

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Detección de Esterasas α y β en el mosquito *Aedes aegypti* (L.)

POR

JUNIOR AYALA ESPINOSA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO 2005

AGRADECIMIENTOS

A DIOS. Por darme la oportunidad de vivir, y la fuerza para para salir adelante.

A MI ALMA TERRA MATER. Por abrirme sus puertas y haberme proporcionado los medios para formarme como profesionista.

A MI ASESOR M.C FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS. Por su amistad y por el apoyo que me brindó en la elaboración de este trabajo de investigación, así como sus enseñanzas recibidas durante el transcurso de mi carrera.

A TODOS LOS MAESTROS. Que de alguna manera aportaron sus conocimientos en mi formación académica.

A la M.Sc. Ma. Teresa Valdés Perezgasga, Ph. D. Vicente Hernández Hernández, Ing. José Alonso Escobedo, Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores, Ph. D. Teodoro Herrera Pérez, Ing. Javier López Hernández, Biol. Ma. Mercedes Sáenz López.

AL Ph. D. Florencio Jiménez Díaz. Por su apoyo, amistad, valiosa orientación y disposición en todo momento.

A MIS COMPAÑEROS. Aniceto, Óscar y a mis compañeros de la Rondalla de Torreón por su amistad y apoyo durante la carrera.

A MIS AMIGOS. M.V.Z. Manuel Esquivel Limones, Dr. Sánchez, Lic. Javier Luna, Ing. José L. Flores Prado,(q.e.p.d.) Dr. José L. Puente Manríquez, Ing. Benjamín Durón, M.V.Z. Ramón Simental Villareal, M.V.Z. José A. Jiménez Ávila, M.V.Z. Hugo Bobadilla.

A GRACIELA ARMIJO YERENA. Por su apoyo brindado durante la elaboración de este trabajo de investigación.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Detección de Esterasas α y β en el mosquito *Aedes aegypti* (L.)

POR

JUNIOR AYALA ESPINOSA

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA


ASESOR PRINCIPAL:


MC. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

ASESOR:


M.Sc. MA. TERESA VALDÉS PEREZ SASGA

ASESOR:


Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ.

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS


M.C. JOSÉ JAIME LOZANO GARCÍA



Coordinación de la División
de Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO 2005

TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO
EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER

EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

APROBADA

PRESIDENTE:


M.C. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS.

VOCAL:


M. Sc. MA. TERESA VALDÉS PEREZGASGA.

VOCAL:


Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ.

VOCAL SUPLENTE:


ING. JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ.

CORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS:


M.C. JOSÉ JAIME LOZANO GARCÍA



TORREÓN, COAHUILA

Coordinación de la División
de Carreras Agrícolas
JUNIO 2005

DEDICATORIAS

A DIOS

Por alcanzar este peldaño tan anhelado y por tantas cosas buenas que la vida me brinda en cada momento y por mantenerme en buenas condiciones de salud para seguir adelante.

A MIS PADRES

Mi Abuela Rufina Paredes García (q.e.p.d.)

Mi Tía Agustina Espinosa Paredes

Mi Tío Jorge Espinosa Paredes

Por haberme inculcado el respeto a las personas, la responsabilidad y el amor para realizar las cosas, por la confianza, cariño, comprensión y apoyo que me brindaron en cada etapa de la vida.

Por el esfuerzo que realizaron para darme la oportunidad de poder estudiar y seguir adelante.

A MI TUTOR.

Ing. Rodrigo Ortiz Espinosa. Por su valiosa amistad y apoyo incondicional que en todo momento estuvieron presentes.

A MI FAMILIA.

Sofía Espinosa Paredes, Guillermina Espinosa Corrales, Mateo Espinosa Paredes, Norma, Samanta, Yoselin, Edith, Martha, Fabiola, Carina, Aidé, Mariana, Jesús A. Edilberto, Usiel, Isaac, Miguel A. Israel, Montserrat.

A Félix Castañeda Vázquez por los ánimos que me dió y por los momentos tan alegres que pasamos.

RESUMEN

Se realizó un estudio con hembras adultas de *Aedes aegypti* (L.), procedentes del Municipio de Torreón, Coahuila, con la finalidad de determinar la absorbancia y frecuencia de esterasas α y β utilizando botellas impregnadas con insecticida y una dosis discriminante de 86 μg de concentración/botella. La actividad enzimática de esterasas α en la población de Torreón Coahuila (RR) fluctuó entre 0.400 y 0.900 nm mientras que en la población de referencia (New Orleans RR) la fluctuación fue entre 0.400 y 0.700 nm, La población de Torreón Coahuila, mostró una frecuencia poblacional del 13% mayor a los 0.700 nm (26 mosquitos). La actividad enzimática de esterasas α en la población Torreón Coahuila (ss) fluctuó entre 0.200 y 0.700 nm. mientras que en la población de referencia (New Orleans ss) la fluctuación fue de entre 0.400 y 0.650 nm, La población de Torreón Coahuila, mostró una frecuencia poblacional del 24% mayor a los 0.650 nm (48 mosquitos). La actividad enzimática de esterasas β en la población de Torreón Coahuila (RR) fluctuó entre 0.500 y 1.050 nm mientras que en la población de referencia (New Orleans RR) la fluctuación fue entre 0.875 y 1.050 nm. La fluctuación superior de la población de Torreón Coahuila, fue exactamente igual a la población de referencia. La actividad enzimática de esterasas β en la población Torreón Coahuila (ss) fluctuó entre 0.500 y 0.950 nm. mientras que en la población de referencia (New Orleans ss) la fluctuación fue de entre 0.900 y 1.200 nm. La fluctuación superior en la población de Torreón Coahuila, es menor que la de la población de referencia.

ÍNDICE

RESUMEN	III
1. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo	3
Hipótesis	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Descripción del área de estudio	4
2.2. Los mosquitos como vectores de enfermedades	5
2.2.1. Encefalitis	5
2.2.2. Malaria (paludismo)	7
2.2.3. Filariasis	7
2.2.4. Fiebre Amarilla	8
2.2.5. Dengue	10
2.3. Características generales de los mosquitos	12
2.4. Características del género <i>Aedes</i>	13
2.5. Características de <i>Aedes aegypti</i>	14
2.5.1. Ciclo de vida	15
2.5.1.1. Huevo	15
2.5.1.2. Larva	16
2.5.1.3. Pupa	16
2.5.1.4. Adulto	16
2.5.1.5. Alimentación sanguínea	17
2.5.1.6. Distribución	17
2.5.1.7. Dispersión	17
2.6. Control de mosquitos	18
2.6.1. Estrategias indirectas	18
2.6.2. Estrategias directas	19
2.6.2.1. Control biológico	19
2.6.2.2. Control químico	20
2.6.2.3. Clasificación de los insecticidas	20
2.6.2.4. Sitio de acción de los insecticidas	21
2.7- Resistencia	24
2.7.1. Resistencia cruzada y resistencia múltiple	25
2.8. Resistencia a insecticidas	25
2.8.1. Factores que influyen el desarrollo de resistencia	26
2.8.2. Mecanismos de resistencia	28
2.8.2.1. Mecanismos de resistencia en el sitio de acción	28
2.8.2.2. Mecanismos de resistencia por detoxificación	29
2.8.3. Detección y monitoreo de resistencia a insecticidas	33

2.8.3.1. Bioensayos a poblaciones	34
2.8.3.2. Ensayos bioquímicos e inmunológicos	35
2.8.3.4. Ensayos moleculares o genéticos	35
2.8.4. Importancia de los ensayos bioquímicos	36
2.8.5. Manejo de resistencia	37
3. MATERIALES Y MÉTODOS	38
3.1. Ubicación del trabajo	38
3.2. Colecta de material biológico	38
3.3. Bioensayos	39
3.3.1. Dosis discriminante	39
3.3.2. Impregnación de botellas	39
3.3.3. Exposición de los mosquitos	40
3.4. Análisis Bioquímico de esterasas α y β	41
4. RESULTADOS	42
5. DISCUSIÓN	48
6. CONCLUSIONES	50
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1. INTRODUCCIÓN

La incidencia de enfermedades transmitidas por mosquitos a animales y humanos se ha incrementado dramáticamente a nivel mundial (Beerentsen *et al.*, 2000; Fauci *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 1999; WHO, 2002). En términos de morbilidad y mortalidad, la malaria, el dengue y leishmaniasis son las infecciones más importantes que han resurgido; dentro de éstas, las infecciones causadas por el virus del dengue son las más importantes enfermedades virales transmitidas por artrópodos a humanos (Beerentsen *et al.*, 2000; Fauci *et al.*, 2005; Gratz, 1999; Gubler, 1998; Kautner *et al.*, 1997; Patz *et al.*, 1996; Rigau-Pérez *et al.*, 1998; Trofa *et al.*, 1997; WHO, 2002).

Se estima que en el mundo actualmente ocurren entre 50 y 100 millones de casos anuales de dengue clásico (Kautner *et al.*, 1997; Rigau-Pérez *et al.*, 1998; Gubler, 1998). Entre 1986 y 1990, la Organización Mundial de la Salud reportó 1.5 millones de casos de dengue hemorrágico o de síndrome de shock por dengue; éstos ocasionaron 15,940 decesos (Gubler, 1998; Rigau-Pérez *et al.*, 1997). En el 2002 se reportó la muerte de más de 24,000 personas por dengue hemorrágico o de síndrome de shock por dengue, las muertes ocurrieron principalmente en niños de entre 5 y 15 años (Fauci *et al.*, 2005; WHO, 2002).

Los serotipos del virus del dengue son transmitidos principalmente por el mosquito antropofílico, *Aedes aegypti* (L.), también principal vector urbano del virus de la fiebre amarilla (Blair *et al.*, 2000; WHO, 2002).

El control de mosquitos, a través de métodos preventivos para impedir el desarrollo de los mismos y la aplicación de insecticidas, constituyen las estrategias base para el manejo de mosquitos vectores de enfermedades. Lo anterior involucra el problema de desarrollo de resistencia a insecticidas, el cual limita la utilidad del control químico (Beerntsen *et al.*, 2000).

Lo primordial en un problema potencial de resistencia a insecticidas es detectar los cambios en la susceptibilidad hacia el insecticida o insecticidas en una población de vectores dada; ésto puede ser a través de bioensayos con poblaciones, ensayos químicos (medición de enzimas detoxificantes) y ensayos moleculares o genéticos (Brogdon y McAllister, 1998; Hemingway y Ranson, 2000; IRAC, 2003).

La disponibilidad y utilidad de los insecticidas se ha visto disminuida como resultado de la resistencia desarrollada hacia ellos. Por lo tanto, la detección de cambios en la susceptibilidad de una población de vectores, proporcionará las bases para un mejor manejo de los mismos (Hemingway y Ranson, 2000).

En la región Lagunera y particularmente en el municipio de Torreón Coahuila, se carece de información sobre la susceptibilidad de las poblaciones de *Ae. aegypti* (L.) hacia los diferentes insecticidas recomendados para su control, ya sea a través de bioensayos con poblaciones, ensayos químicos (medición de enzimas detoxificantes) o de ensayos moleculares o genéticos.

Por anterior se plantea el presente ensayo químico, el cual será la base para otros ensayos de enzimas detoxificantes α y β .

Objetivo

Determinar a través de un ensayo químico, la absorbancia y frecuencia de esterasas α y β en una población de *Ae. aegypti* (L.) del Municipio de Torreón, Coahuila.

Hipótesis

La población de *Ae. aegypti* (L.) del Municipio de Torreón, Coahuila difiere en cuanto a absorbancia y frecuencia de esterasas α y β en relación a otras poblaciones.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Descripción del área de estudio

El municipio de Torreón, se localiza en la parte oeste del sur del estado de Coahuila, entre las coordenadas 103° 26'33" longitud oeste y 25° 32' 40" latitud norte, a una altura de 1,120 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte y al este con el municipio de Matamoros, Coahuila; al sur y al oeste con el estado de Durango. Comprende una superficie de 1,947.70 kilómetros cuadrados, que representan un 1.29% del total de la superficie del Estado (GEC, 2004; SOATCM, 2004).

Física y geográficamente está conformado por una planicie semidesértica con un clima caluroso y un alto grado de aridez. Esta planicie con grandes llanuras resacas, bolsones y valles muy extensos, cuenta con pocas prominencias orográficas. Estas son de gran importancia no obstante que son sierras y cerros de mediana elevación. Al noreste del municipio se ubica la sierra de Jimulco y al sureste la sierra de la Candelaria. Además, dentro del municipio se ubican los Cerros de la Cruz y de las Calabazas (GEC, 2004)

El río Aguanaval entra por el sur del municipio, desplazándose hacia el oeste. El río Nazas se localiza en el norte del municipio y sirve como límite con el estado de Durango; El agua que se desplaza por este río se capta en las presas Lázaro Cárdenas y Francisco Zarco y se emplea para irrigar a la zona agrícola más importante de la entidad. Ambos ríos son los únicos en México que no desembocan en el mar, sino en la formación de lagunas, de ahí el nombre de Comarca Lagunera (GEC, 2004; SOATCM, 2004).

El clima en el municipio es del subtipo seco semicálido. La temperatura media anual es de 20 a 22° C y la precipitación media anual se encuentra en el rango de los 100 a 200 milímetros en la parte noreste, este y suroeste, y de 200 a 300 en la parte centro-norte y noroeste, con régimen de lluvias en los meses de abril a octubre y precipitaciones escasas de noviembre a marzo. Los vientos predominantes tienen dirección sur con velocidad de 27 a 44 km/h. La frecuencia de heladas es de 0 a 20 días y granizadas de 0 a 1 día en la parte norte-noroeste, sur-oeste, y de uno a dos días en la parte sureste (GEC, 2004; SOATCM, 2004).

2.2. Los mosquitos como vectores de enfermedades

A través de la historia, los mosquitos han ocupado una posición importante como plaga insectil, pero fue hasta después del siglo XIX cuando estos artrópodos fueron identificados como agentes responsables de la transmisión de algunas de las enfermedades más devastadoras al hombre (WHO, 1986; Gubler y Hayes, 1992; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

Alrededor del mundo, los mosquitos son responsables de la transmisión de enfermedades a millones de personas cada año. Estas enfermedades incluyen encefalitis, malaria (paludismo), filariasis, fiebre amarilla y dengue (Borror *et al.*, 1989; USDHHS, 1993; Beerntsen *et al.*, 2000).

2.2.1. Encefalitis

Una alta proporción de los virus transmitidos por artrópodos a los humanos son transmitidos por mosquitos. Muchos de estos virus son

responsables de causar encefalitis. Esta enfermedad es poco común y afecta aproximadamente a 1500 personas en los Estados Unidos cada año. Las personas de edad avanzada y los niños menores de un año son más vulnerables y pueden presentar una sintomatología más severa de la enfermedad (USDHHS, 1993; OPS, 1995; Kleiner-Fisman, 2001).

La encefalitis afecta al sistema nervioso central. Una vez que el virus ha entrado en el torrente sanguíneo, puede ubicarse en el cerebro ocasionando inflamación del tejido cerebral y de las membranas que lo rodean. En las personas que sobreviven a los casos severos de la enfermedad se pueden presentar lesiones neurológicas permanentes que incluyen problemas con la memoria, lenguaje, visión, audición, control muscular y sensibilidad (Acha y Szyfres, 1986; WHO, 1986; Gubler y Hayes, 1992; USDHHS, 1993; OPS, 1995; Kleiner-Fisman, 2001).

Los cinco grandes tipos de encefalitis arbovirales en Norte América son: Encefalitis equina del este (EEE, por sus siglas en inglés) , Encefalitis equina del oeste (WEE, por sus siglas en inglés), Encefalitis de San Luis (SLE, por sus siglas en inglés), Encefalitis de La Crosse (LAC, por sus siglas en inglés) y Encefalitis equina de Venezuela (VEE, por sus siglas en inglés), cada una causada por un virus diferente o un complejo viral (Acha y Szyfres 1986; WHO1986; Gubler y Hayes, 1992; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

A partir de 1999 apareció un nuevo virus llamado el virus del Oeste del Nilo, el cual ha causado muertes por encefalitis en la ciudad de Nueva York (Goddard *et al.*, 2003).

2.2.2. Malaria (paludismo)

Esta enfermedad es causada por varias especies de protozoarios pertenecientes al género *Plasmodium* (*P. vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* y *P. ovale*). Los patógenos son transmitidos de persona a persona por la picadura de los mosquitos del género *Anopheles*. Existen alrededor de 17 especies de *Anopheles* en Norte América, pero solo tres son vectores de esta enfermedad: *A. quadrimaculatus*, *A. freeborni* y *A. hermsi* (Acha y Szyfres, 1986; USDHHS, 1993).

La malaria o paludismo, es una de las enfermedades más importantes en el mundo. Es típica de los países tropicales y subtropicales, aunque también se observa en zonas templadas. Su diseminación se reduce a medida que se incrementa la distancia del Ecuador. Se presenta sobre todo en terrenos cenagosos, deltas de ríos, zonas inundadas y valles pantanosos. Los médicos de la antigüedad ya conocían esta fiebre intermitente, que hasta la actualidad no ha podido erradicarse, a pesar de conocerse su etiología y mecanismos de transmisión (Acha y Szyfres, 1986) y de las medidas recomendadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS). En México hasta finales de la década de los ochenta se habían reportado frecuencias de 3-10 por cada mil nacimientos en áreas endémicas (Acha y Szyfres, 1986; Huerta *et al.* 1999).

2.2.3. Filariasis

Es una enfermedad parasitaria, infecciosa causada por la filaria o nematodo; la OMS, estima que alrededor de 250 millones de personas en todo el mundo son infectadas con los nematodos *Wuchereira bancrofti* y *Brugia*

malawi, transmitidos por mosquitos (WHO, 1974; Acha y Szyfres, 1986). Los nemátodos adultos viven en varias partes del sistema linfático, produciendo inflamación en las extremidades, conocida como filariasis Bancroftiana y Brugian (WHO, 1974; Acha y Szyfres, 1986; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

Esta enfermedad es extremadamente rara en los países occidentales y es endémica en muchos países tropicales y subtropicales de Asia, África, Centroamérica y Sudamérica (Avellaneda e Izquierdo, 2003).

Las especies de los géneros *Culex* y *Aedes*, se han reportado como vectoras de estos nematodos. Las personas pueden portar los parásitos sin síntomas aparentes, pero en otros casos, el nematodo puede causar inflamación y otras complicaciones (USDHHS, 1993; OPS, 1995).

En algunas personas que han estado sometidas a repetidas infecciones, puede haber inflamación de genitales, pecho o piernas, recibiendo el término clínico de elefantiasis por el ensanchamiento de las partes afectadas (USDHHS, 1993).

2.2.4. Fiebre amarilla

La fiebre amarilla, es una enfermedad viral transmitida a humanos por la picadura del mosquito *Ae. aegypti* (L.). También es conocida como mal de Siam o fiebre de Barbados. Es una enfermedad infecciosa aguda, de rápida evolución; su gravedad puede ser variable. Independientemente de su intensidad, una vez padecida se adquiere inmunidad de por vida (Acha y Szyfres, 1986; UN, 2003).

Se manifiesta generalmente en brotes epidémicos de alta mortalidad en las regiones de África, Centroamérica y Sudamérica (Acha y Szyfres, 1986; UN, 2003).

Existen dos o tres tipos epidemiológicos distintos de la enfermedad que se encuentran en América. Los más afectados por la fiebre amarilla son los humanos y los monos. Su transmisión se puede producir de un animal a otro o por la picadura de un mosquito. Existen tres formas diferentes de transmisión:

- Silvestre o esporádica: Se da en los bosques tropicales. Se presenta por la picadura de un mosquito portador. Suele ser poco frecuente.
- Intermedia: Típica de las sabanas húmedas o semihúmedas de África. Produce varios casos de manera simultánea y en poblaciones separadas. Causa pocas muertes, pero si no se controla puede generar la epidemia de fiebre amarilla urbana, la más grave.
- Urbana o epidémica: El mosquito *Ae. aegypti* actúa como agente transmisor entre las personas en zonas de alta densidad de población, generando la epidemia (Acha y Szyfres, 1986; UN, 2003).

Los tres tipos epidemiológicos son causados por el mismo virus; afortunadamente los humanos pueden ser protegidos por una vacuna (USDHHS, 1993; OPS, 1995; UN, 2003).

2.2.5. Dengue

El agente etiológico de la enfermedad del dengue, es el virus del dengue. Existen cuatro serotipos del virus (ARN) llamados DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4; que pertenecen al género Flavivirus, y a la familia Flaviviridae (Kautner *et al.*, 1997; Gubler, 1998; Palmer *et al.*, 1999; Watts *et al.*, 1999; White, 1999).

El virus del dengue se aisló por primera vez en el Pacífico Asiático durante la II Guerra Mundial. Este fue identificado por el Dr. Albert Sabin, cuando trabajó en el ejército de los Estados Unidos en la comisión del dengue y fiebre de los mosquitos de la arena. Actualmente dentro de cada serotipo, los virus se pueden dividir en varios genotipos, que son genéticamente distintos pero tienen entre un 60 y 80% de homología estructural proteínica (Gubler, 1998; White, 1999).

Datos actuales sugieren que hay dos genotipos de DEN-1, cinco genotipos de DEN-2, cuatro genotipos de DEN-3 y dos genotipos de DEN-4. Se dice que el virus cambia biológicamente con el movimiento de poblaciones, pero no se han realizado estudios relacionados con estos cambios biológicos (James, 1996; Gubler, 1998; Rigau-Pérez *et al.*, 1998; White, 1999).

La cadencia de mutación del genoma del virus del dengue es desconocida, pero algunos datos sugieren que la cadencia se presenta bajo el orden de 0.3 a 0.43% cambios por año. Se requieren más trabajos en esta área usando las herramientas moleculares modernas (Kautner *et al.*, 1997; Gubler, 1998).

En humanos, la infección del dengue causa un espectro de enfermedad que va desde un rango de síndrome viral no específico, llamada dengue clásico, hasta la severa enfermedad hemorrágica que puede causar la muerte (Jelinek *et al.*, 1997; Trofa *et al.*, 1997; Gubler, 1998).

A las formas severas de la enfermedad se les conoce como dengue hemorrágico y shock por dengue. Los cuatro serotipos pueden causar dengue clásico, fiebre hemorrágica por dengue y shock por dengue, pero la forma severa parece estar asociada con DEN-2 y DEN-3. El riesgo para el desarrollo de dengue hemorrágico, se incrementa en áreas endémicas en donde se encuentran circulando simultáneamente dos o más serotipos (Palmer *et al.*, 1999).

El dengue clásico, dengue hemorrágico y shock por dengue, se caracterizan por un ataque súbito de fiebre, normalmente de 2 a 7 días de duración y una variedad de signos y síntomas nada específicos. Durante la fase aguda de enfermedad, es difícil distinguir dengue hemorrágico y shock por dengue de dengue clásico y otras enfermedades virales. La fase crítica de dengue hemorrágico y shock por dengue, ocurre frecuentemente 24 horas después de que la temperatura del enfermo cae por debajo de lo normal. Durante este tiempo, normalmente se presentan manifestaciones hemorrágicas así como problemas circulatorios. (James, 1996; Rigau-Pérez *et al.*, 1998).

El período de incubación en el humano, puede ser de 3 a 14 días; regularmente es de 4 a 6 días. Los virus producen una viremia y se pueden aislar de la sangre durante la fase aguda de la enfermedad. Se han aislado virus de la mayor parte de los principales órganos como pulmones, riñones,

bazo, nodos linfáticos y corazón. No existe aún ninguna evidencia clara de que los virus del dengue infecten al sistema nervioso central (James, 1996; Kautner *et al.*, 1997; Trofa *et al.*, 1997; Gubler, 1998).

La infección con un serotipo, proporciona inmunidad durante toda la vida a la infección del mismo serotipo; no se presenta inmunidad cruzada. Una infección posterior con un serotipo diferente generalmente ocasiona daños severos (Humar y Keystone, 1996; Palmer *et al.*, 1999).

El dengue es una enfermedad viral transmitida de persona a persona por mosquitos. Ésta es endémica en casi todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo. El virus se multiplica en el mosquito y éste infecta al hombre de ocho a catorce días después de que haya entrado al torrente sanguíneo. Los mosquitos pueden infectar a otras personas durante su alimentación de sangre humana (Gubler, 1998).

2.3. Características generales de los mosquitos.

Los mosquitos son pequeños insectos, de patas largas, con un par de alas membranosas, pertenecientes al orden Díptera y a la familia Culicidae. Los adultos se diferencian de las moscas que pertenecen al mismo orden, en que poseen tres características en combinación: antenas largas y segmentadas, probóscide (pico) alargada y escamas en las venas y margen de las alas. Es un grupo grande de insectos que comprende mas de 3,000 especies. Existen aproximadamente 165 especies y subespecies en Norteamérica con 13 géneros distribuidos en 3 subfamilias (Borror *et al.*, 1989; USDHHS, 1993).

La clasificación de mosquitos con importancia médica es la siguiente (Borror *et al.*, 1989):

Orden: Díptera (moscas, tábanos, mosquitos)

Suborden: Nematocera

Infraorden: Culicomorpha

Superfamilia: Culicoidea

Familia: Culicidae (mosquitos verdaderos)

Géneros: *Aedes*

Anopheles

Culex

Psorophora

2.4. Características del género *Aedes*

El género *Aedes* incluye más de 500 especies distribuidas desde regiones polares a las tropicales. Una gran parte de los mosquitos presentes en Norteamérica pertenecen a este género, el cual incluye muchos de los insectos que son vectores de enfermedades. Existen más de 70 especies de *Aedes* conocidas en los Estados Unidos y cerca de 40 son muy conocidas en muchas regiones. En general los mosquitos del género *Aedes* adquieren gran importancia principalmente en los trópicos (WHO, 1986; Borror *et al.*, 1989; Gubler y Hayes, 1992; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

Las características de las especies del género *Aedes* son la oviposura individual en el suelo, en la superficie del agua, en paredes o vegetales en la superficie del agua. Los huevos de algunas especies pueden soportar grandes

períodos de sequía y frío. Algunas especies tienen una sola generación por año, otras tienen varias generaciones, dependiendo de la precipitación pluvial o de la irrigación de su hábitat. Las especies de *Aedes*, cuando viven en regiones con inviernos fríos, pasan el invierno en estado de huevo (WHO, 1986; Borror *et al.*, 1989; Gubler y Hayes, 1992; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

Los lugares de cría de las larvas son extremadamente variables. En general, las larvas se encuentran en depósitos de agua temporales formados por la lluvia, nevadas o inundaciones. Algunas especies viven en aguas de marismas (USDHHS, 1993); se han adaptado a las prácticas de riego y pocas especies viven en huecos en los árboles (OPS, 1995).

Prácticamente todas las especies de *Aedes* son hematófagas, por lo cual llegan a ser médicamente importantes. El horario de picadura puede variar según la especie, algunas especies pican solamente durante el día y otras pican entre el día y la noche (USDHHS, 1993). Los rangos de vuelo son extremadamente variables, existen desde las especies domésticas, hasta las de rango de vuelo amplio (WHO, 1986; USDHHS, 1993; Gubler y Hayes, 1992; OPS, 1995).

2.5. Características de *Aedes aegypti* (L.)

El mosquito *Ae. aegypti* (L.) es conocido como el mosquito transmisor de la fiebre amarilla y el dengue. Éste es pequeño, negro y puede ser identificado por las escamas plateadas a blancas en forma de lira griega en la parte dorsal del tórax y las bandas del mismo color en los segmentos tarsales

de las patas (WHO, 1986; Borror *et al.*, 1989; Gubler y Hayes, 1992; USDHHS, 1993; OPS, 1995)

Ae. aegypti, en su origen, es considerado como una especie tropical que fue introducida a América desde el Continente Africano. Actualmente es considerada una especie casi cosmopolita (USDHHS, 1993). La introducción a América de esta especie, probablemente se realizó a bordo de los barcos que cruzaban el Atlántico como parte del mercado de esclavos (Bisset, 2002).

2.4.1. Ciclo de vida

2.5.1.1. Huevo

Los huevos de *Ae. aegypti*, son depositados en el margen de superficies húmedas dentro de contenedores artificiales como latas, jarras, piletas o reservorios de agua de lluvia. Las llantas de automóvil abandonadas proporcionan un excelente hábitat larvario y un sitio de reposo para los adultos (WHO, 1986; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

Los huevos, son alargados en forma de puro y miden menos de un milímetro de longitud. Recién ovipositados presentan una coloración blanca, llegando a un tono oscuro en aproximadamente dos horas (OPS, 1995). Son colocados individualmente en las orillas de los contenedores sobre la línea superficial del agua, pudiendo eclosionar en dos o tres días cuando las temperaturas ambientales son altas. Posteriormente, los huevos tienen la capacidad de resistir desecación y temperaturas extremas durante siete meses o un año. Los huevos eclosionan cuando se sumergen en agua (OPS, 1995; USDHHS, 1993; WHO, 1986).

2.5.1.2. Larva

En climas tropicales, las larvas de *Ae. aegypti* pueden ser encontradas en cavidades de plantas arbóreas o herbáceas. Éstas miden de uno a siete milímetros de longitud en el cuarto instar larvario. Las larvas se alimentan de microorganismos acuáticos. El tiempo total de desarrollo de los cuatro instares larvarios, depende de la temperatura del agua y de la dieta alimenticia. Esta fase puede ser completada entre seis y diez días. La larva muere a temperaturas menores de 10° C y mayores de 44° C (OPS, 1995; WHO, 1986).

2.5.1.3. Pupa

La pupa de *Ae. aegypti* es comúnmente conocida como maromero, no requiere alimentación y a una temperatura entre 28° y 32° C ésta fase se cumple en uno a tres días. Las temperaturas bajas pueden retrasar esta fase (WHO, 1986; USDHHS, 1993; OPS, 1995).

2.5.1.4. Adulto

Ae. aegypti es un mosquito de tamaño medio de colores oscuros, fácilmente reconocible por un patrón de manchado de escamas blancas-plateadas en forma de lira griega sobre en la parte dorsal del tórax. Los segmentos tarsales del 1° al 4° en la pata posterior, poseen amplios anillos basales blancos. El quinto segmento es completamente blanco. La coloración, tanto en hembras como machos es similar (WHO, 1986; OPS, 1995).

2.5.1.5. Alimentación sanguínea

El mosquito vector del dengue y la fiebre amarilla, es una especie peridoméstica, o sea no se encuentra en lugares alejados del hábitat humano. Esta especie es particularmente abundante en pueblos y ciudades. Se alimenta principalmente en las primeras horas de la mañana o las últimas de la tarde, aunque las hembras pueden alimentarse durante la noche con iluminación artificial. La sangre de humanos es preferida sobre la de otros animales, siendo el tobillo el área favorita de alimentación. Los adultos frecuentemente residen dentro del hogar en lugares sombreados como guardarropas, gabinetes o armarios (WHO, 1986; OPS, 1995).

2.5.1.6. Distribución

Las latitudes límite de *Ae. aegypti* son 45° Norte y 40° Sur del ecuador. La distribución se encuentra más estrechamente relacionada con las isotermas de 10° C (Severson *et al.*, 2004). Las estimaciones de la distribución y densidad de *Ae. aegypti* son afectadas por los factores limitantes de latitudes, altitudes, temperatura, precipitación, humedad, estación, hábitat y dispersión. Las temperaturas promedio durante la estación de lluvia están estrechamente relacionadas con el factor de riesgo de infecciones de dengue (OPS, 1995).

2.5.1.7. Dispersión

La disponibilidad de hábitat influencia el rango de dispersión dentro de una población. Se ha encontrado que la mayoría de los mosquitos de la especie *Ae. aegypti*, ovipositan dentro de un rango de 90 m de su lugar de origen,

algunos en un rango de 90 a 150 m y muy pocos en el rango de 150 a 430 m (WHO, 1986; OPS, 1995).

2.6. Control de mosquitos

Para el control de mosquitos, se requiere de conocimientos profundos sobre los hábitos de cada una de las especies, así como las características climáticas y topográficas del lugar a tratar (Olkowski *et al.*, 1992).

Los mosquitos pueden controlarse a través de dos tipos de estrategias: a) indirectas, al eliminar los sitios de cría, b) directas, eliminando a larvas o adultos a través del control físico, biológico o químico (Olkowski *et al.*, 1992; USDHHS, 1993; USEPA, 2003).

2.6.1. Estrategias indirectas

Las estrategias indirectas se basan principalmente en la modificación del hábitat, por ejemplo drenar los lugares de cría (Borrer *et al.*, 1989), promover el drenaje de los techos de las casas habitación y eliminar los depósitos de agua, charcas y la limpieza de desagües, evitando el desarrollo de altas poblaciones de mosquitos (Olkowski *et al.*, 1992; OPS, 1995; Collins y Paskewitz, 1995).

Un método físico útil para protegerse de la picadura de los mosquitos, es el uso de las telas mosquiteras, en ventanas, puertas y casas de campaña (USDHHS, 1993). Además, cuando las personas están a la intemperie existen velos y pabellones que evitan la picadura de los mosquitos cuando las personas están a la intemperie (Olkowski *et al.*, 1992).

2.6.2. Estrategias directas

Las estrategias directas están enfocadas a eliminar algún estado de desarrollo del mosquito, utilizando control biológico y/o químico (OPS, 1995; Olkowski *et al.*, 1992).

2.6.2.1. Control biológico

Los organismos considerados agentes de control biológico incluyen depredadores y entomopatógenos. En cuerpos de agua como lagos, estanques y lagunas, se han introducido algunas especies de peces como *Gambusia affinis*, *Poecillia reticulata* y del género *Tilapia* que se alimentan de larvas de mosquitos (OPS, 1995; Olkowski *et al.*, 1992).

La bacteria *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti), ofrece una posibilidad para controlar las larvas de mosquitos de una manera altamente selectiva. Su toxina actúa como veneno estomacal y su acción es rápida (OPS, 1995; USDHHS, 1993; Olkowski *et al.*, 1992).

Existe un nematodo, *Romanomermis culicivorax* que ataca a las larvas de mosquitos. Este se utiliza como un larvicida altamente selectivo, pudiendo permanecer viable por varios años debido a que una vez introducido a un hábitat acuático se reproduce en las larvas de mosquito hasta alcanzar un balance con su huésped (Olkowski *et al.*, 1992).

2.6.2.2. Control químico

En el mercado existe una gran variedad de sustancias químicas para el control de mosquitos. Entre estos se encuentran repelentes, aceites superficiales y los insecticidas (Olkowski *et al.*, 1992; OPS, 1995; USDHHS, 1993; Ware y Whitacre, 2004).

Donde se tenga que utilizar insecticidas para el control de larvas, se recomienda que el producto usado, sea diferente que el empleado para controlar adultos. Un ejemplo es el uso de temefós, que es un larvicida y malatión, que es un adulticida. El grado de control con larvicidas, dependerá del pH y la contaminación del agua, así como de la cantidad y tipo de vegetación presente en el sitio de cría (USDHHS, 1993).

Uno de los métodos más antiguos, pero efectivos, para matar larvas de mosquitos, es la aplicación de aceites de petróleo sobre la superficie de cuerpos de agua, tratando de formar una película que impida el intercambio gaseoso; sin embargo, esta táctica es ecológicamente incompatible (Olkowski *et al.*, 1992).

2.6.2.3. Clasificación de los insecticidas

Actualmente los insecticidas utilizados para el control de vectores pertenecen a los grupos de: organoclorados (OCs), ciclodienos, organofosfatos (OFs), carbamatos y piretroides, aunque actualmente se utilizan a gran escala insecticidas microbianos y reguladores del crecimiento (Ware y Whitacre, 2004). Los insecticidas según su modo de acción pueden penetrar en el cuerpo del insecto por una de las siguientes vías:

- Por contacto: el insecticida penetra a través de la cutícula del insecto hasta alcanzar el sitio de acción, ejemplo: OFs (malation), OCs (DDT), piretroides (permetrina) o carbamatos (propoxur), o análogos de las hormonas juveniles (metopreno) e inhibidores del crecimiento de la quitina (diflubenzurón).
- Vía oral: el insecticida es ingerido y absorbido a través del intestino, ejemplo: insecticidas bacteriológicos, como *B. thuringiensis var. israelensis*, el cual actúa liberando una endotoxina que destruye las células de la pared del intestino medio.
- Fumigantes: el insecticida penetra al cuerpo del insecto a través de los espiráculos del sistema respiratorio. El diclorvos, es un insecticida que además de actuar por contacto lo hace también por esta vía.

2.6.2.4. Sitio de acción de los insecticidas

- **Insecticidas organofosfatos (Ops)**

Los OPs actúan inhibiendo ciertas enzimas importantes del sistema nervioso, particularmente la colinesterasa (ChE). Se dice que la enzima está fosforilada cuando se liga al medio fósforo del insecticida, esta liga es irreversible. Esta inhibición resulta en la acumulación de acetilcolina (ACh) en las uniones o sinapsis neurona/neurona y neurona/músculo (neuromuscular), causando contracciones rápidas de los músculos voluntarios y finalmente parálisis (Reiner, 1971; Ware y Whitacre, 2004).

- **Insecticidas carbamatos**

Los carbamatos inhiben la colinesterasa (ChE) de la misma manera que lo hacen los OPs y se comportan de una manera casi idéntica en los sistemas biológicos, pero con dos diferencias principales. Algunos carbamatos son potentes inhibidores de la aliesterasa (esterasas alifáticas misceláneas cuyas funciones exactas no son conocidas) y su selectividad algunas veces es más pronunciada contra la ChE de diferentes especies. Segundo, la inhibición de la ChE por los carbamatos es reversible. Cuando la ChE es inhibida por un carbamato, se dice que está carbamilada, de la misma manera que un OP resulta en que la enzima esté fosforilada. En insectos, los efectos de los OPs y los carbamatos son principalmente el envenenamiento del sistema nervioso central, porque la unión neuromuscular de los insectos no es colinérgica, como lo es en los mamíferos. Las únicas sinapsis colinérgicas que se conocen en los insectos están en el sistema nervioso central (se cree que la transmisión en la unión química neuromuscular de los insectos es el ácido glutámico) (Reiner, 1971; Ware y Whitacre, 2004).

- **Insecticidas piretroides**

El sitio de acción preciso de los piretroides a nivel molecular continúa siendo estudiado. Estos actúan en la membrana nerviosa, interfiriendo en cambios estructurales de las proteínas en la interfase lípido-proteína, provocando un retardo en el cierre de los canales de sodio después que el impulso ha pasado (Bisset *et al.*, 1990; Ware y Whitacre, 2004; Zerva, 1988).

Estudios electrofisiológicos en invertebrados señalan que el mecanismo

de acción de los piretroides está asociado con el canal de sodio de la membrana nerviosa.

De acuerdo con la ausencia o a la presencia del grupo ciano en la parte alcohólica, los insecticidas piretroides son clasificados como tipo 1 y tipo 2. Cada uno de estos 2 tipos tienen un modo de acción neurofisiológico diferente y un sitio blanco diferente (Casida, 1970; Ware y Whitacre, 2004).

Los piretroides tipo 1 actúan sobre todo en los nervios periféricos, mientras que los que pertenecen al tipo 2 poseen fundamentalmente acciones al nivel central (Miller, 1988).

Los piretroides tipo 1 causan descargas repetitivas en las fibras nerviosas como resultado de la prolongación de la corriente de sodio. Este efecto no resulta en una gran despolarización de la membrana y hasta ahora no se ha notado un bloqueo de la conducción del impulso nervioso (Laufer *et al.*, 1985; Lund y Narahashi, 1983; Narahashi, 1985; Ware y Whitacre, 2004).

La disminución de la fase de repolarización del potencial de acción, bajo el efecto del piretroide, puede originar la aparición de una actividad eléctrica repetitiva. Los piretroides tipo 2 causan una despolarización de la membrana nerviosa y bloquean la conducción del impulso a causa de una corriente de sodio extremadamente prolongada (Miller, 1988; Ware y Whitacre, 2004).

Los piretroides se fijan sobre el canal de sodio cuando existe una posición abierta, provocando una cinética lenta sobre el cierre del canal de sodio, por lo que se produce una prolongación de apertura del canal, lo que corresponde a una prórroga de la fase de despolarización del potencial de acción (Ware y Whitacre, 2004).

Aunque se menciona que el mecanismo de acción de los piretroides está comúnmente asociado con efectos en el canal de sodio, se reconocen varias hipótesis adicionales. Se propone que la actividad de los piretroides tipo 2 está asociada con la unión en el complejo del receptor GABA (ácido gamma amino butírico) y que los compuestos tipo 1 actúan en un sitio diferente del sistema nervioso. Una hipótesis adicional, considera que el modo de acción de los piretroides, incluye efectos en los sistemas Ca-MgATPasa (Clark y Matsumura, 1982; Clark y Matsumura, 1987), y efectos en receptores nicotínicos a la ChE (Eldefrawi *et al.*, 1985; Sherby *et al.*, 1986).

La actividad letal de los piretroides involucra la acción en las neuronas centrales y periféricas, mientras el efecto *knockdown* es probablemente producido por intoxicación periférica. Esto implica el estudio de su modo de acción porque no está claro cual sitio de acción (central o periférico) es el más importante como causante del efecto letal (Zerva, 1988).

Todos los piretroides son ésteres carboxílicos y tanto su parte alcohólica como su parte ácida pueden tener varios isómeros, pero no todos muestran los mismos niveles de actividad biológica (Casida, 1970; Ware y Whitacre, 2004).

2.7. Resistencia

La resistencia es definida como el desarrollo de la habilidad para tolerar dosis de tóxicos, las cuales resultarían letales a la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie (WHO, 1957). Según la FAO (1970), es una respuesta disminuida de la población de una especie de animales o plantas a un plaguicida o agente de control como resultado de su aplicación.

2.7.1. Resistencia cruzada y resistencia múltiple

Se utiliza el término resistencia cruzada para definir el mecanismo por el cual un simple gen confiere resistencia a un número de químicos del mismo grupo, tal es el caso de las fosfotriesterasas que brindan resistencia a varios organofosfatos, o a diferentes grupos, como el gen *kdr* que confiere resistencia al DDT y a los piretroides (WHO, 1957).

Se utiliza el término de resistencia múltiple cuando dos mecanismos de resistencia o más están operando en el mismo insecto. Cuando dos mecanismos de resistencia actúan sobre un mismo insecticida, el nivel de resistencia es a menudo mucho mayor que la adición simple de los niveles de resistencia conferidos por ambos mecanismos de forma independiente. El término de resistencia múltiple no necesariamente involucra el término de resistencia cruzada, ya que un insecto puede ser resistente a dos insecticidas o más y cada resistencia puede ser atribuida a diferentes mecanismos (Bisset, 2002).

2.8. Resistencia a insecticidas

La resistencia a insecticidas se ha registrado en los principales insectos vectores de enfermedades. Hasta 1992, la lista de especies vectoras resistentes a insecticidas incluía 56 Anofelinos y 36 Culícidos, piojo del cuerpo, chinche de la cama, Triatómidos, ocho especies de pulgas y nueve especies de garrapatas (WHO, 1992; IRAC, 2003). Otros insectos importantes en salud pública, como ciertas especies de moscas y cucarachas, muestran resistencia en todos los géneros. La resistencia se ha desarrollado hacia varias clases de

insecticidas químicos, biológicos así como a los reguladores de crecimiento. (Brogdon y McAllister, 1998).

Los reportes de resistencia sobre especies vectoras y su distribución regional o nacional, se basan en un conjunto de datos simples en un solo punto del país o región y pueden tener años o décadas de antigüedad. No todas las investigaciones sobre problemas de resistencia y su manejo pueden resultar prácticas. Aunque se cuenta con medidas de control alternativas al uso de insecticidas, los problemas de resistencia a medicamentos o la disponibilidad y costo de las vacunas, hacen que el control de vectores sea una opción importante (Hemingway y Ranson, 2000).

La disponibilidad de insecticidas ha disminuido como resultado de la resistencia y se ha exacerbado por efectos de registro en el mercado, los cuales son restringidos en cuanto a tiempo, especialmente a partir de la pasada década (Brogdon y McAllister, 1998).

2.8.1. Factores que influyen el desarrollo de resistencia

El desarrollo de resistencia a insecticidas en campo es multidimensional, ya que depende de la interacción de diferentes factores que pueden ser clasificados en las siguientes categorías (WHO, 1992 y WHO, 1980):

A. Genéticos.

- Rango de mutación y frecuencia de genes de resistencia (R).
- Expresión y dominancia del gen de resistencia (R).
- Capacidad relativa del genotipo.

B. Reproducción.

- Generaciones por año.
- Densidad poblacional.
- Monogamia / Poligamia, partenogénesis y otras variaciones.

C. Comportamiento y ecología.

- Migración de la población en estudio.
- Disponibilidad de insecticidas.
- Variación de condiciones ecológicas (en tiempo y espacio).
- Monofagia / Polifagia.

D. Operacionales.

- Características químicas de los insecticidas utilizados.
- Proporción de la población expuesta a los insecticidas.
- Dosis de insecticida a que fueron expuestos los insectos.
- Heterocigotos muertos.
- Persistencia del insecticida.
- Existencia de refugios (áreas no aplicadas).
- Ruta de exposición.
- Estado de vida expuesto (antes o después de la cópula/ovipostura).
- Interacción de los insecticidas con métodos de control genético o biológico.
- Uso de mezclas de insecticidas; patrón de aplicaciones.
- Relación de machos susceptibles.

2.8.2. Mecanismos de resistencia

Los mecanismos de resistencia tienen bases bioquímicas. Las dos principales formas de resistencia bioquímica son; resistencia en el sitio de acción, que ocurre cuando el insecticida no se “liga en tiempo” a este sitio y resistencia por detoxificación de enzimas, que ocurre cuando esterasas, oxidasas, o glutathion S-transferasas (GST) modifican o incrementan sus niveles de actividad, evitando que el insecticida alcance su sitio de acción (Brogdon y McAllister, 1998).

2.8.2.1. Mecanismos de resistencia en el sitio de acción

Las alteraciones de aminoácidos responsables del ligamiento de insecticidas en su sitio de acción, pueden ocasionar que el insecticida pierda su efectividad. El sitio de acción de los insecticidas organofosforados (p. ej., malatión y fenitión) y carbamatos (p. ej. propoxur o carbaryl) es la enzima acetilcolinesterasa en la sinapsis nerviosa y el sitio de acción de los insecticidas organoclorados (DDT) y piretroides, es el canal de sodio de la cubierta nerviosa. La resistencia cruzada DDT-piretroides puede producirse por cambios simples de aminoácidos (en uno o dos sitios) en el sitio de ligamiento del insecticida al canal de sodio axonal (Tomita y Scott. 1995; Carino *et al.*, 1994). Esta resistencia cruzada al parecer produce un cambio en la curva de activación de la corriente de sodio y ocasiona baja sensibilidad a piretroides (Cohen *et al.*, 1994). Similarmente, la resistencia a ciclodienos (dieldrín) es conferida por un simple cambio de nucleótidos dentro del mismo codon de un gen para un

receptor γ -ácido aminobutírico (GABA por sus siglas en inglés) (Liu y Scott, 1997). Por lo menos cinco puntos de mutación en el sitio de ligamiento del insecticida a la acetilcolinesterasa han sido identificados que de forma individual o en conjunto, ocasionan varios grados de reducción en la sensibilidad a insecticidas organofosforados y carbamatos (Hayes y Pulford, 1995).

2.8.2.2. Mecanismos de resistencia por detoxificación

Las enzimas responsables de la detoxificación de los xenobióticos en organismos vivos, están representadas por miembros de grandes familias multigenéticas de esterasas, oxigenasas y Glutation-S-Transferasas (Hemingway y Ranson, 2000).

- **Resistencia por Glutation-S-Transferasas**

Múltiples estudios han mostrado que los insectos resistentes a insecticidas poseen niveles elevados de actividad por Glutation-S-Transferasa (GSTs) en homogenatos, lo cual sugiere un papel de las GSTs en la resistencia (Grant, 1991; Grant y Hammock, 1992). Estas son enzimas diméricas funcionales que juegan un papel en la detoxificación de un gran rango de xenobióticos (Prapanthadara *et al.*, 1996). Las enzimas catalizan el ataque nucleofílico del glutatión reducido (GSH) sobre los centros electrofílicos de los compuestos lipofílicos. Formas múltiples de estas enzimas han sido consignadas en mosquitos, mosca doméstica, *Drosophila*, mosca de las ovejas y gallina ciega (Clark *et al.*, 1985; Toung *et al.*, 1990).

Se reconocen dos familias de GSTs en insectos y ambas parecen jugar un papel en la resistencia a insecticidas. En *Ae. aegypti*, por lo menos dos de estas GSTs se encuentran elevadas en insectos resistentes a DDT (Grant y Matsumura, 1989; Grant y Hammock, 1992), mientras que en *A. gambiae*, un gran número de GSTs se encuentran elevadas y algunas de estas son de la clase GSTs 1 (Prapanthadara *et al.*, 1993). Las GSTs de insectos resistentes de las especies *Ae. aegypti* y *A. gambiae* están sobreexpresadas constitutivamente. La GST-2 de *Ae. aegypti* se encuentra sobreexpresada en todos los tejidos excepto en los ovarios de los insectos resistentes (Grant y Hammock, 1992).

- **Resistencia por Monooxigenasas**

Las monooxigenasas son una familia compleja de enzimas que se encuentran en la mayoría de los organismos, incluidos los insectos. Estas enzimas intervienen en el metabolismo de xenobióticos y juegan un papel importante en el metabolismo endógeno. Las monooxigenasas P450, normalmente constituyen el paso enzimático en la cadena que limita la velocidad. Estas enzimas son importantes en la adaptación de los insectos a los productos químicos tóxicos de sus plantas hospedantes. Las monooxigenasas P450, participan en el metabolismo de virtualmente todos los insecticidas, mediando la activación de la molécula en el caso de los insecticidas organofosfatos, o de manera general en la detoxificación. Las enzimas P450 se adhieren al oxígeno molecular y reciben electrones de la coenzima NADPH

para introducir una molécula de oxígeno en el sustrato (Hemingway y Ranson, 2000).

Las monooxygenasas son un grupo de enzimas de función múltiple que atacan a los insecticidas usando oxígeno molecular. Estas reacciones detoxifican DDT, piretroides, organofosfatos, carbamatos, análogos de hormona juvenil e inhibidores de síntesis de la quitina (Bisset, 2002).

Una actividad elevada de monooxygenasas se relaciona con resistencia a piretroides en *Anopheles stephensi*, *A. subpictus*, *A. gambiae* (Brogdon *et al.*, 1997; Hemingway *et al.*, 1991; Vulule *et al.*, 1994) y *Culex quinquefasciatus* (Kasai *et al.*, 1998). En la actualidad este sistema enzimático ha sido estudiado pobremente en insectos vectores de enfermedades. La nomenclatura de la superfamilia P450 se basa en la secuencia de homólogos de aminoácidos, en donde todas las familias que posean el prefijo CYP seguido de un número para la familia, una literal para la subfamilia y un número para el gen individual. En la actualidad a las P450s de insectos se han conformado en seis familias: cinco son específicas de insectos y una, la CYP4 tiene secuencias homólogas con otros organismos (Berge *et al.*, 1998).

- **Resistencia por esterasas**

Los mecanismos de resistencia por esterasas han sido estudiados a nivel bioquímico y molecular en el mosquito del género *Culex* y el áfido *Myzus persicae*. Actualmente, se han desarrollado trabajos sobre los mecanismos de resistencia por esterasas en un rango de especies de los géneros *Anopheles* y *Aedes*. La resistencia de amplio espectro a organofosfatos es conferida por

niveles altos de esterasas en el género *Culex*. Todas estas esterasas actúan al ligarse rápidamente y al desligarse totalmente del insecticida: éstas “secuestran” al producto más que metabolizarlo (Kadous *et al.*, 1983).

En este tipo de resistencia en el género *Culex* se encuentran involucradas dos tipos comunes de esterasas, solas o en combinación, conocidas como *esta estβ*, en *C. quinquefasciatus* el fenotipo más común de aumento en esterasas, involucra a dos enzimas, *esta2¹ estβ2¹* (A₂, B₂ en la clasificación anterior) (Vaughan y Hemingway, 1995). La clasificación de estas esterasas está basada en su preferencia por α ó β- naftilacetato, su movilidad sobre geles de poliacrilamida y la secuencia de sus nucleótidos (Hemingway y Karunaratne, 1998). En poblaciones de *C. quinquefasciatus* una pequeña porción de individuos presentan grandes cantidades de *estβ1* sola, *esta1* sola o *estβ1* y *esta3* en combinación (DeSilva *et al.*, 1997; Hemingway y Karunaratne, 1998).

Cuando se compararon extractos purificados de *esta* y *estβ* provenientes de una raza susceptible a insecticidas (Pelss) contra varias enzimas purificadas provenientes de razas resistentes, se encontraron diferencias hasta de 1000 veces entre las constantes cinéticas de inhibición para los análogos oxón de varios organofosfatos (Karunaratne *et al.*, 1995). La superioridad en la adhesión a insecticidas a las razas resistentes sugiere que ha existido una presión de selección insecticida positiva para mantener el incremento de alelos favorables de las esterasas a insectos resistentes a los insecticidas aunque existen variaciones menores en la cinética de inhibición de los diferentes alelos incrementados, la razón por la que el fenotipo *esta2¹ /*

estβ2¹ es tan común (presente en más del 90% de las poblaciones resistentes) comparado con otros fenotipos con esterasas elevadas es obvio. Esta ventaja puede estar ligada a un tercer gen, el cual presenta elevadas esterasas *estα2* / *estβ2* y no con otros fenotipos de esterasas (Hemmingway *et al.*, 1999)

Estudios metabólicos con homogenátos de *Culex* sugieren que el aumento de la velocidad del metabolismo regulado por esterasas juega un papel limitado o no se encuentra involucrado en la resistencia. Una excepción a lo anterior es *C. tarsalis*, en donde coexisten dos mecanismos de resistencia: uno que involucra un elevado “ secuestro de esterasas”, el otro que involucra esterasas metabólicamente activas aunque no elevadas (Ziegler *et al.*, 1987) . En contraste con la situación en *Culex*, un número de especies del genero *Anopheles* poseen un mecanismo de esterasas no elevadas que les confiere resistencia específicamente a malatión a través de un aumento en la velocidad de su metabolismo (Hemingway,1982; Malcolm y Boddington, 1989; Boddington, 1992). En *A. estefensi* se han aislado y caracterizado tres esterasas con actividad malatión carboxilesterasas.

2.8.3. Detección y monitoreo de resistencia a insecticidas.

El primer paso en la identificación de un problema potencial de resistencia, es detectar los cambios en la susceptibilidad de una población de vectores a través de bioensayos a poblaciones, ensayos bioquímicos e inmunológicos y ensayos moleculares o genéticos (Hemingway y Ranson, 2000).

En la actualidad existen diferentes métodos para detectar la emergencia de resistencia a insecticidas. Es necesario contar con datos de susceptibilidad de una línea base, detectar la resistencia en etapas tempranas y monitorear los niveles de resistencia durante diferentes períodos (WHO, 1992).

2.8.3.1. Bioensayos a poblaciones.

La Organización Mundial de la Salud, ha desarrollado bioensayos para medir la susceptibilidad de algunos insectos (Oakeshott *et al.*, 1993). Con la información obtenida, se puede calcular la dosis requerida para matar el 50% ó 90% de una población dada y esto permite detectar cambios en el porcentaje de mortalidad durante un período de tiempo, así como la presencia de resistencia en campo (WHO, 1992; Roberts y Andre, 1994). Estas pruebas de susceptibilidad ayudan a entender los patrones hereditarios de resistencia a través de cruzas y pruebas en la progenie, así mismo proporcionan una idea sobre los mecanismos que confieren resistencia (WHO, 1992).

En pruebas de laboratorio, se encontró que los bioensayos donde se utilizaron las lecturas de tiempo-mortalidad, fueron más sensibles en la detección de cambios en susceptibilidad, mostrando una mejor correlación con los ensayos bioquímicos en microplacas para mecanismos de resistencia, que los bioensayos que utilizan las lecturas dosis-mortalidad (Brogdon y Barber, 1990; Brogdon y McAllister, 1998).

2.8.3.2. Ensayos bioquímicos e inmunológicos.

Con estos ensayos, es posible detectar incrementos en enzimas asociadas con los mecanismos de resistencia tales como esterasas, monooxigenasas y glutation-S-transferasas. Estos incluyen pruebas electroforéticas e inmunológicas. La ventaja de los ensayos bioquímicos es que permiten realizar pruebas múltiples en mosquitos individuales, para observar resistencia múltiple de forma rápida (WHO, 1992). La principal desventaja de estos métodos es el costo.

Se han desarrollado ensayos bioquímicos específicos para todos los mecanismos de resistencia, excepto para los mecanismos de modificación del sodio y receptores GABA (WHO, 1992; Lengeler y Snow, 1996).

2.8.3.3. Ensayos moleculares o genéticos

Actualmente se encuentran disponibles técnicas moleculares para detectar genes que confieren resistencia (Brown y Brogdon, 1987; WHO, 1992). De esta forma se han detectado mecanismos de resistencia en el sitio de acción, por enzima de restricción por reacción en cadena de la polimerasa (PCR-REN, por sus siglas en inglés) y amplificación de alelos específicos por PCR (Brogdon y McAllister, 1998).

La información molecular sobre los mecanismos de resistencia, deberá incrementarse e incorporarse dentro de los procedimientos del diagnóstico de resistencia. Los mecanismos que pueden ser detectados de forma aparentemente sencilla, son los puntos de mutación genéticos que ocasionan

resistencia en el sitio de acción o los cambios en enzimas de detoxificación específicas (Brogdon y McAllister, 1998).

2.8.4. Importancia de los ensayos bioquímicos

Actualmente no se cuenta con ensayos de campo para todos los mecanismos. Los ensayos descritos permiten detectar la presencia de estos mecanismos de resistencia en insectos individuales, frescos o congelados, en laboratorios bien equipados. Sin embargo, para obtener una definición precisa y definitiva se necesita contar con material vivo, personal y equipo altamente especializado (WHO, 1992).

Los ensayos bioquímicos disponibles tienen varias ventajas en comparación con los bioensayos a poblaciones. Los primeros pueden proveer mucha más información por insecto, sobre el estado de la resistencia de la población y sus patrones de resistencia cruzada. También detectan con precisión el nivel genotípico, diferenciando individuos resistentes homocigóticos (WHO, 1992).

Con los ensayos bioquímicos se puede medir el efecto del tratamiento con plaguicidas en el campo, conociendo la frecuencia de los mecanismos de resistencia específicos y la posible disminución de esta frecuencia en ausencia de presión selectiva con plaguicida (WHO, 1992).

2.8.5. Manejo de resistencia.

Para asegurar una larga vida de los insecticidas, es esencial protegerlos contra el desarrollo de resistencia. El manejo de resistencia, consiste en utilizar todos los métodos disponibles para prevenir o retardar el incremento en los niveles de resistencia. El manejo de resistencia puede evitar el desarrollo de la misma en poblaciones de vectores (WHO, 1992; IRAC, 2003). Tácticas para el manejo de resistencia en poblaciones de vectores pueden ser:

- Variación de la dosis o frecuencia de aplicación del plaguicida.
- Aplicaciones locales en vez de aplicaciones generales, limitando el uso de insecticidas solo para áreas con altos niveles de transmisión de enfermedades.
- Aplicar tratamientos focales solo cuando el vector de la enfermedad esté presente.
- Usar plaguicidas menos persistentes.
- Tratar solo ciertos estados de vida del vector.
- Utilizar algunas mezclas de plaguicidas.
- Realizar alternancia, rotación o secuencia de plaguicidas.
- Utilizar las dosis y formulaciones apropiadas.
- Utilizar sinergistas.
- Explotar las variaciones en la resistencia.
- Evitar las formulaciones de liberación lenta.
- Buscar nuevos plaguicidas con diferentes sitios de acción.
- Utilizar métodos de control no químicos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo

Los bioensayos se desarrollaron en el laboratorio del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna, ubicada en el ejido San Antonio de los Bravos, Municipio de Torreón Coahuila. El análisis químico, se realizó en el Laboratorio de Entomología Médico de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL en la ciudad de Monterrey Nuevo León.

3.2. Colecta de material biológico

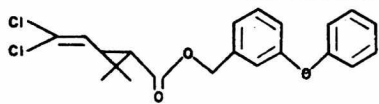
La población de estudio fue colectada en la en la Colonia Valle Verde de la Ciudad de Torreón, Coahuila, con una ubicación de acuerdo al lector GPS: N 25° 33' 381" y W 103° 22' 190". En este sitio se colectaron larvas y pupas.

Después de cada colecta, las larvas y pupas se colocaron en bandejas con agua, en jaulas de cría para que emergieran los adultos (hembras y machos), copularan y ovipositaran sobre tiras de papel canela con dimensiones de 2.5 por 30 cm. previamente colocadas en el margen de agua de los recipientes. Las oviposturas eran retiradas y colocadas en otros recipientes con agua, para que emergieran larvas y pupas, que a su vez se extraían y se depositaban en un nuevo recipiente colocado en otra jaula. De la población de adultos que emergía se separaban machos y hembras; los machos se colocaban en las jaulas de cría y las hembras se utilizaron para los bioensayos.

3.3. Bioensayos

Insecticida utilizado.

Cuadro 1. Producto utilizado en los bioensayos

PRODUCTO	PUREZA	CLASIFICACIÓN	ESTRUCTURA QUÍMICA
Permetrina	93.6 %	Piretroide	

* Proporcionado por Laboratorio de Entomología Médico de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL

3.3.1. Dosis discriminante

La dosis discriminante se determinó realizando pruebas a diferentes concentraciones de producto grado técnico por botella; las concentraciones de prueba fueron de 1000, 100, 86 y 64.5 μg por botella, en cada una de ellas se introducían 40 mosquitos hembra y se registraban los tiempos de mortalidad de cada uno de ellos. Los registros de tiempo-mortalidad se graficaron en papel logarítmico y en base a las curvas sigmoides se determinó cual sería la dosis seleccionada como dosis discriminante. El criterio de selección de la dosis discriminante consistió en seleccionar la curva en la cual los 40 mosquitos morían en el menor tiempo sin que la curva perdiera su figura sigmoide. La dosis discriminante seleccionada fue la de 86 μg por botella.

3.3.2. Impregnación de botellas

Se utilizaron botellas de cristal marca Wheaton de 250 ml, la impregnación del interior de las botellas se realizó utilizando soluciones de insecticidas (86 μg) disueltos en acetona. A cada botella se le aplicó 1 ml de

cada dilución. Esta botella fue agitada, girada e invertida de manera que todas las superficies internas resultaran expuestas a la solución (Brogdon y McAllister, 1998). Una vez que la fase líquida fue distribuida uniformemente, las botellas fueron colocadas en una campana de extracción de gases de manera horizontal sobre papel secante para eliminar el exceso de acetona por evaporación. Inmediatamente después se colocaron los tapones, y cada botella se envolvió en papel aluminio para que el producto no fuese degradado por la luz. Cada botella fue etiquetada con la concentración de insecticida aplicada y posteriormente se introdujeron en el refrigerador para conservarlas hasta su uso.

3.3.3. Exposición de los mosquitos

Los mosquitos fueron expuestos a la dosis discriminante en las botellas impregnadas con insecticida (40 mosquitos hembra por botella), una vez muerto el 50% se separaban y cada mosquito se colocaba en microtubos de 1.5 ml registrando estos como susceptibles (ss), el otro 50% se colocaba en el congelador para que murieran, después también se colocaban en los microtubos y se registraban como resistentes (RR) (Brogdon y McAllister, 1998).

Todos los mosquitos al estar ya en los microtubos y registrados, fueron llevados al congelador para conservarlos hasta contar con un total de 400 mosquitos tratados con la dosis discriminante (200 RR y 200 ss), esta cantidad fue llevada al Laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL en Monterrey, Nuevo León para su análisis bioquímico.

3.4. Análisis Bioquímico de Esterasas α y β .

Se homogenizó la cabeza y tórax de cada uno de los mosquitos en 100 μ l de solución buffer (K_3PO_4), diluyendo estas a 2 ml con 1900 μ l del buffer.

Posteriormente se colocan 100 μ l del homogenato en cada pozo de la microplaca (3 repeticiones), se agregaron 100 μ l de α -naftil acetato para esterasas α , y 100 μ l de β -naftil acetato para esterasas β , se dejó incubar a temperatura ambiente por 20 minutos, se agregaron 100 μ l de Orto Diamizidina, se dejó incubar a temperatura ambiente durante 4 minutos, se colocó la microplaca en el lector (Microplate reader) usando un filtro de 540 nm. En cada microplaca se colocaron 100 μ l de α -naftil por triplicado, utilizando éste como control positivo y 100 μ l de la solución buffer de (K_3PO_4) por triplicado siendo éste el control negativo para esterasas α . En cada microplaca se colocaron 100 μ l de β -naftil por triplicado, utilizando éste como control positivo y 100 μ l de la solución buffer de (K_3PO_4) por triplicado siendo éste el control negativo para esterasas β .

Se utilizó una población de mosquitos susceptibles (New Orleans) criada y mantenida en laboratorio como referencia para comparación de concentraciones de monooxigenasas.

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos para esterasas α en la población de Torreón, Coahuila en los mosquitos considerados como resistentes a la dosis discriminante de 86 μ g de concentración por botella se presentan en el Cuadro 2. y se muestran en la Fig. 1.

Cuadro 2. Absorbancia, frecuencia (No de indiv. y %) de esterasas α en la población de Torreón, Coahuila (resistentes).

Absorbancia	Frecuencia (No indiv)	Frecuencia (%)
0.400	7	3.5
0.500	65	32.5
0.600	69	34.5
0.700	33	16.5
0.800	23	11.5
0.900	3	1.5

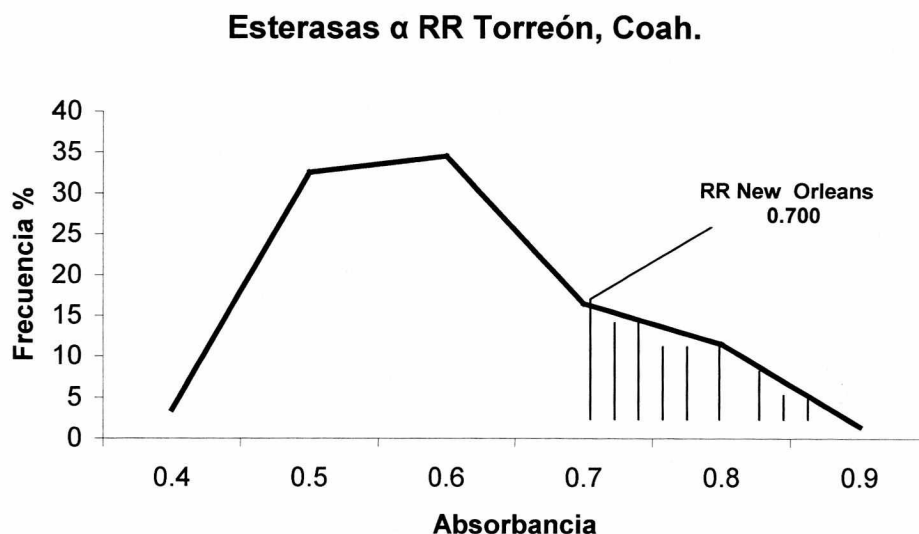


Fig.1. Frecuencia de esterasas α en la población de Torreón, Coahuila (resistentes).

De 200 mosquitos de la población en estudio, 26 mostraron una frecuencia poblacional mayor al los 0.700 nm.

Los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos para esterasas α en la población de Torreón, Coahuila en los mosquitos considerados como susceptibles a la dosis discriminante de 86 μ g de concentración por botella se presentan en el Cuadro 3. y se muestran en la Fig. 2.

Cuadro 3. Absorbancia, frecuencia (No de indiv. y %) de esterasas α en la población de Torreón, Coahuila (susceptibles).

Absorbancia	Frecuencia (No indiv)	Frecuencia (%)
0.200	1	0.5
0.300	15	7.5
0.400	16	8.0
0.500	82	41.0
0.600	52	26.0
0.700	34	17.0

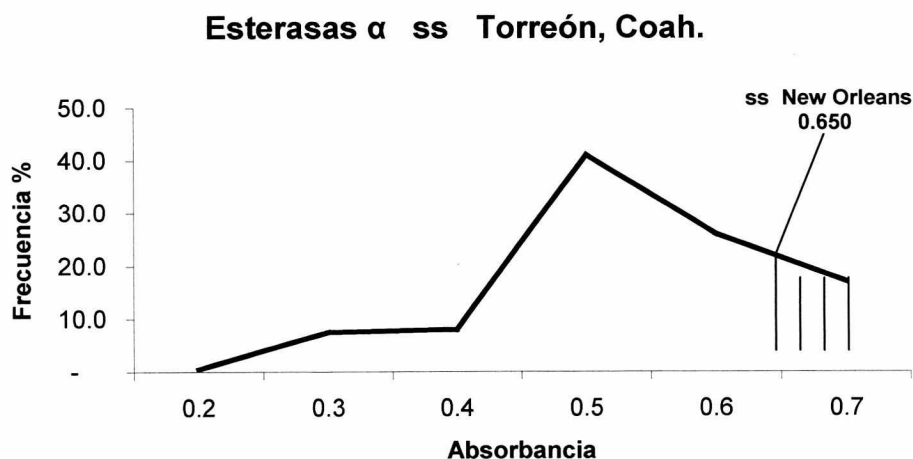


Fig. 2. Frecuencia de esterasas α en la población de Torreón, Coahuila (susceptibles)

De 200 mosquitos de la población en estudio, 48 mostraron una frecuencia poblacional mayor al los 0.650 nm.

Los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos para esterasas α en la población de referencia New Orleans (en los mosquitos considerados como resistentes y susceptibles) a la dosis discriminante de 86 μg de concentración por botella se presentan en el Cuadro 4. y se muestran en la Fig. 3.

Cuadro 4. Absorbancia, frecuencia (%) de esterasas α en la población de referencia New Orleans (resistentes y susceptibles).

Absorbancia	Frecuencia (%)	
	RR	ss
0.400	3.33	3.33
0.450	6.67	6.67
0.500	3.33	13.33
0.550	6.67	20.00
0.600	46.67	43.34
0.650	26.66	13.33
0.700	6.67	

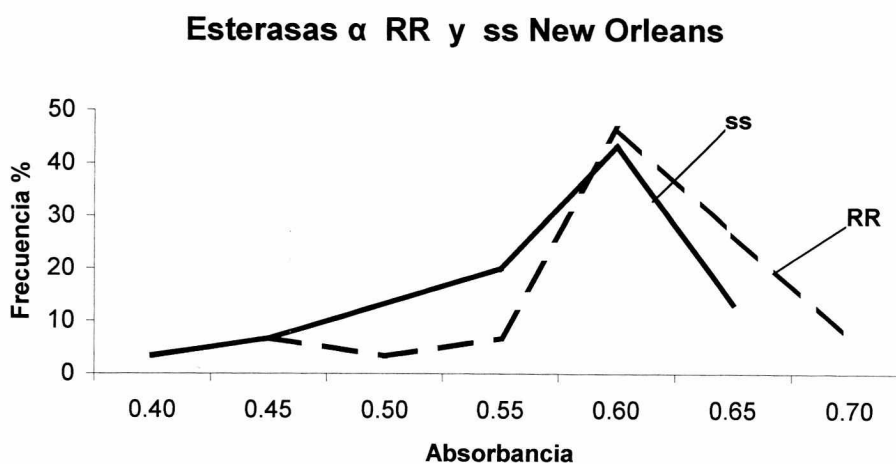


Fig. 3. Frecuencia de esterasas α en la población de referencia New Orleans (resistentes y susceptibles).

Los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos para esterasas β en la población de Torreón, Coahuila en los mosquitos considerados como resistentes a la dosis discriminante de 86 μ g de concentración por botella se presentan en el Cuadro 5. y se muestran en la Fig. 4.

Cuadro 5. Absorbancia, frecuencia (No de indiv. y %) de esterasas β en la población de Torreón, Coahuila (resistentes).

Absorbancia	Frecuencia (No indiv)	Frecuencia (%)
0.500	25	12.5
0.600	41	20.5
0.700	70	35.0
0.800	28	14.0
0.900	29	14.5
1.000	5	2.5
1.025	1	0.5
1.050	1	0.5

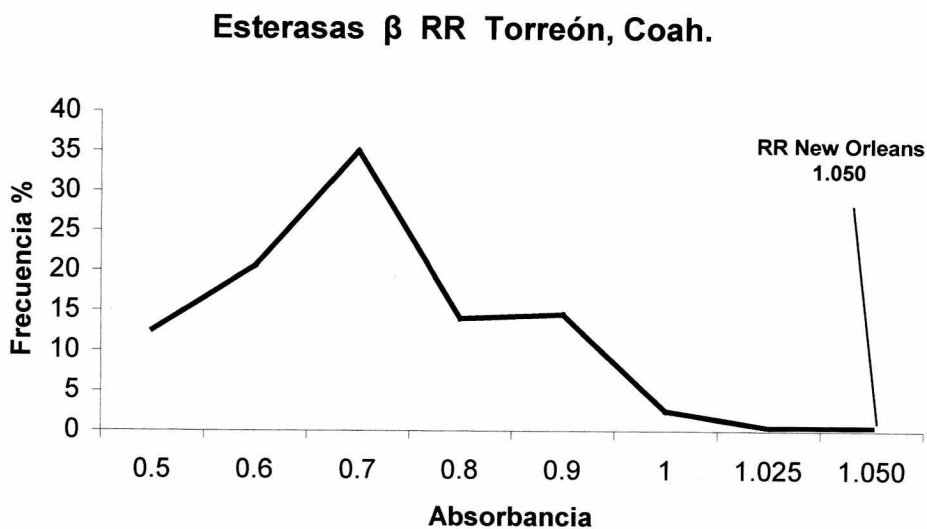


Fig. 4. Frecuencia de esterasas β en la población de Torreón, Coahuila (resistentes).

De 200 mosquitos de la población en estudio, ninguno mostró una frecuencia poblacional mayor al los 1.050 nm.

Los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos para esterasas β en la población de Torreón, Coahuila en los mosquitos considerados como susceptibles a la dosis discriminante de 86 μg de concentración por botella se presentan en el Cuadro 6. y se muestran en la Fig. 5.

Cuadro 6. Absorbancia, frecuencia (No de indiv. y %) de esterasas β en la población de Torreón, Coahuila (susceptibles).

Absorbancia	Frecuencia (No indiv)	Frecuencia (%)
0.500	14	7.0
0.600	70	35.0
0.700	90	45.0
0.800	23	11.5
0.900	1	0.5
0.925	1	0.5
0.950	1	0.5

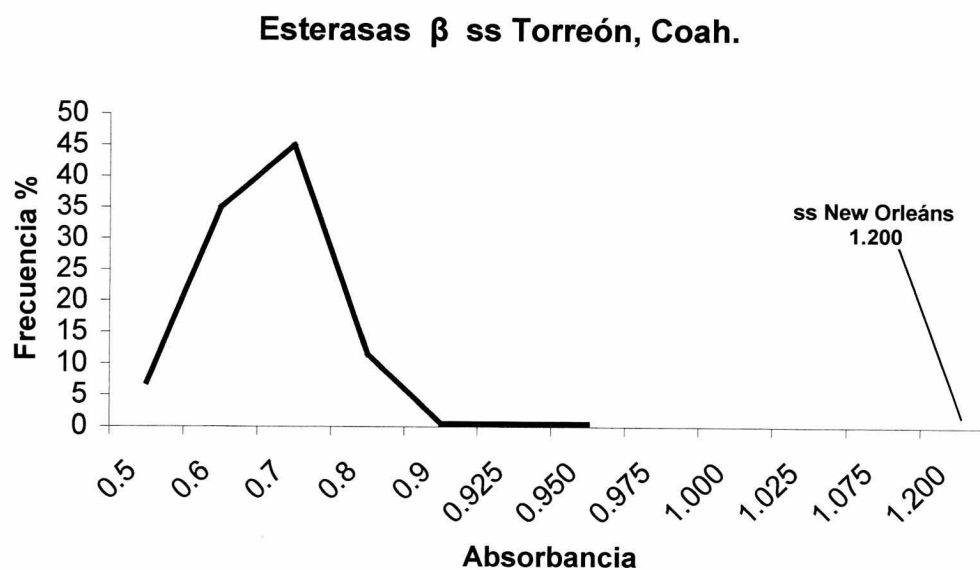


Fig. 5. Frecuencia de esterasas β en la población de Torreón, Coahuila (susceptibles).

Los 200 mosquitos de la población en estudio, mostraron una frecuencia poblacional menor a los 1.200 nm de la población de referencia New Orleans.

Los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos para esterasas β en la población de referencia New Orleans (en los mosquitos considerados como resistentes y susceptibles) a la dosis discriminante de 86 μg de concentración por botella se presentan en el Cuadro 7. y se muestran en la Fig. 6.

Cuadro 7. Absorbancia, frecuencia (%) de esterasas β en la población de referencia New Orleans (resistentes y susceptibles).

Absorbancia	Frecuencia (%)	
	RR	ss
0.875	3.33	
0.900	3.33	6.67
0.925	6.66	13.33
0.950	16.67	16.67
0.975	30.01	26.67
1.000	16.67	20.00
1.025	16.67	10.00
1.050	6.66	
1.075		3.33
1.100		
1.125		
1.150		
1.175		
1.200		3.33

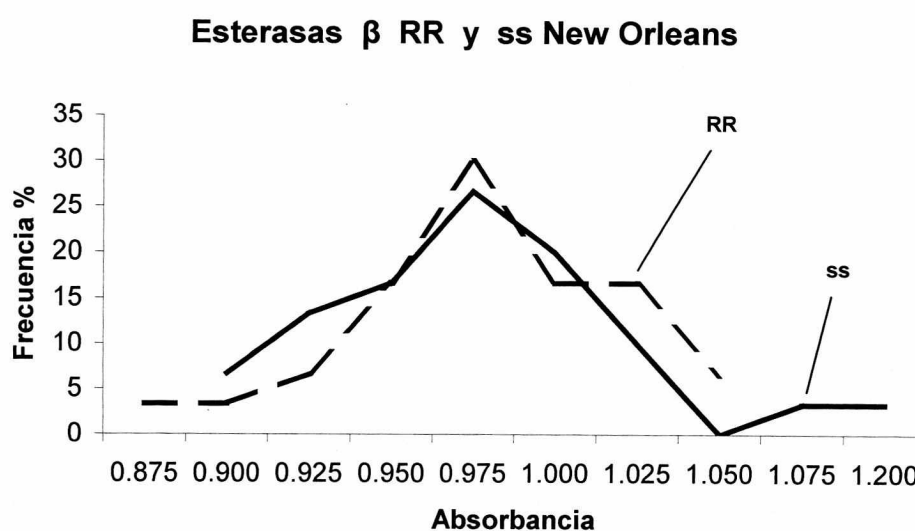


Fig. 6. Frecuencia de esterasas β en la población de referencia New Orleans (resistentes y susceptibles).

DISCUSIÓN

Se comprobó la hipótesis planteada al encontrar diferencia en cuanto a absorbancia y frecuencia de esterases α y β de la Población de Torreón, Coahuila en relación con la población de referencia (New Orleans).

La actividad enzimática de esterases α en la población de Torreón Coahuila (RR) fluctuó entre 0.400 y 0.900 nm mientras que en la población de referencia (New Orleans RR) la fluctuación fue entre 0.400 y 0.700 nm, La población de Torreón Coahuila, mostró una frecuencia poblacional del 13% mayor a los 0.700 nm (26 mosquitos).

La actividad enzimática de esterases α en la población Torreón Coahuila (ss) fluctuó entre 0.200 y 0.700 nm. mientras que en la población de referencia (New Orleans ss) la fluctuación fue de entre 0.400 y 0.650 nm, La población de Torreón Coahuila, mostró una frecuencia poblacional del 24% mayor a los 0.650 nm (48 mosquitos).

La actividad enzimática de esterases β en la población de Torreón Coahuila (RR) fluctuó entre 0.500 y 1.050 nm mientras que en la población de referencia (New Orleans RR) la fluctuación fue entre 0.875 y 1.050 nm. La fluctuación superior de la población de Torreón Coahuila, fue exactamente igual a la población de referencia.

La actividad enzimática de esterases β en la población Torreón Coahuila (ss) fluctuó entre 0.500 y 0.950 nm. mientras que en la población de referencia (New Orleans ss) la fluctuación fue de entre 0.900 y 1.200 nm. La fluctuación

superior en la población de Torreón Coahuila, es menor que la de la población de referencia.

Las frecuencias de esterasas α mostrada en la población de Torreón Coahuila tanto en mosquitos considerados resistentes como susceptibles, se consideran bajas 13 y 24% respectivamente y no sobrepasan el 50%, sin embargo es necesario continuar monitoreando la actividad enzimática de las esterasas α por estar estrechamente relacionadas con la resistencia metabólica a insecticidas piretroides.

Las frecuencias de esterasas β mostrada en la población de Torreón Coahuila en mosquitos considerados resistentes fueron igual a la población de referencia (New Orleans), mientras las mostradas por mosquitos considerados susceptibles fueron menores que las de la población de referencia (New Orleans), sin embargo es necesario continuar monitoreando la actividad enzimática de las esterasas β por estar estrechamente relacionadas con la resistencia metabólica a insecticidas piretroides.

6. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las cuales se realizó el presente trabajo y de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

1⁰.- Se determinó la absorbancia y frecuencia de esterasas α y β en la población de *Aedes aegypti* (L.) del Municipio de Torreón, Coahuila.

2⁰.- La población de *Aedes aegypti* (L.) bajo estudio, mostró rangos de absorbancia mayores en esterasas α que la población de referencia.

3⁰.- La población de *Aedes aegypti* (L.) bajo estudio, mostró rangos de absorbancia iguales o menores en esterasas β que la población de referencia.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha N., P. y B. Szyfres. 1986. Zoonosis y enfermedades trasmisibles comunes al hombre y a los animales. Publicación Científica No 503. Organización Panamericana de la Salud.
- Avellaneda, A. y M. Izquierdo. 2003. Filariasis. [En línea]. Federación Española de Asociaciones de Enfermedades Raras. <http://www.enfermedades-raras.org/es/default.htm>. [Consulta 10 de febrero del 2004].
- Berge, J.B, R. Feyereisen, and M. Amichot. 1998. Cytochrome P450 monooxygenases and insecticide resistance in insects. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* 353:1701-5.
- Beerntsen, B. T., A. A. James and B. M. Christensen. 2000. Genetics of mosquito vector competence. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64 (1):115-137.
- Bisset, J.A., M.M. Rodríguez, C. Díaz, E. Ortiz, M.C. Marquetti, and J. Hemingway. 1990. The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Bull Entomol Res.* 80:245-50.
- Bisset, J.A. 2002. Uso correcto de insecticidas: Control de resistencia. *Rev. Cubana Med. Trop.* 54(3):202-219.
- Blair, C. D., Z. N. Adelman and K. E. Olson 2000. Molecular Strategies for interrupting Arthropod-Borne virus transmission by mosquitoes. *Clinical Microbiology Reviews* 13 (4):651-661.
- Boddington, R.G. 1992. Characterization of malathion carboxylesterases and non-specific esterases in the malaria mosquito *Anopheles stephensi*. PhD diss. Univ. London.
- Borror, D.J., C.A. Triplehorn & N.F. Johnson. 1989. An introduction to the study of insects. Sixth Edition. Saunders College Publ. 875 pp.
- Brogdon, W. G, J.C. McAllister, and J. Vulule. 1997. Heme peroxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing the elevated oxidase mechanism for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 13:233-37.
- Brogdon, W. G., and J. C. McAllister. 1998. Insecticide resistance and vector control. *Emerging Infectious Diseases* 4(4): 605-613.

- Brogdon W, G. and A. M. Barber. 1990. Microplate assay of glutathione S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96B: 339-342.
- Brown, T., and W.G. Brogdon. 1987. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 145-162.
- Carino, F. A., J.F. Koener, F.W. Plapp and R. Feyereisen. 1994. Constitutive overexpression of the cytochrome P450 gene Cyp6A1 in a house fly strain with metabolic resistance to insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24: 411-418.
- Casida JE.1970. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. *J Agric Food Chem.* 18:753.
- Clark, A.G., G.L. Dick, S.M. Martindale, J.N. Smith. 1985. Glutathione S-transferases from the New Zealand grass grub, *Costelytra Zealandica*. *Insect Biochem.* 15:35-44.
- Clark, J.M., F. Matsumura. 1982. Two different types of inhibitory effects of pyrethroids on nerve Ca- and Ca²⁺-Mg ATP ase in the squid, *Loligo pealei*. *Pestic Biochem Physiol.* 4:232-8.
- Clark, J.M., F. Matsumura. 1987. The action of two classes of pyrethroids on the inhibition of brain Na,⁺ Ca and Ca²⁺ Mg ATP hydrolyzing activities of the American cockroach. *Comp Biochem Physiol.* 86c,135-145.
- Cohen, M.B., J.F. Koener and R. Feyereisen. 1994. Structure and chromosomal localization of Cyp6A1, a cytochrome P450-encoding gene from the house fly. *Gene.* 146: 267-272.
- Collins, F.H. and M.S. Paskewitz. 1995. Malaria: Current and future prospect for control. *Ann. Rev. Ent.* 40: 195-219.
- DeSilva D, Hemingway J, Ranson H, Vaughan A. 1997. Resistance to insecticides in insect vectors of disease: Estα3, a novel amplified esterase associated with estα1_s from insecticide resistant strains of the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Exp. Parasitol.* 87: 253-59.
- Eldefrawi, M.E., S.M. Sherby, I.M. Abalis, and A.T. Eldefrawi. 1985. Interactions of pirethroids and cyclodiene insecticides with nicotinic acetylcholine and GABA receptors. *Neurotoxicology.*6:47-61.
- Food Agriculture Organization (FAO).1970. Pest resistance to pesticide in agriculture. Importance, recognition and countermeasures. Rome. 32pp.

- Fauci, A.S., N. A. Touchette, and G. K. Folkers. 2005. Emerging Infectious Diseases: A 10-Year Perspective from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 11(4): 519-525
- Goddard, L.B., A.E. Roth, W. K. Reisen, and T. W. Scott. 2003. Vertical Transmission of West Nile Virus by Three California *Culex* (Diptera: Culicidae) Species *J. Med. Entomol.* 40(6): 743-746.
- Gobierno del Estado de Coahuila (GEC). 2004. Municipio de Torreón [En línea]. www.coahuila.gob.mx. [consulta 10 de enero del 2004].
- Grant, D.F. 1991. Evolution of glutathione S-transferase subunits in Culicidae and related Nematocera: Electrophoretic and immunological evidence for conserved enzyme structure and expression. *Insect. Biochem.* 21:435-45.
- Grant, D.F., and B.D. Hammock. 1992. Genetic and molecular evidence for a trans-acting regulatory locus controlling glutathione S-transferase-2 expression in *Aedes aegypti*. *Mol. Gen. Genet.* 234:169-76.
- Grant, D.F., and F. Matsumura. 1989. Glutathione S-transferase 1 and 2 in susceptible and insecticide resistant *Aedes aegypti*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 33:132-43.
- Gratz, G. N. 1999. Emerging and resurging vector-borne diseases. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 51-75
- Gubler, D.J., and E. B. Hayyes. 1992. Dengue and dengue hemorrhagic fever. [en línea]. Center for Disease Control, Dengue Branch and the Division of Vector Borne Infectious Diseases, CID, Fort Collins, CO. <http://wonder.cdc.gov/>. [Consulta 23 de diciembre del 2003].
- Gubler J., D. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Reviews.* 11(3): 480-496.
- Hayes, J.D. and D. J. Pulford. 1995. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30: 445-600.
- Hemingway J. 1982. The biochemical nature of malathion resistance in *Anopheles stephensi* from Pakistan. *Pestic. Biochem. Physiol.* 17:149-55.
- Hemmingway, J., M. Coleman, A. Vaughan, M. Patton, D. DeSilva. 1999. Aldehyde oxidase is co-amplified with worlds most common *Culex* mosquito insecticide resistance-associated esterases. *Insect Mol. Biol.* In press

- Hemingway, J., S.H.P.P. Karunaratne. 1998. Mosquito carboxylesterases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. *Med. Vet. Entomol.* 12: 1-12.
- Hemingway, J., J. Miyamoto, and P.R.J. Herath. 1991. A possible novel link between organo phosphorus and DDT insecticide resistance genes in *Anopheles*: supporting evidence from fenitrothion metabolism studies. *Pestic. Biochem. Physiol.* 39:49-56.
- Hemingway, J. and H. Ranson. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annu. Rev. Entomol.* 45:371-391.
- Huerta R., J.F., A. Morayta R., F.I. Rodríguez M., C. M. Gómez A. J. D. Chapa y J. Gutiérrez M. 1999. Manifestaciones clínicas y hematológicas de paludismo congénito. Revisión a propósito de un caso. *Rev. de Enf. Inf. en Ped. Mex.* 11(47): 196-203.
- Humar A. y J. Keystone. 1996. Evaluating fever in travellers returning from tropical countries. *BMJ.* 312(7036)953-956.
- Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). 2003. Insecticide Resistance: Causes and Management [en línea]. <http://www.irc-online.org/>. [fecha de consulta: 4 de Mayo del 2005].
- James, A. A. 1996. Dengue haemorrhagic fever. *Science* 272(5263): 829.
- Jelinek, T., G. Dobler, M. Holscher, T. Loscher, H.D. Nothdurft. 1997. Prevalence of infection with dengue virus among international travelers. *Arch. Intern. Med.* 157(20)2367-2370.
- Johnson, B. W., K.E. Olson, T. Allen-Miura, A. Rayms-Keller, J. O. Carlson, C.J. Coates, N. Jasinskiene, A. A. James, B. J. Beaty, and S. Higs. 1999. Inhibition of luciferase expression in transgenic *Aedes aegypti* mosquitoes by Simbrid virus expression of antisense luciferase RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96(23): 13399-13403.
- Kadous, A.A., S.M. Ghiasuddin, F. Matsumura, J.G. Scott, K. Tanaka. 1983. Difference end in the picrotoxinin receptor between the cyclodiene-resistant and susceptible strains of the German cockroach. *Pest Biochem. Physiol.* 19: 157-66.
- Karunaratne, S.H.P.P., J. Hemingway, K.G.I. Jayawardena, V. Dassanayaka, A. Vaughan. 1995. Kinetic and molecular differences in the amplified and non-amplified esterases from insecticide-resistant and susceptible *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. *J. Biol. Chem.* 270: 31124-28.

- Kasai, S., I.S. Weerasinghe, and T. Shono. 1998. P450 Monooxygenases are an important mechanism of permethrin resistance in *Culex quinquefasciatus* say larvae. *Arch. Insect. Biochem.. Physiol.* 37:47-56.
- Kautner I., M. J. Robinson, and U. Kuhnle. 1997. Dengue virus infection: Epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and prevention. *J. Pediatr.* 131(4): 516-524.
- Kleiner-Fisman, G. 2001. Encephalitis. [En línea]. Department of Neurology, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001415.htm#Preveni%C3%B3n> [consulta 15 de febrero del 2004]
- Laufer, J., M. Phelate, D.B. Sattelle. 1985. Actions of pyrethroid insecticides on insect axonal sodium channels. *Pestic Sci.* 16:651-61.
- Lengeler, C. and R.W. Snow. 1996. From efficacy to effectiveness: insecticide-treated bednets in Africa. *Bull World Health Organ.* 74: 325-332.
- Liu, N. and J.G. Scott. 1997. Phenobarbital induction of Cyp6D1 is due to a *trans* acting factor on autosome 2 in house flies, *Musca domestica* . *Insect. Mol. Biol.* 6: 77-81.
- Lund, A.E., and T. Narahashi. 1983. Kinetics of sodium channel modification as the basis for the variation in nerve membrane effects of pyrethroids and DDT analogs. *Pestic Biochem Phisiol*;20:203-16.
- Malcolm, C.A., and R.G. Boddington. 1989. Malathion resistance conferred by a carboxylesterase in *Anopheles culicifacies* Giles (species B) (Diptera: Culicidae). *Bull. Entomol. Res.* 79:193-99.
- Miller, T.A. 1988. Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. *Parasitology Today*.4:8-12.
- Narahashi, T. 1985. Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. *Neurotoxicology*.6:3-22.
- Oakeshott J.G., E.A. van Papenrecht, T.M. Boyce, M.J. Healy and R. J. Russell. 1993. Evolutionary genetics of Drosophila esterases. *Genetica.* 90: 239-268.
- Olkowski W., S Daar, and Olkowski. 1992. Common-sense pest control. The Taunton Press. California U.S.A. pp. 663-679.

- Toung, Y.S., T. Hsieh, C.D.Tu. 1990. *Drosophila* glutathione S-transferase 1-1 shares a region of sequence homology with maize glutathione S-transferase III *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 87:31-35.
- Trofa, A. F., R. F. DeFraités, B. L. Smoak, N. Kanesa-Thanan, A. D. King, J. M. Jeanne, P. O. MacArthy, O. Phillip, C. Rossi, and C. H. Hoke. 1997. Dengue fever in US Military personnel in Haiti. *JAMA*. 277(19): 1546-1548.
- Universidad de Navarra (UN). 2003. Fiebre Amarilla. [en línea]. Clínica Universitaria. Universidad de Navarra. <http://www.ondasalud.com/edicion/noticia/0,2458,23391,00.html>. [consulta 10 de febrero del 2004]
- U.S. Department of Health & Human Services (USDHHS). 1993. Mosquitoes of public health importance and their control. Atlanta, Georgia, USA. 85 p.
- USEPA. 2003. Mosquitoes: How to Control Them. [en línea]. <http://epa.gov/pesticides/citizens/mosquito.htm>. [consulta 17 de Junio del 2003].
- Vaughan, A., and J. Hemingway. 1995. Mosquito carboxylesterase Estα2¹, (A2). Cloning and sequence of the full length eDNA for a major insecticide resistance gene worldwide in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *J. Biol. Chem.* 270: 17044-49.
- Vulule, J.M., R.F. Beach, F.K. Atieli, J.M. Roberts, D.L. Mount, R.W. Mwangi. 1994. Reduced Susceptibility of *Anopheles gambiae* to permethrin-impregnated bednets and curtains in Kenya. *Med. Vet. Entomol.* 8:71-75.
- Ware, G.W., and D.M. Whitacre. 2004. The Pesticide Book. 6th ed. MeisterPro Information Resources. Meister Media Worldwide. Willoughby, Ohio USA.
- Watts, D.M.K., R. Porter, P. Putvatana, B. Vásquez, C. Calampa, C. G. Hayes, and S. B. Halstead. 1999. Failure of secondary infection with American genotype dengue 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 354(9188) 1431-1434.
- White, N. J. 1999. Variation in virulence of dengue virus. *Lancet* 354(9188)1401
- World Health Organization (WHO). 1957. Seventh report Expert Committee on insecticides WHO Tech Report Ser.125:37.

- World Health Organization (WHO). 1974. Expert committee on Filariasis. World Health Org. Tech. Rep. Ser. No 542
- World Health Organization (WHO). 1980. Resistance of vectors of disease to pesticides: 5th report of expert committee on vector biology and control. WHO Tech. Rep. Ser.655.
- World Health Organization (WHO). 1986. *Aedes aegypti*: Biology and control. Geneva, World Health Organization.
- World Health Organization (WHO). 1992. Vector resistance to insecticides. 15th Report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 18:1-62.
- World Health Organization (WHO). 2002. Dengue and dengue haemorrhagic fever. Fact sheet No.117. World Health Organization, Geneva.
- Zerva, E. 1988. Insecticidal activity of pyrethroids in insect of medical importance. *Parasit Today*.4:53-7.
- Ziegler. R., S. Whyard, A.E.R. Downe, G.R. Wyatt, V.K. Walker. 1987. General esterase, malathion carboxylesterase, and malathion resistance in *Culex tarsalis*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 8: 279-85.