración letal media (ppm), ^blímites de confianza del 95%, ^cfactor de resistencia 50 (CL₅₀ de la población San Luis entre la CL₅₀ de la población de referencia), ^derror estándar de la pendiente, ^evalor de ajuste del modelo de ji-cuadrada.

Cuadro 3. CL₉₀ y FR₉₀ a permetrina de *Aedes aegypti*, de la población San Luis.

Población	(CL₉₀)^a	(LC.95%)^b	(FR₉₀)^c
New Orleans	0.034	0.0132 - 0.0717	
S. L. F1	1.847	0.8532 - 1.9819	54.32
S. L. F2	1.426	0.9633 - 1.8116	41.94
S. L. F3	0.995	0.4437 - 2.3709	29.26
S. L. F4	0.684	0.3634 - 0.7246	20.13
S. L. F5	0.421	0.1467 - 0.4317	12.38
S. L. F6	0.308	0.2133 - 0.3962	9.06
S. L. F7	0.251	0.1956 - 0.2723	7.38
S. L. F8	0.220	0.1251 - 0.2446	6.47
S. L. F9*	0.182	0.0918 - 0.1936	5.36
S. L. F10*	0.272	0.1071 - 0.3733	8.01
S. L. F11*	0.146	0.0948 - 0.1514	4.29

^aConcentración letal del 90% de la población (ppm), ^b límites de confianza del 95%, ^cfactor de resistencia del 90% (CL₉₀ de la población San Luis entre la CL₉₀ de la población de referencia), *Generaciones seleccionadas con la CL₆₀.

6.3 Mortalidad en pruebas lineales

La mortalidad en pruebas lineales en cada generación de la población San Luis sin seleccionar (Cuadro 4), aumentó conforme descendieron los valores de los FR₅₀. Esto se presentó en las generaciones F₁-F₈. En la F₁ se obtuvo mortalidad del 73.5% y del 97.8% en la F₈, este último valor es igual al que presenta la población New Orleans. El dato de la F₈ corresponde con un FR de 2.27X, que indica susceptibilidad, de acuerdo a los parámetros empleados por la WHO, (2005).

Sin embargo, en la primera prueba de campo que se hizo con adultos que provenían de larvas que habían sido seleccionadas con la CL₆₀ de la F₈, el porcentaje de mortalidad presentó un decremento muy drástico (Fig. 2), pasando de un 97.8% de mortalidad en la F₈ a un 43% en una sola

generación de selección, es decir de un punto donde se controló de manera satisfactoria, a un valor donde en campo ya no había efectividad. En la F₁₀, segunda generación seleccionada se obtuvo solamente un 23.5% de mortalidad y para la F₁₁ (tercera selección), se obtuvo 40% de mortalidad, los datos de estas tres generaciones seleccionadas son muy variables e inesperados. Es decir que mientras en la F₈, sin seleccionar, se obtuvo un valor de CL₅₀ igual al de la población susceptible usada como referencia y que corresponde con una mortalidad de campo cercana al 100 %, en la primera generación seleccionada con la CL₆₀, se obtiene un valor de CL₅₀ cercano al de la población New Orleans, pero en campo la mortalidad de adultos es muy baja.

Cuando se realizaron las pruebas lineales con la población San Luis, se realizaron simultáneamente con la población New Orleans, que en este caso funcionó como testigo para comprobar la efectividad del producto comercial, en poblaciones que no han sido seleccionadas. Los resultados de mortalidad en la población Nuevo Orleans, a lo largo de las once generaciones que duró este experimento, presentaron poca variación, y en todas las evaluaciones. La mortalidad fue mayor al 90 % (la mínima fue de 92.5% y la máxima 99.0% (Fig. 2)).

Cuadro 4. FR₅₀ y FR₉₀ de la población San Luis, comparados con el porcentaje de mortalidad en las poblaciones San Luis y New Orleans.

Generación	(FR₅₀)^a	(FR₉₀)^b	(%Mort. S.L.)^c	(%Mort.N.O.)^d
F ₁	47.34	54.32	73.5	96.3
F ₂	33.51	41.94	76.3	95
F ₃	21.49	29.26	77.8	94.85
F ₄	11.14	20.13	81.5	98
F ₅	6.38	12.38	88.5	97.3
F ₆	4.54	9.06	90	94.23
F ₇	2.27	7.38	94	99.02
F ₈	2.27	6.47	97.8	97.45
F ₉ *	1.64	5.36	43	94.5
F ₁₀ *	5.8	8.01	23.5	92.9
F ₁₁ *	2.9	4.29	40	92.5

^aFactor de resistencia 50, ^bFactor de resistencia 90, ^cPorcentaje de mortalidad en población San Luis. ^dPorcentaje de mortalidad en población New Orleans, *Generaciones seleccionadas con la CL₆₀.

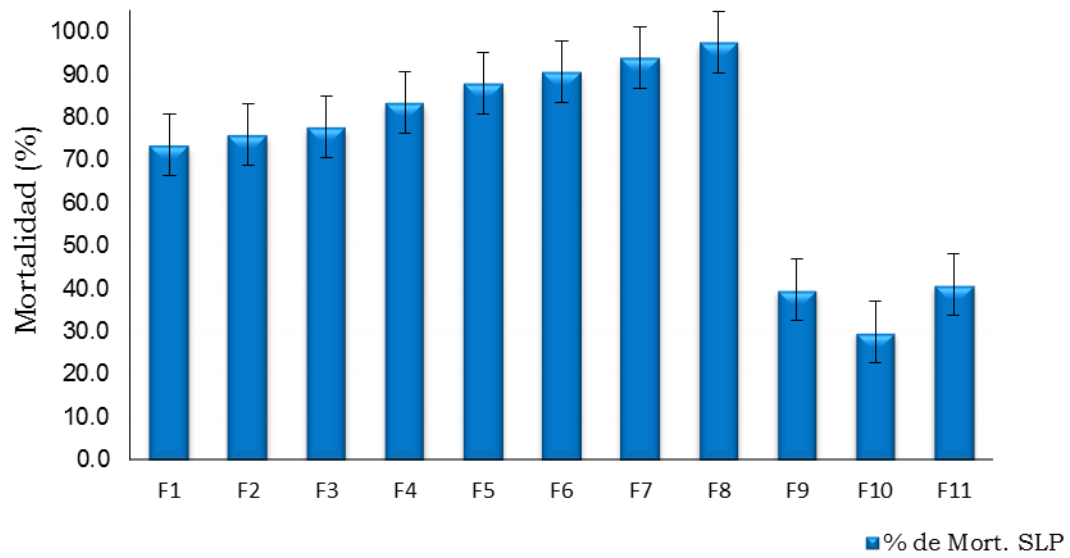
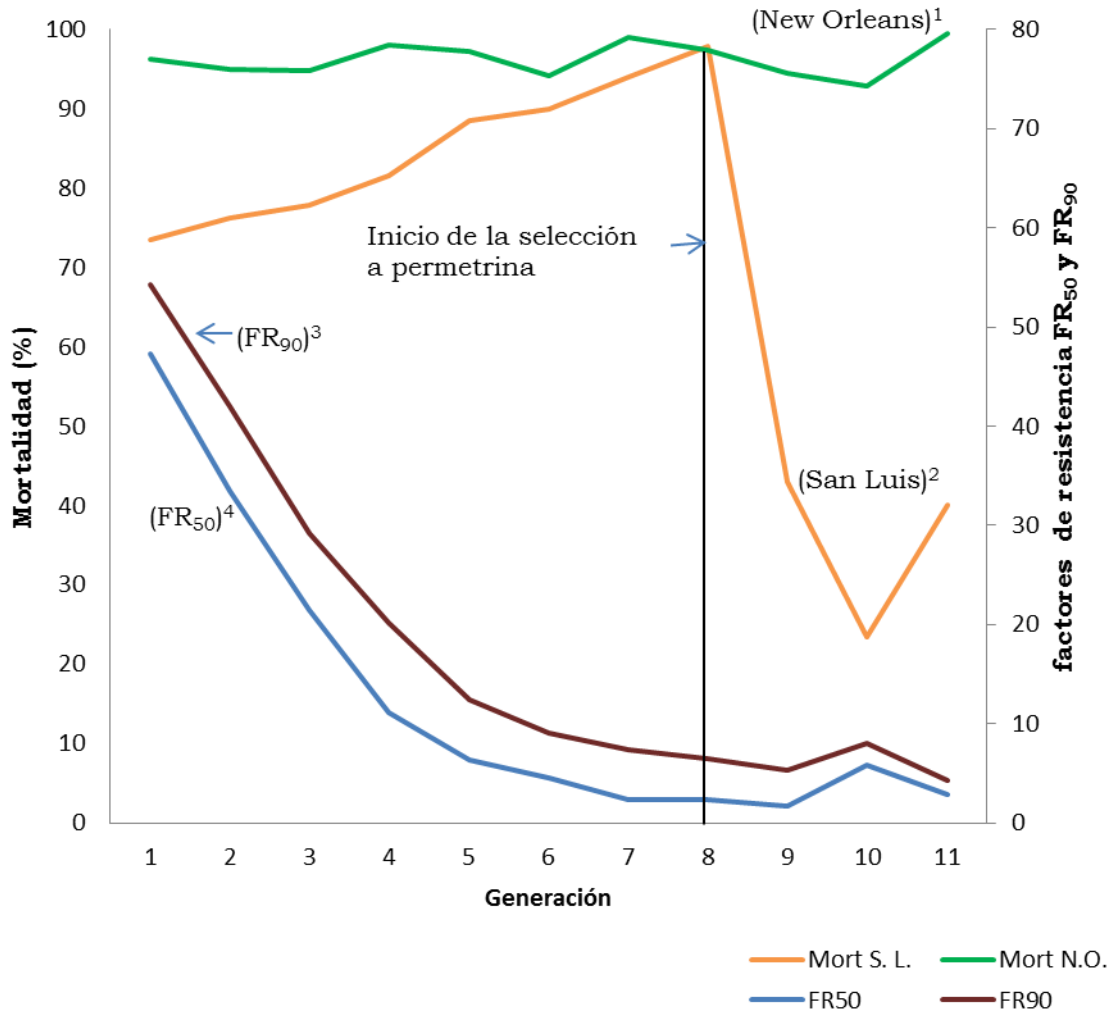


Figura 1. Mortalidad en 11 generaciones de adultos de *Aedes aegypti* en pruebas lineales. (Con barras de error estándar).

Pérdida de la resistencia a permetrina en laboratorio y mortalidad en campo.



¹Porcentaje de mortalidad en campo en la población New Orleans, ²Porcentaje de mortalidad en campo en la población San Luis y ³FR₉₀ en la población San Luis, ⁴FR₅₀ en la población San Luis.

Figura 2. Mortalidad en 11 generaciones de *Aedes aegypti* en las poblaciones San Luis y New Orleans, así como FR₅₀ y FR₉₀ en la población San Luis.

7. DISCUSION

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, indican que son suficientes siete generaciones para que la población San Luis, resistente a permetrina presente nuevamente susceptibilidad al mismo producto (en condiciones de laboratorio y ausencia de selección), pasando de un FR₅₀ de

47.3X en la F₁, a 2.27X en la F₇, bajo los criterios de la WHO, (2005). En relación a este descenso del FR₅₀, es esperado este tipo comportamiento en ausencia de selección, aunque el número de generaciones puede ser variable.

En investigaciones relacionadas, donde el objetivo fue determinar las generaciones necesarias para que una población susceptible desarrolle resistencia a lambdacialotrina, mediante selección artificial Chaverra-Rodríguez, (2012) establece que se requieren 7 generaciones del mosquito sometidas a presión de selección, para que la población aumente de un FR de 24.22X en la F₁ a 61.52X en la F₇. La mortalidad en adultos fue del 100% en F₁ y de un 35% en la F₇. En otra investigación Rodríguez *et al.*, (2005), encontraron que una población resistente a deltametrina en 144X, después de 12 generaciones de selección se incrementó este factor a 1,425X.

En bioensayos con larvas se ha documentado tolerancia a permetrina, donde la actividad de monoxigenasas del citocromo P450 fueron inducidas mediante la exposición a permetrina (Poupardin, 2008). Los datos obtenidos en este trabajo, no mostraron un incremento estadísticamente significativo a través de las tres generaciones de selección, donde el FR₅₀ no superó las 10 unidades, con datos de 1.64X, 2.9X y 5.8X respectivamente (Cuadro 2), información que para el caso de larvas nos indica que es una población susceptible.

Se ha documentado ampliamente que la variación en las tasas de desarrollo de la resistencia dependen de factores genéticos, biológicos y operacionales asociados con el control de los mosquitos, tales como el origen geográfico de las poblaciones, el insecticida usado y la dosificación a la que se somete (Paeporn *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2002, 2003, 2005; Hamdan *et al.*, 2005; Bisset *et al.*, 2006; Tikar *et al.*, 2009).

También, se sabe que la velocidad y grado de desarrollo de la resistencia, dependen de la frecuencia y el tipo de genes de resistencia en la población, la dosificación de insecticida usada y la frecuencia de la aplicación, (Nazni *et al.*, 1998). Rodríguez *et al.*, (2002) observaron un aumento de tres veces el FR en tan sólo cuatro generaciones con selección a temefós en una cepa de *Aedes aegypti* de Cuba. Mientras que Tikar *et al.*, (2009) observaron un incremento en 1.89 veces en cinco generaciones con selección al temefós en India. Este incremento es muy parecido al obtenido en el presente trabajo, donde el incremento global fue 3.53 veces, en solo tres generaciones de selección. En Colombia, Ocampo *et al.*, (2011) usando el parámetro tiempo letal 50 (TL₅₀), mostraron que las tasas de desarrollo de resistencia en adultos de este mosquito seleccionados en laboratorio con lambdacialotrina se incrementaron gradualmente a una tasa similar en larvas y adultos.

La resistencia a permetrina en el mosquito puede ser atribuible a que se ha utilizado en forma intensiva en condiciones de epidemia o incremento de las poblaciones de *Aedes aegypti*, (Vontas, 2001). Se ha asociado la resistencia de este producto al efecto de resistencia cruzada entre el DDT y piretroides en general, a través del mecanismo de knockdown, pero también esta resistencia está asociada a mecanismos de resistencia metabólica (Rodríguez *et al.*, 2002).

En relación a la mortalidad de las tres generaciones sometidas a selección artificial, donde en pruebas de campo con adultos se obtuvo menos del 50 % de mortalidad (Fig. 2), toda vez que el FR₅₀ obtenido se mantuvo estadísticamente igual al obtenido en la generación previa a la selección (Cuadro 4); este comportamiento puede estar asociado, con alguna mutación que modifique el comportamiento o la fisiología del insecto donde el sitio activo permanezca parcialmente funcional o no funcional y puede inducir resistencia en el primer proceso de selección (Pasteur y Raymond, 1996;

Fernández-Salas *et al.*, 2007; Ponce *et al.*, 2009). Rodríguez, (2004) argumenta que existen diferentes regiones del genoma con alto grado de polimorfismo.

Así mismo en estudios de variabilidad genética a nivel molecular, se ha demostrado que estas diferentes regiones del genoma poseen diferentes niveles de cambio. Los genes de copia simple tienen un nivel relativamente bajo de sustitución, porque cualquier cambio en la región codificadora puede producir serios defectos en la codificación de la proteína. Efectos similares pueden ocurrir en regiones no codificadoras del genoma. En cambio, el ADN repetitivo no está bajo tales restricciones funcionales y la variabilidad en esas regiones del genoma es mayor que los genes de copia simple (Li, 1991). Esto, puede estar relacionado, de alguna manera, con el apagado o encendido de genes, lo cual en estudios realizados con *E. coli* reveló, que el inactivar genes de resistencia de esta bacteria a tetraciclina, permite un control diferencial de la actividad del individuo, al grado de que este, pueda presentar susceptibilidad al antibiótico (Gossen, 1992), las situaciones de “on/off” para este tipo de genes se puede manifestar de una forma reversible. Es decir, que para este caso, existe la posibilidad de que los genes de resistencia se hayan inactivado de manera temporal en el lapso que se mantuvo la cría del insecto en ausencia de selección, y que así mismo ante el estímulo de la selección artificial, se hayan reactivado, evitando así el control de los insectos en condiciones de campo.

Debido a que este tipo de regulación, permite un estricto control de la expresión de genes individuales, también permite la expresión limitada de estos a un nivel definitivo (Gossen, 1992). Así mismo David *et al.*, (2005). Documentaron, que existe una expresión diferencial de los genes GSTE2 y CYP325A3, asociados a la resistente a permetrina en una población de *An. Gambiae*. Donde, estos, se sobreexpresan 2.36 y 1.72 veces, respectivamente. En el mismo estudio, se documentó que el gen CYP6Z1, se

sobreexpresión de forma significativa en la misma especie con resistencia al mismo producto. En el caso del presente trabajo, existe la probabilidad que se haya inactivado o apagado la sobreexpresión de los genes asociados a la resistencia a permetrina en el periodo que se mantuvo al insecto fuera de presión de selección, y que una vez que se seleccionó con la CL₆₀, se reactive de inmediato tal sobreexpresión, y a ello puede atribuirse que se haya dejado de matar al insecto en condiciones de campo.

Ponce et al., 2009, encontraron en *Aedes aegypti*, un drástico aumento en el aminoácido de Isoleucina Ile1,016 en los canales de sodio, asociado a un aumento generalizado en el uso de insecticidas a base de permetrina en algunas regiones de México. Así mismo se presume que un aumento tan rápido, puede ser consecuencia de una selección direccional en un alelo recesivo. Al parecer, es el caso del presente trabajo de investigación, donde el insecto presenta un aumento repentino en la resistencia al insecticida ante la selección artificial; que ante una sola generación, pasa de comportarse como población susceptible en laboratorio, a una completamente resistente en campo. En el caso de resistencia metabólica el proceso de desarrollo de la resistencia es más lento.

8. CONCLUSIONES

1. En ausencia de selección, la pérdida de resistencia a permetrina en la población de *Aedes aegypti*, procedente de Ciudad Valles, San Luis Potosí, ocurre en 7 generaciones.
2. La pérdida de resistencia a permetrina, en la población San Luis está asociada a un incremento en la mortalidad en campo, y a valores de la CL₅₀ estadísticamente iguales que los de la población susceptible.
3. Con valores de resistencia bajos en laboratorio, la mortalidad en campo no siempre es mayor del 50 %, lo que sugiere que puede haber un mecanismo de resistencia no metabólico que se activa rápidamente.

4. Con el fin de controlar adecuadamente este mosquito, se sugiere, que se cambie de grupo químico cuando se detecten fallas en el control a nivel de campo.

9. LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Ardila-Roldán, S., L., Santacoloma, and Brochero, H. 2013. Status of insecticide susceptibility of public health use in natural populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) of Casanare, Colombia. *Biomedica* 33: 446-458.
- Barrett, A. D. y S. Higgs. 2007. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. *Ann. Rev. Entomol.* 52: 209-229.
- Bisset, J., Rodríguez, M., Fernández, D. 2006. Selection of Insensitive Acetylcholinesterase as a Resistance Mechanism artificial selection to lambda-cialotrina in *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) from Santiago of Cuba. *Journal of Medical Entomology* 43 (6):1185-1189.
- Bisset, A, J, Rodríguez., M., Fernández., D, Palomino, M., 2007. Resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de 2 provincias del Perú. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” Instituto Nacional De Salud, Perú. *Rev. Cubana Med. Trop.* 59(3): 202-8.
- Bisset, L, J, A., Rodríguez, M, M., San Martin, J, L., Romero, J, E., y Montoya, R. 2009. Evaluación de la resistencia a insecticidas en una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Rev. Panam. Salud pública.* 26(3): 229-233.
- Bobadilla, U, M, C. 2010. Perfil de resistencia y mutación “kdr” asociada a insecticidas piretroides en *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) de Veracruz, México. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. 142 p.
- Castro, M., Quintana, N. y Quiñones, ML. 2007. Evaluación de dos piretroides en el control del vector del dengue en Putumayo, Colombia. *Rev. Salud Pública;* 9(1): 106-116.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2012: Mosquito Life cycle. Consulta: (20/11/2013), disponible en:
http://www.cenavece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/guíavigilanciaentomologicaovitrampas_sinlogo.pdf
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2014. Dengue Transmission Vectors. Disponible en:

<http://www.cdc.gov/dengue/entomologyEcology/index.html>

- Centro Nacional De Programas Preventivos y Control de Enfermedades. (CENAPRECE), 2014. Panorama epidemiológico del dengue/Informes semanales de vigilancia epidemiológica/históricos. Consulta: (09/11/2014), Disponible en:
http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/dgae/panodengue/intd_dengue.htm
- Chaverra-Rodríguez, D., Jaramillo-Ocampo, N. y Fonseca-González, I., 2012. Selección artificial de resistencia a lambda-cialotrina en *Aedes aegypti* y resistencia cruzada a otros insecticidas. Revista Colombiana de Entomología 38 (1): 100-107 (2012).
- David, J-F., Clare Strode, Vontas., J, Nikou, D, Vaughan, A, Patricia M. Pignatelli, M.P., Louis, C., Hemingway, J., Ranson, H. 2005. *Anopheles gambiae* detoxification chip: A highly specific microarray to study metabolic-based insecticide resistance in malaria vectors. PNAS March 15, 2005, (102)11 4080–4084
- De la Mora, C, A., Jiménez, V, F., Treviño, A, S, M. 2010. Distribución geoespacial y detección del virus del dengue en mosquitos *Aedes (Stegomyia) aegypti* de Ciudad Juárez Chihuahua. Secretaria de Salud Pública México. (52):127-133.
- DeVries, D, H., and Georghiou, G, P., 1979. Influence of temperature on the Toxicity of Insecticides to Susceptible and Resistant House Flies. J. Econ. Entomol. 72:48.
- Dzul, F.A., Penilla R.P y A.D. Rodríguez. 2007. Susceptibilidad y mecanismos de resistencia a insecticidas en *Anopheles albimanus* del sur de la Península de Yucatán. 2007. Salud Pública Méx. 49: 301-311.
- Gómez-Dantés, H., J. L. San Martin., R. Danis-lozano., Manrique-Side., P. 2011. La estrategia para la prevención y el control integrado de dengue en Mesoamérica. Salud Pública, Méx. 53(3):349-357.
- Fernández, S. I. 2009. Biología y control de *Aedes aegypti*, Manual de Operaciones. 2ª Edición. Monterrey, México. 131p.
- Gossen, M & Bujardt, H., 1992. Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline-responsive promoters. University Heidelberg, Republic of Germany. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 89: 5547-5551
- Hamdan, H., Sofian-Azirun, M., Ahmad, N., Lim, L. 2005. Insecticide resistance development in *Culex quinquefasciatus* (Say); *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) larvae against malathion; permethrin and temephos. Tropical Biomedicine 22 (1): 45-52.
- Hemingway, J. y Ranson J. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Ann. Rev. Entomol. 45: 371-391.

- Karunamoorthi, K. y Sabesan, S. 2013. Insecticide Resistance in insect vectors of disease with special reference to mosquitoes: A potential threat to global public health. Etiopia, India. Health Scope. 2(1): 4-18.
- Kouri, G. 2006. El dengue, un problema creciente de salud en las Americas. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health; 19(3):143-145.
- Lai, T. P., Yatiman, R., y Gek, L.S. 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.
- Li, W., Graur, D. 1991. Fundamentals of molecular evolution. 4ta ed. New York: Sinaur, Sunderland, MA: 261-268.
- Montada, D. D., Zaldivar, z. J., Figueredo, S. D., Suarez, D. S. 2006. Eficacia de los tratamientos intradomiciliarios con los insecticidas cipermetrina, lambdacialotrina y clorpirifos en una cepa de *Aedes aegypti*. Instituto de Medicina Trópical Pedro Kuri, Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical. Versión On-line ISSN 1561-3054 Consultada (21/03/2014), Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-076020.
- Ministry of Public Health (MOPH). 2010. Annual report on vector-borne disease. Nonthaburi, Thailand: Department of Disease Control, Ministry of Public Health. Neely M. J.
- Nagpal, N. B., Saxena, R., y Srivastava, A. 2012. Retrospective study of chikungunya outbreak in urban areas of India. Indian Journal of Medical Resserch. (8): 135:351.
- Nazni, W., Lee, H., Sadiyah, I. 1998. Rate of resistance development in wild *Culex quinquefasciatus* (Say) selected by malathion and permethrin. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health 29 (4): 849-855.
- NOM-032-SSA2-2002, NORMA Oficial Mexicana para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector. (D.O.F. 8 Ene. 2001) México.
- NOM-032-SSA2-2010. Norma Oficial Mexicana Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector (D.O.F. 1 Jun. 2011) México.
- Ocampo, C., Salazar-Terreros, M.J., Mina, N.J., Mcallister, J., Brogdon, W. 2011. Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* in 10 localities in Colombia. Acta Tropica 118 (1): 37-44.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS), 2009. Boletín de Inmunización. Volumen 31 (5): 8.

- Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2010. Guía Atención Clínica Dengue. Ministerio de la Protección Social. República de Colombia. Consulta: (10/08/2013). Disponible en:
www.paho.org/col/index.php?option=com_docman&task
- Pasteur, N., Raymond, M. 1996. Insecticide Resistance Genes in Mosquitoes: Their Mutations, Migration, and Selection in Field Populations. *The Journal of Heredity*. (87)6 444-449.
- Paeporn, P., Supaphathom, K., Srisawat, R., Komalamisra, N., Deesin, V., Yaunphan, P. 2004. Biochemical detection of pyrethroid resistance mechanism in *Aedes aegypti* in Ratchaburi province; Thailand. *Tropical Biomedicine* 21 (2): 145-151.
- Ponce, G. G., Flores, A. E., Fernández, S. I., Saavedra, R. k., Reyes, S. G., et al. 2009. Recent Rapid Rise of a Permethrin Knock Down Resistance Allele in *Aedes aegypti* in México. *Neglected tropical Disease*. 3(10): e531
- Poupardin, R., Reynauda, S., Strodeb, C., Ranson, H., Vontas, J., David, J-P. 2008. Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*: Impact on larval tolerance to chemical insecticides. *Laboratory of Pesticide Science, Agricultural University of Athens, Greece*. p 1.
- Rodríguez, M. M., Bisset, J. A., Ruiz, M., Soca, A. 2002. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphate insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *J Med Entomol*. 39:882-888.
- Rodríguez, M., Bisset, J., Díaz, C., Soca, A. 2003. Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malatión. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 55 (2): 105-111.
- Rodríguez, M. M. 2004. Resistencia a insecticidas en larvas de adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de las esterasa A4 asociada en la resistencia a temefos. *Rep. de Cuba. Rev Cubana Med Trop*. 56(1):49-53
- Rodríguez, M. M., Bisset, J. A., De Armas, Y., Ramos, F. 2005. Pyrethroid insecticide-resistant strain of *Aedes aegypti* from Cuba induced by deltamethrin selection. *Journal of the American Mosquito Control Association* 21 (4): 437-445.
- Rodríguez, M. M., Bisset, J. A. and Fernández, D. 2007. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from some Latin-American countries. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 24: 420-429.
- Rojas, R., V. 2011. Susceptibilidad de cuatro poblaciones de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) a insecticidas. Tesis de Maestría en Ciencias.

- Posgrado en Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados. 40p.
- SAS Institute. 2001. SAS/Stat® 9.1 User's Guide. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Secretaria de Salud (SSA) 2008. Manual para la prevención y control del dengue. México, D.F. Secretaria de Salud. 56p. Consulta: (28/07/2014), Disponible en:
www.paho.org/mex/index.php?option=com_docman&task.
- Sulaiman, S, A, Karim M., Omar B, Jeffery j, a. Mansor F. 1993. The residual effects of de synthetic pyretroids. Lamda- cyalotrina and cyfluthrin against *Aedes aegypti* (L.) in wooden huts in Malasya. MOSQ Borne dis Bull 10: 128-131.
- Tabashnik, B.E., D. Mota-Sánchez, M.E. Whalon, R.M. Hollingworth and Y. Carrière. 2014. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. J. Econ. Entomol. 107: 496-507.
- Thirion, J., I. 2003. El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México. Bayer. Environmental Science. Bayer de México, S.A. de C.V. 5-26.
- Tikar, S., Kumar, A., Prasad, G., Prakash, S. 2009. Temephos-induced resistance in *Aedes aegypti* and its cross-resistance studies to certain insecticides from India. Parasitology Research 105: 57-63.
- Vontas, J, G., Small, G., Hemingway, J., 2001. Glutathione s transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. Biochem J. 357:65-72.
- World Health Organization (WHO). 1996. Report of the WHO informal consultation on the "Evaluation and testing of insecticides". Consulta: (21/09/2012). Disponible en: CTD/WHOPES/IC/96.1
- World Health Organization (WHO) 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. Consulta: (4 Mar. 2013) Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/who_cds_whopes_gcdpp_2005.13.pdf
- World Health Organization (WHO) 2006. Guideline for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets. Consulta: (5. Jul. 2014) Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_NTD_WHOPES_GCDPP_2006.3_eng.pdf?ua=1
- World Health Organization (WHO). 2007. Scientific working group report on dengue. World Health Organization Geneva, Switzerland. Consulta: (3/02/2014) Disponible en:
http://www.who.int/tdr/publications/documents/swg_dengue_2.pdf?ua=1

- World Health Organization (WHO). 2008. Guidelines on Clinical Management of Chikungunya Fever. Consulta: (7/09/2013). Disponible en: http://www.wpro.who.int/mvp/topics/ntd/Clinical_Mgnt_Chikungunya_WHO_SEARO.pdf
- World Health Organization (WHO). 2009 World Health Organization (WHO). 2009. Guidelines for efficacy testing of insecticides for indoor and outdoor ground-applied space spray applications. Consulta: (3/11/2014). Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/2009/WHO_HTM_NTD_WHOPES_2009.2_eng.pdf
- World Health Organization (WHO). 2014. Dengue and several dengue. Consulta: (18/02/2014). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/index.html>