

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DOSIS DIAGNOSTICO Y ENSAYOS BIOQUIMICOS PARA
MONITOREO DE RESISTENCIA EN POBLACIONES DEL
MOSQUITO *Aedes aegypti* (L.) DE CINCO ESTADOS
DEL NORTE DE MEXICO

POR:
GUADALUPE DEL CARMEN REYES SOLIS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS con acentuación
en ENTOMOLOGIA MEDICA

San Nicolás de los Garza, N. L.

Diciembre, 2007

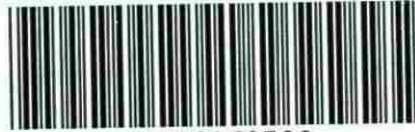
TD

Z5320

FCB

2007

.R49



1020160700



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



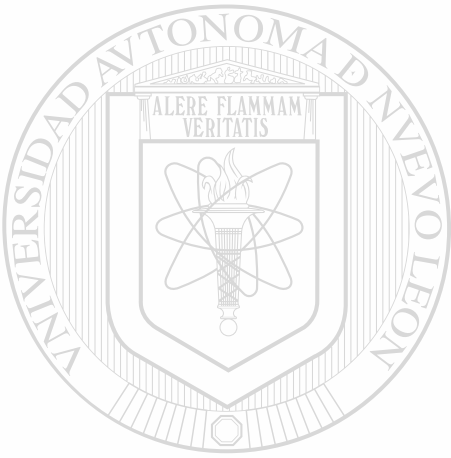
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TD
Z5320
FOB
2007
.R49

1464463



FONDO
TESIS
170908



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4- Septiembre 08
Biblioteca de Org.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DOSIS DIAGNOSTICO Y ENSAYOS BIOQUIMICOS PARA MONITOREO DE RESISTENCIA EN POBLACIONES DEL MOSQUITO *Aedes aegypti* (L.) DE CINCO ESTADOS DEL NORTE DE MEXICO.

Por

GUADALUPE DEL CARMEN REYES SOLIS

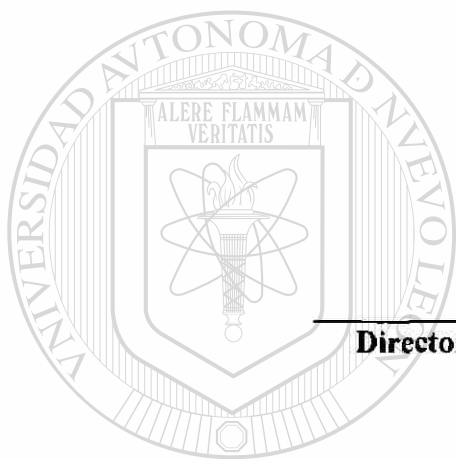
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS con acentuación en ENTOMOLOGÍA MÉDICA

San Nicolás de los Garza, N.L.

Diciembre, 2007

**DOSIS DIAGNOSTICO Y ENSAYOS BIOQUIMICOS PARA MONITOREO DE
RESISTENCIA EN POBLACIONES DEL MOSQUITO *Aedes aegypti* (L.) DE
CINCO ESTADOS DEL NORTE DE MEXICO**



Comité de Tesis




Director: Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez



Secretario: Dr. Gustavo Ponce García



Vocal: Dr. Idefonso Fernández Salas



Vocal: Dr. Raúl Torres Zapata



Vocal: Dr. Roberto Mercado Hernández

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
INDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE TABLAS.....	x
AGRADECIMIENTOS.....	xiv
DEDICATORIA.....	xv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
INTRODUCCION.....	1
HIPÓTESIS.....	2
OBJETIVOS.....	3
ANTECEDENTES.....	4
4.1. <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762).....	4
4.1.1. Clasificación sistemática.....	6
4.1.2. Ciclo de vida.....	7
4.1.2.1. Huevo.....	7
4.1.2.2. Larva.....	8
4.1.2.3. Pupa.....	9
4.1.2.4. Adultos.....	10
4.2.2. Biorritmo de picadura.....	12
4.2.3. Ciclo gonotrófico.....	13
4.2.4. Métodos para estimar la densidad de vectores y su importancia para el control.....	13
4.2. Enfermedades transmitidas por <i>Ae. aegypti</i>.....	14
4.2.1. Dengue y fiebre hemorrágica de dengue.....	14
4.2.1.1. Historia de la enfermedad del dengue.....	17
4.2.1.2. Incidencia de dengue y fiebre hemorrágica de dengue a nivel mundial en los últimos años.....	18
4.2.1.3. Incidencia de dengue y fiebre hemorrágica del dengue en México ...	19
4.2.1.4. Estatus de vacuna.....	20
4.2.1.5. Mosquito tigre asiático <i>Aedes albopictus</i>.....	20
4.3.1. Fiebre amarilla.....	21
4.3.1.1. Estatus de vacuna.....	22

4.3.2. Virus de Chinkungunya.....	22
4.3.2.1. Estatus de vacuna.....	23
4.4. Erradicación, un paradigma.....	23
5.1. Plaguicidas.....	24
5.1.1. Organoclorados.....	25
5.1.2. Organofosfatos.....	25
5.1.3. Carbamatos.....	25
5.1.4. Piretroides.....	26
5.1.4.1. Resistencia a piretroides.....	28
5.1.5. Plaguicidas en México.....	29
5.2. Resistencia a plaguicidas.....	31
5.2.1. Concepto de resistencia.....	31
5.2.2. Resistencia cruzada y resistencia múltiple.....	32
5.2.3. Mecanismos de resistencia.....	33
5.2.3.1. Mecanismos de resistencia metabólicos.....	34
5.2.3.2. Citocromo P450 monooxigenasas (P450).....	34
5.2.3.3. Esterasas no específicas.....	35
5.2.3.4. Glutación s-transferasas.....	36
5.2.3.5. Insensibilidad en el sitio de acción.....	36
5.3. Monitoreo, detección y manejo de resistencia.....	39
5.3.1. Técnicas de detección y monitoreo de resistencia.....	40
5.3.1.1. Métodos estándares.....	40
5.3.1.2. Métodos tentativos.....	41
5.3.1.3. Otros métodos.....	42
5.3.1.4. Bioensayos.....	42
5.3.1.5. Dosis diagnóstico (concentración) para monitorear resistencia vectorial.....	43
5.3.1.5.1. Técnica de la WHO (1981).....	43
5.3.1.5.2. Bioensayo CDC (1998).....	45
5.3.1.2. Técnicas bioquímicas para detección de resistencia.....	46
5.3.1.2.1. Ensayo para acetilcolinesterasa alterada.....	47
5.3.1.2.2. Ensayo para actividad elevada de esterazas.....	47
5.3.1.2.3. Ensayos para actividad elevada de glutación s-transferasa.....	48
5.3.1.2.4. Ensayos para citocromo P450 monooxigenasas (P450s).....	49
5.3.1.2.5. Comparación entre bioensayos y ensayos con microplacas.....	49
6. MÉTODOS.....	50
6.1. Área de estudio.....	50
6.1.1. Estado de Baja California Norte.....	50
6.1.2. Estado de Baja California Sur.....	51
6.1.3. Estado de Coahuila.....	52
6.1.4. Estado de Sonora.....	53
6.1.5. Estado de Tamaulipas.....	54

6.2. Metodología	55
6.2.1. Obtención y manejo de material biológico	55
6.2.2. Mantenimiento y cría de mosquitos adultos	55
6.2.3. Determinación de dosis diagnóstico (DD) en larvas y adultos.	56
6.2.4. Bioensayos	57
6.2.5. Análisis bioquímico	57
6.2.5.1. Enzayos enzimáticos de α y β-esterasas	58
6.2.5.2. Enzayos enzimáticos de oxidasas	58
6.2.5.3. Enzayos enzimáticos de glutatión s-transferasa	58
6.2.5.4. Enzayos enzimáticos de acetilcolinesterasa	59
6.2.5.5. Enzayos enzimáticos de acetilcolinesterasa insensible	59
6.2.6. Análisis de resultados	59

RESULTADOS..... 62

7.1. Dosis diagnóstico para los estados de Baja California Norte y Sur, Coahuila, Sonora y Tamaulipas.	62
7.2. Actividad enzimática y umbral de tolerancia.	63
7.3. Análisis y comparaciones de los resultados enzimáticos obtenidos entre las poblaciones estudiadas	66
7.3.1. Comparación de α esterasas entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	66
7.3.2. Comparación de α esterasas entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	67
7.3.3. Comparación de β esterasas entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	67
7.3.4. Comparación de β esterasas entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	67
7.3.5. Comparación de oxidasas entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	68
7.3.6. Comparación de oxidasas entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	68
7.3.7. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	68
7.3.8. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	69
7.3.9. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	69
7.3.10. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	69

7.3.11. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	69
7.3.12. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.	70
7.3.13. Comparación de α esterasas entre los individuos de la población del estado de Coahuila.	70
7.3.14. Comparación de β esterasas entre los individuos de la población del estado de Coahuila.	71
7.3.14. Comparación de oxidasas entre los individuos de la población del estado de Coahuila.	71
7.3.15. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de la población del estado de Coahuila.	71
7.3.16. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de la población del estado de Coahuila.	72
7.3.17. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de la población del estado de Coahuila.	72
7.3.18. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	77
7.3.19. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.	77
7.3.20. Comparación de β esterasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	77
7.3.21. Comparación de β esterasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.	77
7.3.22. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	78
7.3.23. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.	78
7.3.24. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	78
7.3.24. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	79
7.3.25. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	79
7.3.26. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.	79
7.3.27. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	80
7.3.28. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.	80
7.3.29. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	80
7.3.30. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	80

7.3.31. Comparación de β esterases entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	81
7.3.32. Comparación de β esterases entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	81
7.3.33. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	81
7.3.34. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	82
7.3.35. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.	82
7.3.36. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.	82
7.3.37. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	82
7.3.38. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	83
7.3.39. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	83
7.3.40. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.	83

DISCUSION	87
-----------------	----

CONCLUSIONES.....	91
-------------------	----

APENDICES.....	93
----------------	----

LITERATURA CITADA.....	137
------------------------	-----

RESUMEN BIOGRÁFICO	146
--------------------------	-----

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. Distribución mundial de vectores del dengue.	4
Figura 2. <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762).	6
Figura 3. a. Huevo de <i>Ae. aegypti</i> ; b. llantas en vulcanizadora; c. floreros.	7
Figura 4. a. Larva de <i>Ae. aegypti</i> ; b. tazón de cerámica con larvas; c. larvas alimentándose a diferentes alturas de la columna de agua.	9
Figura 5. a. Pupa de <i>Ae. aegypti</i> ; b. pupa de mosquito donde se señalan partes del cuerpo.	9
Figura 6. a. Escamas en forma de lira en el mesonoto de <i>Ae. aegypti</i> ; b. hembra adulta de <i>Ae. aegypti</i> ; c. macho adulto de <i>Ae. aegypti</i>	11
Figura 7. Distribución mundial del virus de dengue en 2006.....	14
Figura 8. Ciclo de transmisión de dengue.....	15
Figura 9. Historia filogenético del virus dengue. El subtipo se muestra cerca del grupo relevante y los estimados de edad de los más recientes antecesores comunes se muestran por las llaves (con intervalos en los paréntesis).	16
Figura 10. Distribución del virus de dengue en el Hemisferio Americano.	18
Figura 11. Distribución del virus dengue en África, Asia, Europa y Oceanía.....	19
Figura 12. Distribución mundial del virus de la fiebre amarilla en 2005.	22
Figura 13. Distribución de casos del virus de Chikungunya en 2006.....	23
Figura 14. Fórmula de Abbot.....	45
Figura 15. Mapa del estado de Baja California Norte que muestra las localidades de Tecate y Tijuana en donde fueron colectadas las poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> ..	50
Figura 16. Mapa del estado de Baja California Sur que muestra las localidades de Comondú (Ciudad Constitución) y Loreto en donde se colectaron las poblaciones de <i>Ae. aegypti</i>	51
Figura 17. Mapa del estado de Coahuila que muestra la localidad Torreón en donde se colectaron las poblaciones de <i>Ae. aegypti</i>	52
Figura 18. Mapa del estado de Sonora que muestra las localidades de Hermosillo y Sonoita en donde se colectaron las poblaciones de <i>Ae. aegypti</i>	53
Figura 19. Mapa del estado de Tamaulipas que muestra las localidades de Reynosa, Matamoros y Nuevo Laredo en donde se colectaron las poblaciones de <i>Ae. aegypti</i>	54
Figura 20. Floreros de cementerios y llantas de una vulcanizadora.	55
Figura 21. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Norte en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	74

Figura 22. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Norte en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	74
Figura 23. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Sur en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	75
Figura 24. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Sur en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	75
Figura 25. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones de los estados de Coahuila comparados con la población de Monterrey y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	76
Figura 26. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones de los estados de Coahuila comparados con la población de Monterrey y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	76
Figura 27. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Sonora comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	85
Figura 28. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Sonora comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	85
Figura 29. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Tamaulipas comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	86
Figura 30. Valores de absorbancia de hembras adultas de <i>Ae. aegypti</i> que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Tamaulipas comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.	86

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1. Mutaciones genéticas asociadas con enzimas y receptores que pueden dar como resultado diferentes tipos de resistencia.	34
Tabla 2. Comparación entre las técnicas de la WHO (1981) y del CDC (1998) para obtención de la dosis diagnóstico.	46
Tabla 3. Dosis diagnóstico del insecticida permetrina para las poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> de los estados de Baja California Norte, California Sur, Coahuila, Sonora y Tamaulipas.	62
Tabla 4. Dosis diagnóstico de tres diferentes insecticidas para las poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> del estado de Tamaulipas.	63
Tabla 5. Dosis diagnóstico de los insecticidas DDT, malatión, propoxur, temefos, bifentrina, cipermetrina y lambdacihalotrina, para poblaciones de <i>Ae. aegypti</i> de los estados de Baja California Norte y Sur.	63
Tabla 6. Porcentaje de hembras de <i>Ae. aegypti</i> seleccionadas con la DD de permetrina de Baja California Norte que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.	64
Tabla 7. Porcentaje de hembras de <i>Ae. aegypti</i> seleccionadas con la DD de permetrina de Baja California Sur que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.	64
Tabla 8. Porcentaje de hembras de <i>Ae. aegypti</i> seleccionadas con la DD de permetrina del estado de Coahuila que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.	65
Tabla 9. Porcentaje de hembras de <i>Ae. aegypti</i> seleccionadas con la DD de permetrina del estado de Sonora que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.	65
Tabla 10. Porcentaje de hembras de <i>Ae. aegypti</i> seleccionadas con la DD de permetrina del estado de Tamaulipas que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.	66
Tabla 11. Media y desviación estándar de las absorbancias obtenidas en cada ensayo bioquímico en las población de hembras adultas de los estados de Baja California Norte y Sur expuestas a la DD de permetrina.	73
Tabla 12. Media y desviación estándar de las absorbancias medidas en cada ensayo bioquímico en la población de hembras adultas del estado de Coahuila expuestas a la DD de permetrina comparadas con la población de Monterrey.	73
Tabla 13. Media y desviación estándar de las absorbancias medidas en cada ensayo bioquímico en la población de hembras adultas del estado de Sonora expuestas a la DD de permetrina.	84
Tabla 14. Media y desviación estándar de las absorbancias medidas en cada ensayo bioquímico en la población de hembras adultas del estado de Tamaulipas expuestas a la DD de permetrina.	84

Tabla 15. Comparación de medias y análisis de varianza de α-esterasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	94
Tabla 16. Comparación de medias y análisis de varianza de α-esterasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	95
Tabla 17. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	96
Tabla 18. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	97
Tabla 19. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	98
Tabla 20. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	99
Tabla 21. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	100
Tabla 22. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s- transferasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	101
Tabla 23. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	102
Tabla 24. Comparación de medias y análisis de varianza acetilcolinesterasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	103
Tabla 25. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	104
Tabla 26. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.	105
Tabla 27. Comparación de medias y análisis de varianza de α- esterazas en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.	106
Tabla 28. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.	107
Tabla 29. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que no sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.	108
Tabla 30. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey. ...	109

Tabla 31. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.	110
Tabla 32. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.	111
Tabla 33. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.	112
Tabla 34. Comparación de medias y análisis de varianza de α- esterases en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	113
Tabla 35. Comparación de medias y análisis de varianza de α- esterases en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	114
Tabla 36. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterases en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	115
Tabla 37. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterases en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	116
Tabla 38. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	117
Tabla 39. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	118
Tabla 40. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	119
Tabla 41. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s- transferasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	120
Tabla 42. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	121
Tabla 43. Comparación de medias y análisis de varianza acetilcolinesterasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	122
Tabla 44. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	123
Tabla 45. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.	124
Tabla 46. Comparación de medias y análisis de varianza de α- esterases en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.	125
Tabla 47. Comparación de medias y análisis de varianza de α- esterases en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.	126
Tabla 48. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterases en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.	127
Tabla 49. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterases en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.	128
Tabla 50. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.	129
Tabla 51. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.	130

Tabla 52. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas. 131

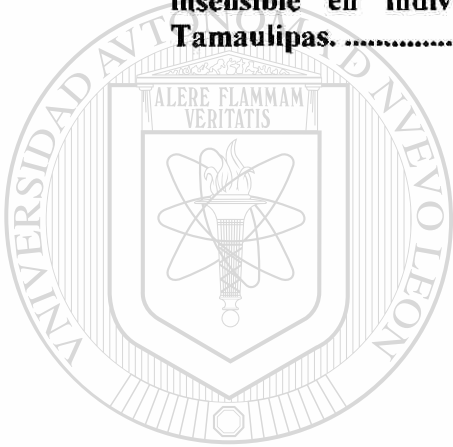
Tabla 53. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s- transferasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas. 132

Tabla 54. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas. 133

Tabla 55. Comparación de medias y análisis de varianza acetilcolinesterasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas. 134

Tabla 56. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas. 135

Tabla 57. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas. 136



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT por el apoyo otorgado a través de la beca 176884, convenio 52049; CONACyT Ciencia Básica, convenio 54023 y a la UANL PAICYT 2007.

A la Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez, mi maestra y amiga, gracias por sus consejos, porras, confianza y regaños; gracias por compartir sus conocimientos conmigo y darme la oportunidad de crecer como profesional a su lado.

Al Dr. Ildefonso Fernández Salas, gracias por la oportunidad de ser parte del Laboratorio de Entomología Médica, pero sobretodo gracias por permitirme aprender gracias a su guía.

A mi comité de tesis y tutores, Dr. Raúl Torres Zapata, Dr. Gustavo Ponce García, Dr. Humberto Quiroz Ramírez, Dra. María Luisa Tovar y Dr. Filiberto Reyes Villanueva, por sus consejos y correcciones.

A mis profesores y amigos, M. en C. María Eugenia Castillo Herrera, M. en C. Leticia Téllez Sánchez, M. en C. José Andrés Trejo Rivera, M. en C. Julián Everardo García Rejón, Prof. Silvia Castro Espinoza, Ing. Irlanda Espinoza (†), M. en C. Juan Rodríguez Sánchez, Lic. Rita Fleites Hun, Ing. Genny Manzanero Durán y M. en C. Juan Bautista Chablé Santos, gracias por enseñarme el camino de la ciencia.

A mis comadres, Dra. María Haydeé Loajza Becerra y Dra. Nydia Aída Rodríguez Neaves, con quienes compartí grandes momentos, gracias por acompañarme cuando me sentí solita, por ayudarme a recoger los pedazos de mi roto corazón, gracias por ser parte de mi vida.

A mis amigas Q.B.P. Rosa María Sánchez Casas, Biol. Dulce Elizabeth Tovar Martínez, Q.B.P. Brenda Silva, Dra. Dora Lilia García Elizondo, Q.B.P. Maricela Laguna Aguilar y Q.B.P. Marcela Selene Alvarado Moreno, gracias por su apoyo.

A la familia Sánchez Casas, Doña Elida y Don Samuel, quienes mi acogieron en su familia y me brindaron cariño, siempre estaré en deuda con ustedes.

A mis amigos, Shidoshi Prof. Armando Cantú Reyna, Shidoshi Ho Lic. Mario Solórzano y Shidoshi Ho César Olivares, de quienes reafirme el valor de creer en uno mismo, la solidaridad, la confianza, pero sobretodo la amistad verdadera.

A la familia Lozano Saavedra, Saúl, Karla e Isacc, quienes mi brindaron su casa y me enseñaron una de las más valiosas lecciones de vida, gracias.

DEDICATORIA

A mi familia: mi padre José Antonio Reyes Cua, el faro de luz que guía mis pasos; mi madre Teresita del Niño Jesús Solís Bojórquez, el abrazo que cobija mis sueños; mi hermana María Teresa Reyes Solís, mi cómplice, amiga y compañera de vida. Gracias porque permanecer siempre a mi lado, ayudándome a crecer, enfrentar mis batallas diarias y vencer mis miedos, por creer en mí a ciegas, pero sobretodo gracias porque son lo mejor de mi vida.

A mis hermanitos: Gerardo Humberto y Gonzalo Adolfo Coronado Gutiérrez, Diego André Guzmán Pineda (Eusebio), quienes le dan alegría a mi vida con sus sonrisas y juegos.

A mis seres queridos que ya partieron al viaje eterno: mis abuelos Víctor Reyes Cauich y Tránsito Solís Perera, mis abuelas Agustina Cua Cen y Beatriz Bojórquez Bojórquez.

A mi tío, Dr. Miguel Solís Bojórquez y mi prima C.P.T. Gabriela Concepción Carrillo Solís; mil gracias por apoyarme para realizar mis sueños.

A quien fue parte de mi vida y su recuerdo lo guardaré por siempre en mi corazón.

DEDICATORIA

A mi familia: mi padre José Antonio Reyes Cua, el faro de luz que guía mis pasos; mi madre Teresita del Niño Jesús Solís Bojórquez, el abrazo que cobija mis sueños; mi hermana María Teresa Reyes Solís, mi cómplice, amiga y compañera de vida. Gracias porque permanecer siempre a mi lado, ayudándome a crecer, enfrentar mis batallas diarias y vencer mis miedos, por creer en mí a ciegas, pero sobretodo gracias porque son lo mejor de mi vida.

A mis hermanitos: Gerardo Humberto y Gonzalo Adolfo Coronado Gutiérrez, Diego André Guzmán Pineda (Eusebio), quienes le dan alegría a mi vida con sus sonrisas y juegos.

A mis seres queridos que ya partieron al viaje eterno: mis abuelos Víctor Reyes Cauich y Tránsito Solís Perera, mis abuelas Agustina Cua Cen y Beatriz Bojórquez Bojórquez.

A mi tío, Dr. Miguel Solís Bojórquez y mi prima C.P.T. Gabriela Concepción Carrillo Solís; mil gracias por apoyarme para realizar mis sueños.

A quien fue parte de mi vida y su recuerdo lo guardaré por siempre en mi corazón.

RESUMEN

Dosis diagnóstico (DD) de permetrina fueron determinadas para diez poblaciones de *Aedes aegypti* (L.) de cinco estados del norte de México: Baja California Norte y Sur, Coahuila, Sonora y Tamaulipas. Después de exponer 10 grupos de 100 hembras a la DD y producir la mortalidad del 50%, los individuos fueron divididos en dos categorías: sobrevivientes y muertos. Cada uno de estos grupos fue disectado para separar la cabeza, tórax y abdomen. Ensayos bioquímicos fueron realizados en cabeza y tórax para determinar resistencia relacionada con actividad enzimática incluyendo: α y β -esterasas, glutatión s-transferasa, acetilcolinesterasa, acetilcolinesterasa insensible y oxidasas de función múltiple (OFM). Los resultados fueron comparados con los obtenidos para la cepa susceptible de referencia New Orleans. Todas las poblaciones estudiadas mostraron la presencia consistente de actividad enzimática relacionada con α esterases así como también con el mecanismo de acetilcolinesterasa insensible en las poblaciones de los individuos sobrevivientes. En las poblaciones de Baja California Norte y Sur, es el mecanismo α esterases el que encontramos como el principal medio de resistencia enzimática, así mismo GST esta presente en estas poblaciones como uno de los principales mecanismos de resistencia en individuos sobrevivientes a la exposición de DD de permetrina. La población de Coahuila mostró que acetilcolinesterasa insensible es el mecanismo que sobrepaso el umbral de resistencia establecido con los resultados obtenidos de la cepa susceptible. En cuanto a las poblaciones de Sonora, son α y β esterases, así como OFM las que encontramos como los principales mecanismos detoxificativos. En relación a las poblaciones de Tamaulipas, es el mecanismo acetilcolinesterasa insensible el que se encontró presente en los individuos sobrevivientes a la DD de permetrina. También se determinaron los valores de DD para los insecticidas DDT, malatión, propoxur, temefos, bifentrina, cipermetrina y lambdacialotrina en las poblaciones de Tecate y Tijuana del estado de Baja California Norte así como para Ciudad Constitución y Loreto, poblaciones pertenecientes al estado de Baja California Sur. En las poblaciones de Tamaulipas, las DD para los insecticidas malatión, bifentrina y cipermetrina también fueron obtenidas.

ABSTRACT

The diagnostic dose (DD) of permethrin was determined in 10 populations of *Aedes aegypti* (L.) from three states in the north of Mexico: Baja California Norte, Baja California Sur, Coahuila, Sonora and Tamaulipas. After we exposed 10 groups of 100 females to the DD and after producing 50% mortality, individuals were divided into two categories: killed and survivors. Each of these groups was dissected to separate the head, thorax and abdomen. Biochemical tests were performed on the head and thorax to determine resistance-related enzyme activities including α and β -esterases, glutathione-S-transferase, acetylcholinesterase, insensitive acetyl cholinesterase, and mixed-function oxidases. The results were compared with those for the susceptible New Orleans strain. All the populations studied showed the consistent presence of enzymatic activity for α esterases as well as iAChE in surviving populations. However, in the Sonora population, α and β esterases and MFO were found to represent the main detoxifying mechanisms. The population of Tamaulipas and Coahuila showed iAChE as the only enzyme activity that surpassed the threshold established with the susceptible strain. DD values were also determined for the insecticides DDT, malathion, propoxur, temephos, bifenthrin, cypermethrin and lambda-cyhalothrin in the populations of Tecate and Tijuana in the state of Baja California Norte and Ciudad Constitucion and Loreto in the state of Baja California Sur. In the populations of Tamaulipas, the DD of the insecticides malathion, bifenthrin and cypermethrin was also ascertained.

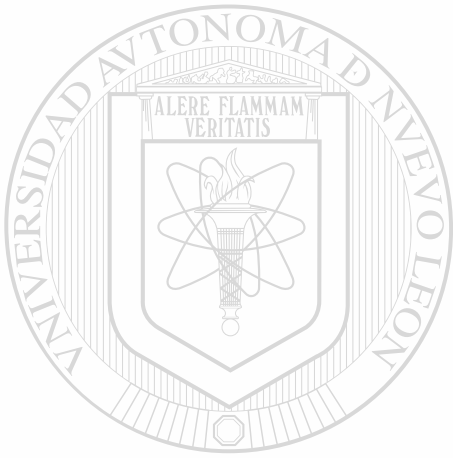
INTRODUCCION

El dengue representa actualmente una de las enfermedades más importantes transmitidas por mosquitos en México. La tendencia al incremento de la enfermedad hasta alcanzar la mayoría de los estados de nuestro país, la presencia de los 4 serotipos, además del potencial de resistencia del vector a los insecticidas aplicados para su control, hacen aún más grave la situación de esta enfermedad en México. La resistencia a los insecticidas tradicionales para el control de larvas y adultos (temefos y malatión) se ha incrementado en países caribeños vecinos. En México, se utilizó un esquema similar en los años 60's para malaria y dengue, y desde los 80's, cuando el dengue resurgió en nuestro país. Por lo tanto, se sospecha que tal presión de selección sobre las poblaciones de *Aedes aegypti* y la aparición de cepas resistentes, pueden eventualmente hacer inefectivo el control químico. Por otro lado, el uso de insecticidas para el control de vectores en todo el país ha sido regulado por la norma NOM-032-SSA2-2002 que establece la necesidad del uso de piretroides para el control del adulto del mosquito a partir del 2000. Considerando el conocimiento actual sobre mecanismos de resistencia y la eventual aparición de resistencia cruzada, surge la necesidad de evaluar la susceptibilidad y/o resistencia, niveles y mecanismos principales de las poblaciones del mosquito a los insecticidas autorizados, además de históricos y alternativos para su control.

La resistencia a insecticidas es una de las mayores problemáticas a las que se enfrenta los programas de control de *Aedes aegypti* en el norte de México y el resto del país, por lo que la detección de resistencia a un determinado grupo toxicológico nos permitiría establecer un programa eficaz en control de vectores, ya que esta nos capacita para hacer un manejo racional de la resistencia basado en la rotación de insecticidas con énfasis en mantener poblaciones susceptibles.

HIPÓTESIS

La aplicación continua de insecticidas en las campañas de control del vector del dengue *Aedes aegypti*, determina el tipo y grado de resistencia en las poblaciones seleccionadas.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

OBJETIVOS

3.1. General

Determinar susceptibilidad y mecanismos bioquímicos de resistencia a insecticidas en poblaciones de mosquitos *Aedes aegypti* (L.) de los estados de Baja California Norte, Baja California Sur, Coahuila, Sonora y Tamaulipas.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1. Establecer dosis diagnóstico para los insecticidas DDT, malatión, temefos, propoxur, bifentrina, cipermetrina, deltametrina, lamdacihalotrina en poblaciones del mosquito *Ae. aegypti*.

3.2.2. Determinar mecanismos bioquímicos de resistencia: esterases (alfa y beta), oxidasas (MFO), glutatión s-transferasa (GST), acetilcolinesterasa (AChE), acetilcolinesterasa insensible (iAChE).

ANTECEDENTES

4.1. *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

Entre los artrópodos vectores de enfermedades, *Ae. aegypti* es uno de los más adaptados al ser humano y sus viviendas. Es un mosquito africano cuyo origen se ubica biogeográficamente en la Región Etiópica (África), donde se agrupa la mayor cantidad de especies del Subgénero *Stegomyia* (Tabachnick, 1991).

Se piensa que fue probablemente introducido del Viejo Mundo a bordo de barcos que cruzaban el Atlántico como parte del mercado de esclavos, diseminándose debido al intercambio entre naciones (Knudsen, 1983).

Ancestralmente, desde esas áreas, inició una dispersión efectuada por el hombre que lo ha llevado a constituirse en un mosquito cosmopolita. Su presencia es o fue detectada en la mayor parte de las áreas tropicales o subtropicales del planeta, comprendidas entre los 45° de latitud norte y los 35 de latitud sur, en las zonas isotermales intermedias a los 20°C (figura 1), altamente susceptible a temperaturas extremas y climas cálidos secos.

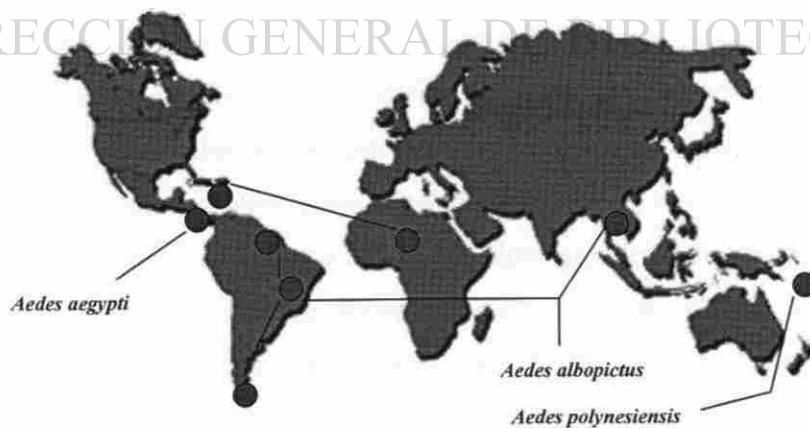


Figura 1. Distribución mundial de vectores del dengue.

Es un efectivo vector de diversas arbovirosis, pero su mayor importancia epidemiológica está ligada a su papel como transmisor de fiebre amarilla, chikungunya y, con mayor actualidad, de dengue (Womack, 1993).

Hasta la actualidad y desde 1980, se asiste a una constante dispersión y reinfestación de diversas áreas de las Américas con *Ae. aegypti*. Este hecho ha motivado más frecuentes e importantes epidemias de dengue en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú, Venezuela, México, toda Centroamérica, Antillas y Estados Unidos, entre otros países debido principalmente a que diversas situaciones ambientales y socio-demográficas van en aumento como la deforestación, cambio climático, migración campo-ciudad y proyectos de desarrollo interregional, facilitando su reinicio en un futuro mediano (Githeko *et al.* 2000).

Es un mosquito básicamente doméstico cuya densidad depende de la disponibilidad de criaderos dentro del hogar o en el peridomicilio. Los principales criaderos difieren de una zona a otra (Kudsen, 1983). Aunque pueden utilizar hábitats naturales como son las bromelias, huecos de árboles y axilas de hojas (Rodhain and Rosen, 1997). Los más comúnmente citados como hábitats larvales para este mosquito contenedores de agua (cisternas, barriles, cubetas, jarras entre otras) floreros (vasos, potes, etc.) que son usualmente productivos independientemente de los patrones de lluvia; aquellos objetos descartados o bien contenedores no manejables (latas de aluminio, botes, llantas, chatarra de carros, cubetas abandonadas, potes, cazuelas, ollas, contenedores de plástico, muebles, juguetes, auto partes, etc.) (Rodhain and Rosen, 1997; Focks, 2003). Incrementándose, sin embargo, las posibilidades de encontrarlo en sitios atípicos o bien no tradicionales como charcos en pisos de cemento, alcantarillas, desagües, cloacas, pozos, tanques sépticos, y otros sitios subterráneos (Russell *et al.* 1997; Morrison *et al.* 2004). En muchos casos estos sitios atípicos produce grandes números de adultos de este mosquito lo que hace ocasiona que deben hacerse ajustes a los medios de control debido a que no siempre es fácil que sean tratados con larvicidas. Son estos sitios los que nos indican que *Ae. aegypti* no siempre prefiere agua limpia para ovipositar (Focks *et al.* 1993).

Además de la mayor preferencia por los recipientes artificiales, existe diferencia en la afinidad por cierto tipo de contenedores, y no todos tienen la misma capacidad de

carga poblacional. Hay contendores que pueden servir para la crianza de un número pequeño de individuos en lapsos cortos, otros que soportan pocos individuos pero mantienen una productividad continua a lo largo del año; otros que soportan densidades poblacionales por lapsos cortos y otros más durante todo el año.

Es extremadamente difícil eliminar la totalidad de posibles criaderos alrededor y dentro de una vivienda y más aun de un poblado o una ciudad completa, de tal manera que lo más práctico sería eliminar a aquellos más productivos, aprovechando el tiempo y esfuerzo del personal disponible que frecuentemente es insuficiente, sin embargo no hay regla para su catalogación que tenga una aplicación universal, además que la situación se complica ya que las condiciones ambientales, la flora y fauna asociadas no son las mismas en las distintas regiones del país (Ibáñez-Bernal and Gómez-Dantés, 1995).

4.1.1. Clasificación sistemática.

Este mosquito pertenece a la clase: **Insecta**, subclase: **Pterigota**, infraclase: **Neoptera**, orden: **Diptera**, suborden: **Nematocera**, infraorden: **Culicomorfa**, familia: **Culicidae**, subfamilia: **Culicinae**, tribu: **Culicini**, género: *Aedes* Meigen, 1818, especie: *aegypti* (Linnaeus, 1762) (ITIS, 2005; NCBI, 2006) (figura 2).



Figura 2. *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762).

4.1.2. Ciclo de vida

Los mosquitos son homometábolos, es decir su ciclo de vida comprende cuatro etapas: **huevo, larva, pupa y adulto.**

4.1.2.1. Huevo

Los huevos son de aproximadamente 1 mm de largo y de color pálido, tornándose a un intenso color negro en corto tiempo. Son ovalados-oblongos, pero bajo el microscopio tienen la forma de un cigarro (figura 3a). Los huevos fertilizados son depositados en forma individual en las paredes de los contenedores que sirven como sitios de oviposición, los embriones se desarrollan de 2 a 5 días. Son capaces, los huevos, de aguantar períodos de desecación por semanas o meses, e incluso mucho más. Eventualmente cuando ocurren las inundaciones (una o varias veces) los huevos eclosionan y es la baja de oxígeno en el agua el estímulo para que esto suceda, éste comienza a reducirse debido a diversos factores como: la caída violenta de las gotas de lluvia y el movimiento que produce, o bien al paso de las horas, la presencia de microorganismos es también activada y éstos inician sus procesos de alimentación, respiración, etc. (Clements, 1992). La habilidad para soportar períodos prolongados de desecación les permite viajar en contenedores grandes distancias lo que provoca infestaciones cuando éstos se llenan de agua dificultando las operaciones de control (Focks *et al.* 1993a). Las hembras prefieren sitios de oviposición de colores oscuros, rugosos y que puedan absorber agua, prefiriendo aquellos criaderos con materia orgánica, tierra seca, hojas caídas y hierba, entre otros. Un alto porcentaje de mosquitos es encontrado usualmente en llantas de vulcanizadoras (figura 3b) y floreros de cementerios (figura 3c) (Weekly Epidemiological Report Sri Lanka, 2002).



Figura 3. a. Huevo de *Ae. aegypti*; b. llantas en vulcanizadora; c. floreros.

La cantidad de huevos que una hembra puede poner en una sola oviposición es afectado por diferentes factores como: tamaño de su cuerpo, magnitud del volumen de sangre ingerida, calidad proteica de la sangre que ingirió, edad, etc. En general se acepta un rango mínimo de 20 y un máximo de 120 huevos por ovipostura. El volumen de una comida de sangre promedio va de 1.5 a 6 microlitros. Una hembra mosquito viviendo en condiciones adversas de campo puede tener hasta 3 oviposiciones cada 3-5 días (Clements, 1992).

El desarrollo de larva a adulto depende en gran medida de la temperatura y de los recursos nutricionales existentes en el ambiente acuático larval (Focks *et al.* 1993b).

4.1.2.2. Larva

Las larvas de *Ae. aegypti* son fácilmente reconocibles ya que el sifón que poseen es el de menor tamaño de todos los culícidos (figura 4a). Éstas se mantienen de forma vertical con respecto a la superficie del agua, alimentándose con partículas de materia, protozoarios de vida libre y microalgas que se encuentran en el fondo de los contenedores así como en el intermedio de la columna de agua (figura 4c), usualmente los criaderos están localizados cerca de las casas, con agua relativamente limpia; éstos pueden ser cisternas y jarrones de cerámica (figura 4b) o cemento, inodoros que ya no son utilizados, así como contenedores de plástico, floreros, trampas para hormigas, es decir cualquier objeto que pueda contener 1 cm de agua, incluyendo tapas de refrescos desechables. Este período comprende 4 etapas evolutivas denominadas primero, segundo, tercero y cuarto; afectándoles los factores de temperatura, la habilidad de encontrar alimento y la densidad de individuos presentes en los receptáculos. El tiempo aproximado para pasar de una etapa a otra es de aproximadamente 48 horas. Las densidades poblacionales son reguladas primeramente por competencia intrínseca por el alimento (Southwood *et al.* 1972; McDonald, 1977; Focks *et al.* 1978; Gilpin and McClelland, 1979; Dye, 1984). La mortalidad larval puede ser alta bajo condiciones naturales, mientras que la mortalidad de las pupas, estadio en el cual no se alimenta, es típicamente baja. Cuando los recursos de alimento son limitados o las temperaturas son bajas, el desarrollo puede ser lento o detenerse hasta que las condiciones vuelvan a ser favorables de nuevo.

Dentro de un mismo criadero, las larvas varían en instar, número, tamaño y en ocasiones hasta en origen maternal. La cantidad y calidad de los nutrientes es diferente entre cada criadero, esto afecta directamente en el tamaño de los individuos.

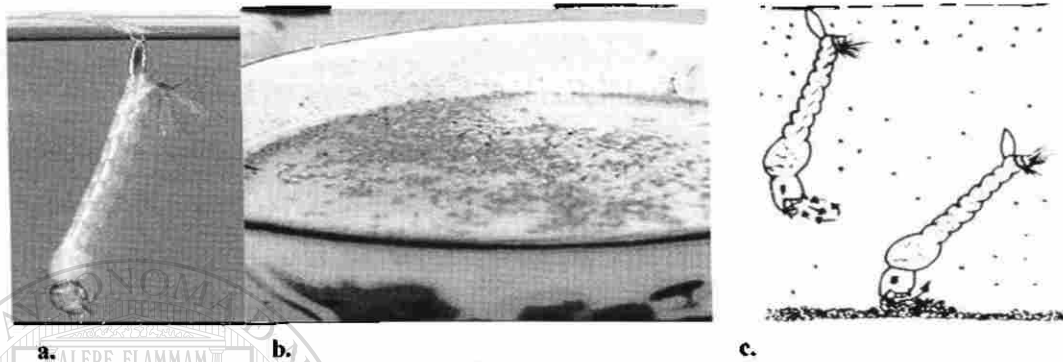


Figura 4. a. Larva de *Ae. aegypti*; b. tazón de cerámica con larvas; c. larvas alimentándose a diferentes alturas de la columna de agua.

4.1.2.3. Pupa

La etapa pupal es la fase durante la cual tiene lugar la metamorfosis para convertirse finalmente en adulto, puede durar de 1 a 4 días dependiendo de la especie y la temperatura (figura 5a). La pupa flota cerca de la superficie tomando oxígeno a través de dos tubos denominados “trompetas” (figura 5b). Cuando el desarrollo se ha completado el adulto emerge lentamente y trabaja cuidadosamente su salida de exuvia pupal. Después de emerger flotará en la superficie del agua y se reclina mientras su cuerpo y alas endurecen. En esta etapa el individuo no se alimenta (Patrick, 1983).

La presencia de pupas tiene un significado importante en el estudio de los criaderos de este mosquito, ya que por un lado representa que los individuos fueron capaces de sobrevivir desde huevo hasta esta etapa, teniendo en cuenta que la mortalidad diaria estimada es de 5% aproximadamente; y que el criadero es de alta calidad nutricional y fisicoquímica (Fernández, 1999).

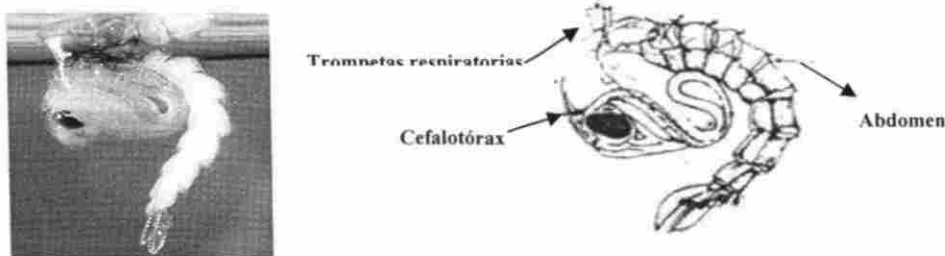


Figura 5. a. Pupa de *Ae. aegypti*; b. pupa de mosquito donde se señalan partes del cuerpo.

4.1.2.4. Adultos

Usualmente la emergencia del mosquito adulto de la cubierta pupal es durante el fotoperíodo, ya sea temprano en la mañana o crepuscular. El mosquito emerge en cuestión de minutos por el cefalotórax y se queda reposando parado sobre la película del agua (Clements, 1992).

La proporción de sexos es de aproximadamente 1:1, es decir una hembra por cada macho, pero puede haber variaciones de 0.6:0.4, siendo mayor la población de machos (Christophers, 1960).

La cercana asociación de *Ae. aegypti* con los humanos es central para la transmisión eficiente de cualquier arbovirosis. Altamente antropofílicas y antropofágicas; (>95%), las hembras (figura 6b) descansan y se aparean dentro de las casas donde frecuentemente se alimentan (múltiples veces durante un ciclo gonotrófico) preferentemente de humanos (Scott *et al.* 1993, 2000); los machos (figura 6c) se alimentan de néctares de plantas que se encuentran a su alrededor y frecuentemente están cercanos a las fuentes de alimentación de las hembras para realizar el apareamiento.

Los mosquitos de la especie *Ae. aegypti* son pequeños comparados con otros, usualmente miden de 3 a 4 milímetros. Son totalmente negros excepto por las manchas blancas en el cuerpo y las regiones de la cabeza, así como anillos blancos en las patas, las escamas de la región dorsal del tórax (mesonoto) dan la apariencia de una lira (figura 6a). Las hembras presentan antenas con pelos cortos y escasos, los palpos son de un tercio o menos de longitud que la proboscis; en cambio, en los machos las antenas son plumosas con pelos largos y abundantes y los palpos son del tamaño de la proboscis. Una vez que han emergido se alimentan por primera vez entre las 20 y 72 horas posteriores a este evento. La sobrevivencia de los mosquitos depende de su capacidad para alimentarse, reproducirse, protegerse y dispersarse. (CENAVE, 2006; Mortimer, 1995; Russell, 1996).

El macho debe esperar hasta 24 horas para que su aparato genital rote 180° y esté listo para poder ganchar a la hembra por la punta de su abdomen durante el apareamiento. Durante el cortejo, las hembras pueden hacer enjambres de pocos individuos, el macho reconoce este ruido producido por la frecuencia del movimiento de las alas, vuela hacia el enjambre y en el aire, gancha con sus genitales a la hembra, ambos caen luego al suelo y en cuestión de segundos, la insemina vaciando sus testículos para llenar la espermoteca

(Christophers, 1960). La hembra queda fecundada de por vida y cada vez que oviposite los huevos saldrán fecundados antes de salir por el espermatozoides del mismo padre. Después de inseminar a la hembra, el macho le coloca una sustancia conocida como matrona y producida por sus glándulas accesorias, la cual hará que la hembra no sea receptiva a otras cópulas posteriores (Beaty and Marquardt 1996).

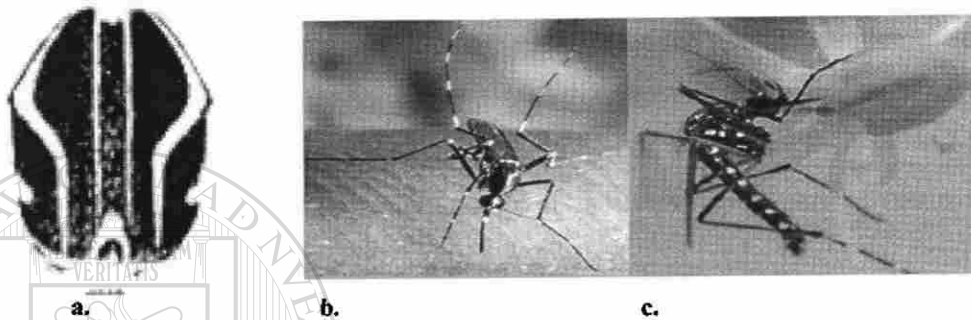


Figura 6. a. Escamas en forma de lira en el mesonoto de *Ae. aegypti*; b. hembra adulta de *Ae. aegypti*; c. macho adulto de *Ae. aegypti*.

El intervalo entre la ingesta de sangre y la ovipostura es de tres días en condiciones óptimas de localización de huésped y temperatura, en el caso de las hembras de la especie *Ae. aegypti*, éstas se dispersan de manera muy limitada para buscar compañeros, alimento o sitios de oviposición, raramente más de 100 m (WHO, 1997; WHO, 1999; Edman *et al.* 1998; Harrington *et al.* 2001, 2005), sin embargo permanece toda su vida en su lugar de nacimiento siempre y cuando disponga de huéspedes, lugares de reposo y ovipostura.

La dispersión en busca de hospederos es desde el punto de vista epidemiológico muy importante ya que es por medio de este mecanismo que la hembra adquiere y disemina patógenos. El comportamiento de oviposición de las hembras están separadas en dos distintas categorías: preoviposición y oviposición. En la primera categoría es donde las hembras escogen el lugar donde depositaran los huevos, el cual escogerá por una combinación visual y de elementos químicos. Las hembras “testan” el agua, que deberá contener ciertos elementos derivados de la presencia de huevos y larvas y escogerán aquellos lugares donde sus huevos coexistan con otros. La presencia de larvas saludables está asociada con químicos que hacen atractivos estos lugares como sitios de

oviposición, sin embargo la presencia de larvas hambrientas o infectadas, son un claro indicio para la hembra que no son sitios ideales para la oviposición (Reeves, 2004). La viabilidad de los sitios de oviposición puede influir en el comportamiento de postura de los huevos y puede causar la retención de huevos (Corbet and Chadee, 1993; Chadee, 1997). Cuando los sitios de oviposición son raros, la retención de los huevos puede incrementarse y las hembras tienden a poner sus huevos en un solo lugar en contraste cuando los sitios son accesibles, las hembras exhiben un comportamiento denominado “brinco de oviposición”, de tal manera que distribuye sus huevos en múltiples sitios (Corbet and Chadee, 1993; Chadee, 1997; Colton *et al.* 2003).

Las estaciones del año muy secas o frías no son aptas para el desarrollo de *Ae. aegypti*. En esas estaciones, el control natural ocurre, reduciendo la densidad de la población y bajo su influencia el ciclo de vida de los huevos (García-Silva *et al.* 2003). Sin embargo, este mosquito se encontrara en cualquier lugar que sus requerimientos ecológicos, sin importar las posibles barreras físicas (montañas, océanos, desiertos, etc.) o biológicas (comunidades vegetales y animales inalteradas que separen un asentamiento humano de otro).

La fecundidad de las hembras de esta especie puede depender del tamaño corporal, la temperatura ambiental, la viabilidad de la obtención de sangre y los sitios de oviposición (Focks *et al.* 1993).

Los sitios de descanso preferidos por los adultos de ésta especie son lugares oscuros y resguardados de las casas, especialmente roperos, baños y debajo de los muebles.

La vida promedio de las hembras esta estimado en 8 a 15 días y de 3 a 6 días los machos (Rodhain and Rosen, 1997).

4.2.2. Biorritmo de picadura

Este mosquito es primariamente un mosquito picador de día, usualmente tiene picos de actividad, uno a media mañana y otro en la tarde (Rodhain and Rosen, 1997), pero debido a los cambios de patrones en el comportamiento humano *Ae. aegypti* puede picar incluso de noche (Chadee and Martínez, 2000).

El rango de picadura determina la dinámica y epidemiología de los parásitos que están relacionados con vectores hematófagos para su transmisión. Muchos parásitos aparentemente incrementan el rango de picadura de sus vectores, generalmente impidiendo la habilidad de éste para obtener en una sola comida la sangre necesaria, por lo que se induce al vector a varias ingestaciones de sangre para llenarse a repleción aumentando con esto las probabilidades de ingestión y transmisión del patógeno (Macdonald, 1957).

4.2.3. Ciclo gonotrófico

Se denomina ciclo gonotrófico al período de tiempo que va desde que el mosquito se alimenta de sangre hasta que oviposita y se cierra en el punto que vuelva a tomar la siguiente alimentación sanguínea (WHO, 1975).

Los mosquitos hembra requieren de múltiples tomas de sangre en cada ciclo gonotrófico. Éstas prefieren sangre humana y muy raramente se alimenta solamente de azúcar; los cuerpos de estas hembras son de diferente medida y exhiben frecuencias variables de alimentación. Las hembras de menor tamaño con frecuencia necesitan de mayor número de ingestas de sangre. Este ajuste está compensado por remanentes previtelogénicos en la etapa I-IIb de Christofer, por ahí ellos requieren subsecuentes alimentaciones de sangre para comenzar vitelogenicamente la etapa II y producir huevos maduros (Reyes-Villanueva, 2004).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4.2.4. Métodos para estimar la densidad de vectores y su importancia para el control

La dificultad práctica de estimar la densidad poblacional de los vectores del dengue con base en el estudio de los adultos, radica principalmente en su observación y recolección en campo y no necesariamente en los procedimientos de gabinete. Los métodos generales de estudio entomológico empleados son: vigilancia larvaria directa, larvitrapas, ovitrapas, captura de adultos mediante cebo humano, captura de adultos en sitios de reposo, bioensayos con insecticidas en larvas y adultos. La vigilancia larvaria directa es útil para conocer el estado de infestación, para monitorear los programas de control, para la vigilancia de áreas de riesgos de reinfestación, para verificar la posible erradicación, así como evaluar los métodos de control. Las larvitrapas y las ovitrapas

se emplean con fin de establecer el grado de infestación o densidad poblacional pero su efectividad es limitada ya que los huevos o larvas presentes en ellas pueden pertenecer a un número variable de hembras, ya que estas no necesariamente tienen la misma capacidad de producción de huevos; por otro lado su efectividad varía dependiendo del número y calidad de los cuerpos de agua existentes en el lugar que compiten con las trampas. El cebo humano llega a emplearse para verificar la posible erradicación y evaluar los métodos de control, mientras que la captura en sitios de reposo sólo es útil para evaluar las estrategias de control (Anónimo, 1992).

4.2. Enfermedades transmitidas por *Ae. aegypti*

4.2.1. Dengue y fiebre hemorrágica de dengue

El dengue y sus formas potencialmente fatales: el dengue hemorrágico y el síndrome de choque del dengue, es una infección viral transmitida por mosquitos que en años recientes ha resurgido como la más importante enfermedad transmitida por artrópodos convirtiéndose de esa manera en un grave problema de salud pública. Globalmente 2.5 billones de personas viven en las más de 100 naciones de África, América, el Mediterráneo, Sudeste asiático y el Pacífico (figura 7) con presencia amenazante de esta enfermedad debido a que ha tenido éxito tanto la dispersión geográfica del virus como la del vector (WHO, 2002).

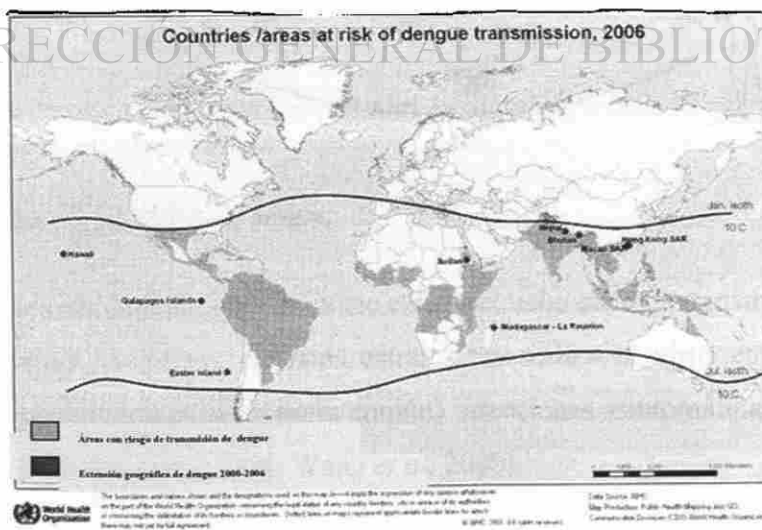


Figura 7. Distribución mundial del virus de dengue en 2006.

Es un arbovirus que se encuentra dentro de la familia Flaviviridae, misma que agrupa virus ARN de cadena simple en sentido positivo que se multiplican en células de vertebrados y de insectos vectores. Esta familia está representada por tres géneros: flavivirus (*flavus*, amarillo), pestivirus (*pestis*, peste, plaga) y virus hepatitis C (hepato, hígado; también conocidos como hepatacivirus) (Rice, 1996). El género Flavivirus reúne en su mayoría (55%) virus asociados a enfermedades humanas y algunos patógenos de animales domésticos o de interés económico. Además consta de más de 70 virus clasificados en 10 grupos (o especies), entre ellos: virus dengue, virus encefalitis japonesa, virus TBE (del inglés *Tick-Borne Encephalitis*), virus fiebre amarilla, virus Modoc, virus MBE (del inglés *Mosquito-Borne Encephalitis*), virus Ntaya, virus Río Bravo, virus Uganda S y virus Tyuleniy.

Esta enfermedad puede ser catalogada como metantropoñótica, donde sólo quedan involucrados el hombre (como virtual huésped único) y el mosquito transmisor (figura 8).

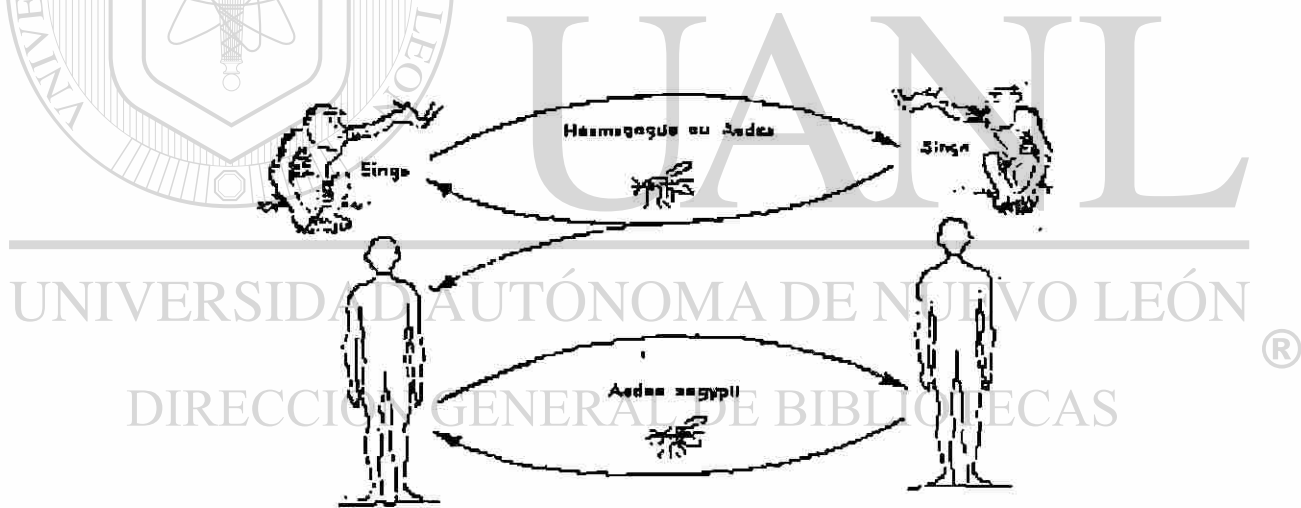


Figura 8. Ciclo de transmisión de dengue.

Esta enfermedad también existe en un pequeño ciclo de transmisión selvática en la que mosquitos moradores de estos estratos transmiten el virus entre los primates no humanos, que presentan (de manera común) infecciones asintomáticas (Peiris *et al.* 1993; Rodhain, 1991; Rudnick, 1984; Wang *et al.* 2000).

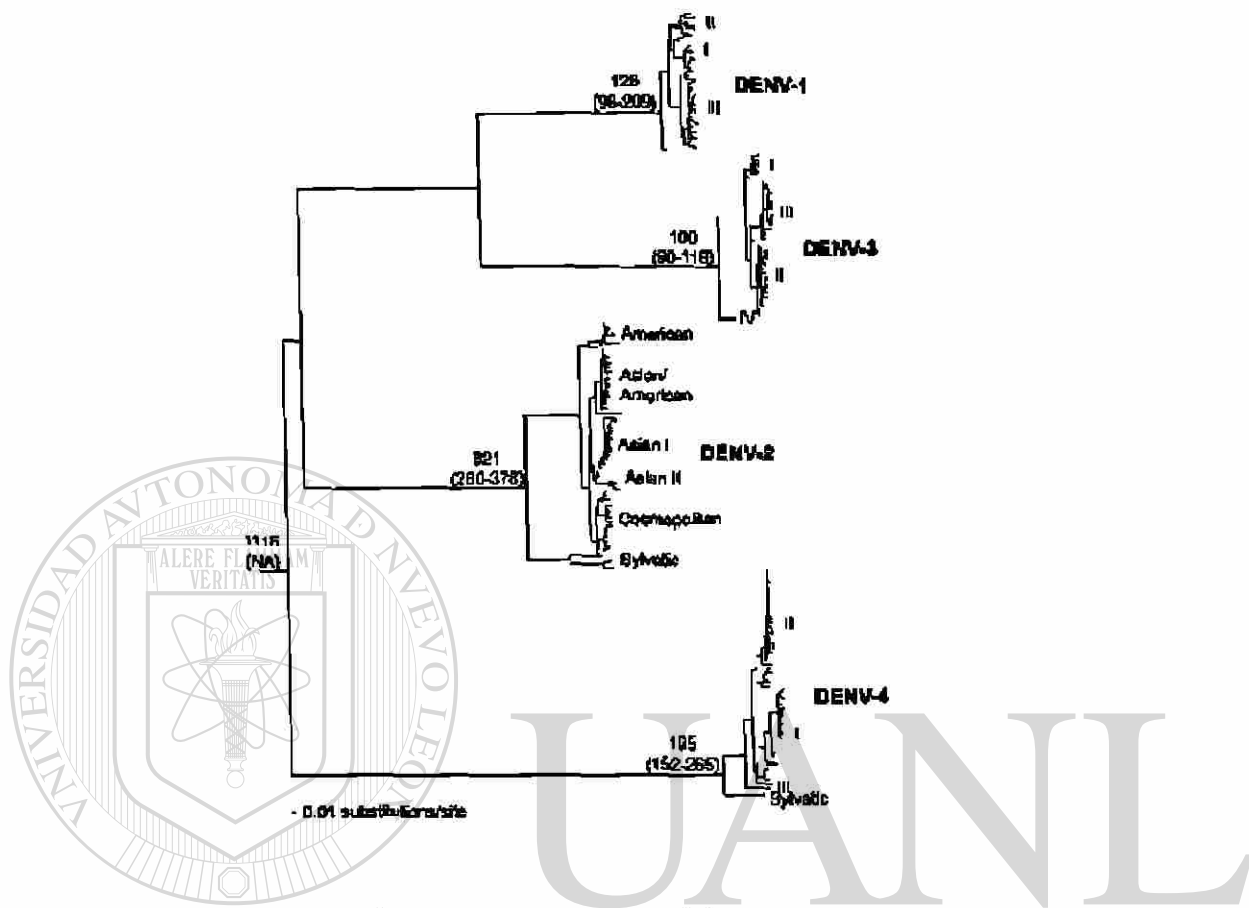


Figura 9. Historia filogenético del virus dengue. El subtipo se muestra cerca del grupo relevante y los estimados de edad de los más recientes antecesores comunes se muestran por las llaves (con intervalos en los paréntesis).

Tanto el dengue como sus formas fatales son causadas por uno de los cuatro, altamente relacionados, pero antígenicamente distintos, serotipos del virus denominados: DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4; además pueden presentar variantes genéticas (genéticas y topotipos) dentro de un mismo serotipo relacionadas con la virulencia y la procedencia geográfica de la cepa (Monath and Heiz, 1996; Rico-Hesse, 1990), que puede divergir en un ~30% a través de su poliproteína, por lo que se considera que hay dentro de los serotipos variaciones denominadas “subtipos” o “genotipos” (figura 9). Cada uno de los serotipos confiere inmunidad *homotípica* permanente y *heterotípica* por unas semanas (CENAVE 2005). Posee un genoma de aproximadamente 11 Kb que es traducido como una solo poliproteína y luego se divide en 10 componentes proteínicos.

4.2.1.1. Historia de la enfermedad del dengue

Las primeras epidemias de esta enfermedad reportadas fueron entre 1779 y 1780 en Asia, África y América del Norte, sin embargo en las Américas desde 1635 se sospechaba de brotes epidémicos en los archipiélagos de Martinica y Guadalupe. La simultaneidad con la cual ocurrieron los brotes en tres continentes indica que tanto el virus como el vector se han estado distribuyendo en los trópicos ampliamente por más de 200 años. En 1800 se reporta la primera epidemia americana en Perú con más de 50 000 casos; pero entre 1827 y 1828 ocurre la primera gran Pandemia en este continente que comienza en las Islas Vírgenes y se mueve al oeste a Cuba, Jamaica, Venezuela y ciudades portuarias de los Estados Unidos como lo son Nueva Orleáns y Pensacola, finalmente llega a México específicamente a Veracruz y desaparece en 1828. En el sudeste asiático después de la Segunda Guerra Mundial comienza otra pandemia que se esparce a todo el globo desde este punto, donde el tipo hemorrágico aparece por primera vez en los 50s, pero en 1975 comienzan a ser frecuentes los casos de hospitalización y la muerte entre niños en muchos países de esta región (CDC, 2005).

Las condiciones ambientales ejercen su influencia de diferente forma, al encontrar una relación inversa con la altitud y una relación directa con la temperatura media anual y la precipitación pluvial. Es una enfermedad propia de las zonas urbanas, aunque también llega a presentarse en las áreas rurales. Persiste en donde existe la carencia de agua potable, drenaje y recolección de basura, pero igualmente puede transmitirse en las zonas residenciales. El padecimiento posee cierta estacionalidad y la transmisión se incrementa después de la época de lluvias. El riesgo de transmisión de dengue está determinado por las características de la población, del agente y el medio; éste último es particularmente importante ya que es una enfermedad transmitida por vector. Entre las características del huésped resalta la susceptibilidad universal a la infección. Las mujeres parecen estar más expuestas a las picaduras de *Ae. aegypti* en el peridomicilio y suelen tener las mayores tasas de ataque. La infección aumenta con la edad y el grupo en edad productiva es el más afectado. La inmunidad en el individuo es permanente para cada serotipo y paradójicamente haber padecido infecciones previas aumenta considerablemente la probabilidad de desarrollar FDH. No existe hasta el momento vacuna o tratamiento

preventivo contra la enfermedad, así que el único camino para evitar epidemias es mantener bajas las poblaciones del vector (WHO, 1999).

4.2.1.2. Incidencia de dengue y fiebre hemorrágica de dengue a nivel mundial en los últimos años.

El rango de esta enfermedad se ha extendido rápidamente en los últimos años, hacia los países asiáticos incluyendo el subcontinente Indio, el Pacífico Sur, el Caribe, Sur y Central América, el noreste de Australia y África (figuras 10 y 11).

La epidemiología del dengue ha experimentado en los últimos 25 años fuertes brotes cíclicos luego de periodos de cierta moderación que se repiten de entre tres o cinco años cada uno. Los datos resultantes del ejercicio 2006, en combinación con las noticias sobre los actuales brotes y la presencia del fenómeno del Niño este año, son indicativos de que el 2007 será uno de esos años difíciles y complejos para responder a este desafío; y es esta misma tendencia los brotes cíclicos hace que sean cada vez más intensos, es por lo que es necesario que la respuesta sea eficaz, los esfuerzos y la coordinación de acciones vayan más allá del sector salud, ya que esta problemática rebasa en realidad las fronteras del sector salud y hace necesaria la participación activa de otros sectores y actores extra sectoriales y de la comunidad (OPS, 2007).



Figura 10. Distribución del virus de dengue en el Hemisferio Americano.

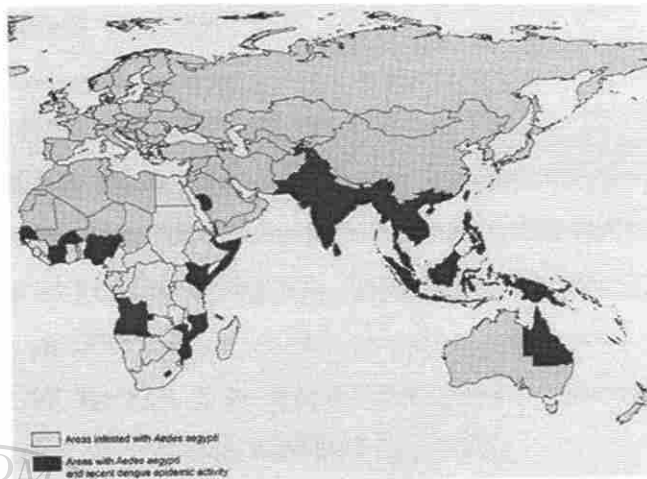


Figura 11. Distribución del virus dengue en África, Asia, Europa y Oceanía.

La epidemia de dengue en Paraguay que fue primero reportada a mediados de enero del 2007 todavía está presente. Otras ciudades en el Sur y Centroamérica, como México y Nicaragua han reportado un incremento en los casos de dengue este año. En Perú, fuentes oficiales confirmaron la muerte de dos personas en los primeros meses del año así como reportaron 398 casos. Mientras que en Brasil datos preliminares muestran 53 146 casos registrados en contraste con 300 000 del año pasado. (msnbc, 2007a).

En la pasada década casos de dengue habían sido identificados en Texas cada 1 ó 5 años. Los casos más recientes en el 2005, incluyen un primer caso localizado de la dengue hemorrágica en territorio estadounidense. Después de una ausencia de 56 años, una limitada epidemia ocurrió en Hawai en el 2001, asociada con importantes casos que arribaron del Pacífico Sur (Lacayo *et al.* 2005; Effler *et al.* 2005).

4.2.1.3. Incidencia de dengue y fiebre hemorrágica del dengue en México

En México se han aislado los cuatro serotipos de dengue en varios estados de la República Mexicana, siendo los habitantes de Baja California, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Tlaxcala y el Distrito Federal, quienes tienen menor riesgo de contraer la enfermedad, en contraste con quienes habitan los estados de Sonora, Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa, Veracruz, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo.

La Secretaría de Salud desde 1994 a la fecha realiza el seguimiento de los serotipos en el territorio mexicano, debido a que si bien el serotipo 1 no se había asociado a brotes desde 1994, en el año 2002 reaparece en Yucatán; en contraste el serotipo 2 se encontraba presente desde 1999 en Chiapas, apareciendo en el 2000 en Veracruz y Oaxaca, para nuevamente estar presente en Guerrero y Yucatán en el 2001, en el 2002 lo encontramos en el Pacífico Occidental, Tamaulipas, Hidalgo y Coahuila; el serotipo 3 casi desaparece en 1999, pero en el 2002 reaparece brotes asociados en diversos estados; la circulación del serotipo 4 se detecto por primera vez en Oaxaca en 1983 y su distribución es muy semejante al serotipo 1 (SS, 2002).

En relación al mortal dengue hemorrágico, este se ha incrementado dramáticamente en un 600 % desde el 2001 en nuestro país; los expertos predicen una oleada de casos debido en gran parte al cambio climático, la migración y la falla en los esfuerzos por erradicar el mosquito en el territorio (msnbc, 2007b).

4.2.1.4. Estatus de vacuna

Seis vacunas se encuentran en varios estados de desarrollo, pero la licencia para ser utilizada no es inminente para ninguna de ellas hasta el momento (Kroeger *et al.* 2004; Deen, 2004).

4.2.1.5. Mosquito tigre asiático *Aedes albopictus*

El vector secundario de dengue es el mosquito tigre asiático *Aedes albopictus*, el cual aparece en el Nuevo Mundo en 1985 (CDC, 1980). Fue implicado en la transmisión de virus de dengue en las Filipinas en 1926 (Siler *et al.* 1926) y luego en otras partes de Asia, donde se cría en contenedores artificiales y en huecos de árboles, en áreas urbanas, suburbanas, rurales y silvestres alejadas de asentamientos humanos (Monath, 1986). Transmisor horizontal y vertical (Gubler and Rosen, 1976; Rosen *et al.* 1983) y de una gran susceptibilidad como el vector tradicional *Ae. aegypti* para la infección oral con los 4 serotipos de dengue ya fueron demostrados experimentalmente en laboratorio (Rudnick and Chan, 1965). Sin embargo, el rol de este mosquito en la transmisión del dengue en las poblaciones americanas (la de Norteamérica y la de Brasil) no se ha relacionado en ningún brote de dengue o de alguna otra enfermedad. Estudios efectuados en EUA

indican que estas poblaciones utilizan primariamente contenedores artificiales, con preferencia a ocupar llantas usadas y floreros de cementerios. Un fenómeno interesante es el desplazamiento competitivo ejercido sobre otras especies en los contenedores ocupados por *Ae. aegypti*, lo que con el transcurso del tiempo podría implicar un cambio interesante en la epidemiología del dengue (O'Mera *et al.* 1993).

4.3.1. Fiebre amarilla

El virus de la fiebre amarilla es miembro del género *Flavivirus*, de la familia Flaviridae (Tomori 2004). Es un solo serotipo pero hay diferencias antigénicas entre las cepas americanas y africanas. Están presentes cuatro genotipos africanos (Oeste, Central este, Nuevo este, Angoleño) y un genotipo sudamericano circulando en diferentes regiones geográficas.

La etiología de la fiebre amarilla ha sido conocida desde 1901 y el conocimiento para controlar el vector fue acreditado con la construcción exitosa del canal de Panamá. La vacuna para esta enfermedad fue desarrollada en 1937, convirtiéndose en el primer arbovirus con contar con una vacuna eficaz. Sin embargo, la enfermedad se presenta en grandes regiones tropicales de África y Sudamérica. Se estima que hay 200 000 casos, incluyendo 30 000 muertes alrededor del mundo, de los cuales el 90% ocurre en África (figura 12). En América la mayoría de los casos son reportados en Perú, Bolivia y Brasil (Tomori, 2004).

El virus de la fiebre amarilla se mantiene en la naturaleza a través de un ciclo zoonótico entre primates no humanos y mosquitos de la floresta como *Haemagogus* spp. en las Américas y *Aedes* spp. en África. Los humanos están expuestos esporádicamente a ser infectados por los mosquitos cuando se entra al ciclo debido a sus ocupaciones o actividades recreacionales (Gubler, 2004; Tomori, 2004). El ciclo urbano es análogo al dengue, la transmisión ocurre en humano-mosquito-ciclo de transmisión humana. Se mantiene esta enfermedad a través de transmisión transovarial entre los mosquitos. En las Américas tanto los ciclos de la jungla como los urbanos son conocidos, sin embargo, epidemias no urbanas han sido reportadas desde 1948.

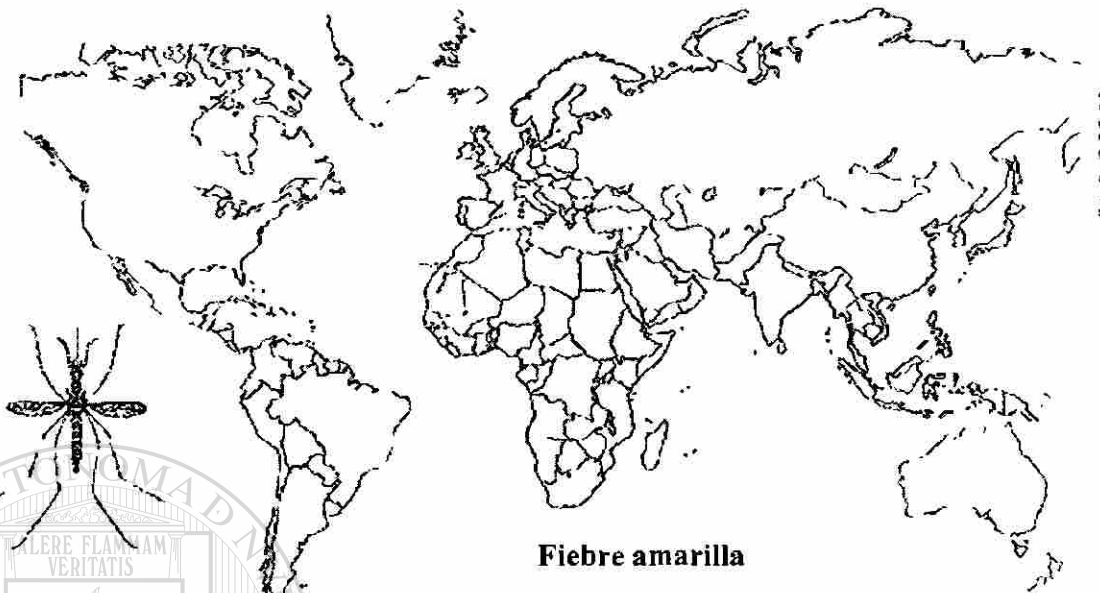


Figura 12. Distribución mundial del virus de la fiebre amarilla en 2005.

4.3.1.1. Estatus de vacuna

La vacuna actual es el virus vivo atenuado preparada en tejidos de embriones de pollo, la cual ha demostrado ser altamente eficaz.

4.3.2. Virus de Chinkungunya

El virus de Chinkungunya es un alfavirus que pertenece a la familia Togaviridae. Fue aislado por primera vez de la sangre de un paciente febril en Tanzania en 1953 y fue identificado repetidamente en el oeste, centro y sudeste de África, así como en sur y sureste de Asia. Tiene dos linajes: un linaje contiene todos aquellos aislados del oeste africano y el segundo contiene aquellas cepas del sureste y este de África, así como los que se presentan en Asia (Powers and Brault, en prensa).

El nombre del virus proviene del swahili, con una traducción de “aquello que se tuerce para arriba”, se mantiene en un ciclo selvático que involucra a primates y mosquitos silvestres, similar a como se presenta la fiebre amarilla. En Asia, el virus se mantiene a través de picaduras de *Ae. aegypti* a los humanos.

Durante los primeros meses del año 2006 se presentaron epidemias en la India, las islas Mauricio y Seychelles, mientras que viajeros infectados viajan a ciudades europeas con la posibilidad de causar una epidemia (figura 13) (CDC, 2006).

4.3.2.1. Estatus de vacuna

Las pruebas desarrolladas por la armada de los Estados Unidos han sido completadas. El 98% de los vacunados desarrollaron cuerpos de neutralización y el 85% estuvieron protegidos hasta un año después de la inmunización (Edelman, 2000)

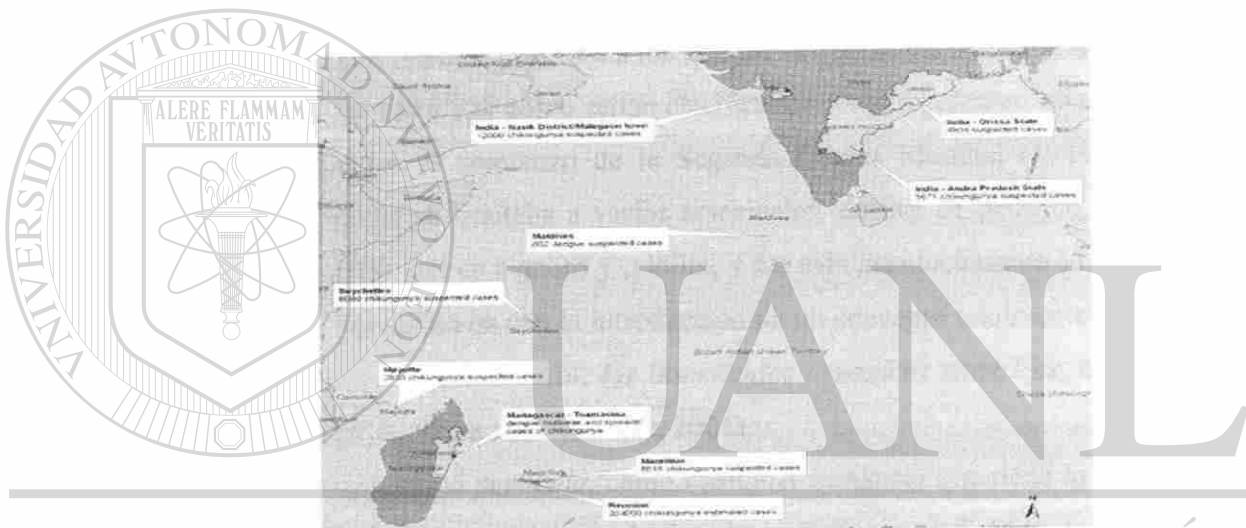


Figura 13. Distribución de casos del virus de Chikungunya en 2006.

4.4. Erradicación, un paradigma.

Históricamente, la erradicación ha sido un paradigma que ha prevalecido para vigilancia y control de *Ae. aegypti*, se consiguió erradicar al mosquito a comienzo de los 1900's en Cuba y Panamá, en los 50's y 60's se comenzó la eliminación en los demás países de Latinoamérica, sin embargo una gran variedad de razones, entre las que se incluyen cambios políticos y en las prioridades de salud, cambios demográficos humanos, incremento de viajes entre países, resistencia a insecticidas de los mosquitos, y la más razón más importante: la imposibilidad de sostener el financiamiento y los requerimientos de infraestructura para la erradicación, permitieron que en los años 70's se reinfestaran los sitios libres de estos mosquitos. En 1994 la Organización

Panamericana de Salud declaró la erradicación de *Ae. aegypti* como una meta imposible. La nueva meta para la prevención del dengue y los programas de control ha comenzado a ser: “la utilización costo-efectivo de recursos limitados para reducir las poblaciones del vector a niveles que no signifiquen un problema que amenace de manera significativa la salud de la población” (OPS, 1994).

5.1. Plaguicidas

Los primeros materiales utilizados para reducir las molestias causadas por los insectos fueron el barro y el polvo aplicados sobre la piel para repeler insectos que causaban irritación, una práctica parecida a los hábitos de elefantes, cerdos y búfalos. En estas circunstancias, el barro y el polvo serían clasificados como repelentes, una categoría de los insecticidas. Para el comienzo de la Segunda Guerra Mundial (1940) nuestra selección de insecticidas se limitaba a varios arsenicales, aceites de petróleo, nicotina, piretro, rotenona, azufre, gas de cianuro y criolita; y fue este acontecimiento lo que abrió la era de los productos químicos con la introducción de un concepto totalmente nuevo en los productos químicos para el control: los insecticidas orgánicos sintéticos, el primero de los cuales fue el DDT (Ware and Whitacre, 2004).

La EPA (1997) define *pesticida*, como cualquier sustancia que tiene la intención de prevenir, destruir, repeler o mitigar cualquier plaga. Bajo esta definición se engloban numerosos productos, como por ejemplo, los fungicidas (para combatir hongos), herbicidas (malas hierbas), nematicidas (gusanos), molusquicidas (caracoles y babosas), acaricidas (ácaros), insecticidas (insectos) y rodenticidas (roedores), como los más conocidos.

Un *insecticida* consiste en un ingrediente activo y uno o varios aditivos que se usan para mejorar las características de dilución, la eficacia de la aplicación o su acción insecticida. El tipo de formulación en la cual se presenta un producto comercial tiene influencia sobre el método de aplicación, su persistencia en el campo y obviamente su toxicidad. Los insecticidas que se encuentran hoy en el mercado, se dividen en cuatro grupos químicos: *organoclorados*, *organofosforados*, *carbamatos* y *piretroides*.

5.1.1. Organoclorados

Los organoclorados son insecticidas que contienen carbono (de ahí viene el nombre *órgano*), hidrógeno, y cloro. También se los conoce con otros nombres: *hidrocarburos clorados*, *orgánicos clorados*, *insecticidas clorados*, y *sintéticos clorados*. Ahora los organoclorados son principalmente de interés histórico ya que solo unos pocos sobreviven en el arsenal de hoy. Dentro de este grupo se incluía el DDT, el cual es probablemente el más conocido y notorio producto químico del siglo XX además que es el insecticida más útil jamás desarrollado hasta que en 1973 la Agencia para la Protección Ambiental de los EUA (EPA) le canceló en todos los usos y todos los países del Primer Mundo siguieron su ejemplo, sin embargo aun es usado con efectividad para el control de malaria en varios países del Tercer Mundo (Pesticide Action Network North America, 2004).

5.1.2. Organofosfatos

Este grupo incluye a todos los insecticidas que contienen fósforo. Todos son derivados de uno de los ácidos del fósforo y como clase general son los más tóxicos de todos los plaguicidas para los vertebrados. Debido a su similitud con la estructura química de los OPs con la de los “gases nerviosos” sus modos de acción también son similares. Tienen dos propiedades características: generalmente son más tóxicos a los vertebrados que otras clases de insecticidas y la mayoría de ellos son químicamente inestables o no persistentes. Esta última característica fue la que los trajo al uso agrícola como sustitutos de los organoclorados que son mucho más persistentes. En este grupo se encuentra el malatión, paratión metílico, fentión y clorpirifos (Dyro, 2006).

5.1.3. Carbamatos

Los insecticidas que pertenecen a este grupo son derivados del ácido carbámico, su modo de acción consiste en la inhibición de la vital enzima *colinesterasa* (AChE). El primer insecticida carbamato que tuvo éxito fue el *Carbarilo* (*Sevin®*) en 1956 del cual se ha vendido a nivel mundial más que todos los demás carbamatos juntos ya que su toxicidad oral y termal para mamíferos es muy baja y tiene un espectro de acción

excepcionalmente amplio para el control de insectos (International Programme on Chemical Safety, 1986).

5.1.4. Piretroides

Los insecticidas piretroides son un gran grupo, con diversas clases de estructuras de compuestos usados para el control de un vasto número de plagas de artrópodos de importancia médica y agrícola. Aun cuando solamente han sido desarrollados como tales desde hace una década representan el 25% de las ventas globales de todos los insecticidas. En comparación a otras clases de insecticidas, los piretroides pueden rápidamente inmovilizar a insectos, un fenómeno conocido como “*derribo*”. No son tóxicos prácticamente para los mamíferos. Exhiben una habilidad muy interesante para matar a insectos a bajas dosis a temperaturas decrecientes un fenómeno conocido como *coeficiente negativo de temperatura* (Scout, 1988).

Estos insecticidas son análogos mas estables de los insecticidas naturales encontrados en los extractos de las flores de crisantemo (*Tanacetum [Chrysanthemum] cinerariaefolium*). La búsqueda para desarrollar piretroides sintéticos comenzó en los 40's para realzar su eficacia, facilidad de producción a gran escala y mejor estabilidad (Zalom *et al.* 2005).

Los piretroides han tenido una evolución que ha sido dividida convenientemente en cuatro generaciones:

○ La **primera** generación contiene solo un piretroide, la aletrina (Pynamin®), la cual apareció en 1949 para salud pública y uso urbano, especialmente contra mosquitos y moscas domesticas. Su síntesis es muy compleja, involucra 22 reacciones químicas para llegar al producto final. Esta generación es de baja toxicidad para el ser humano y otros mamíferos ya que se descompone rápidamente, sin embargo es irritante para las mucosas sobretudo para los pacientes asmáticos. Esta considerado de esta manera porque es un químico muy similar a los componentes de los extractos naturales del piretrum.

○ La **segunda** generación fue registrada en los 60's para el control de insectos urbanos. Resmetrina fue cerca de 20 veces mas efectiva que el piretrum para el control de moscas domesticas y tuvo mayor tiempo de residualidad, pero como la

aletrina fue fotolabil (es decir contiene moléculas que se descomponen rápidamente en la luz) y por lo tanto inadecuado para el uso al aire libre. Se incluyen también dentro de este grupo a la tetrametrina (Neo-Pynamin®) (1965), luego bioresmetrina (50 veces más efectiva que el piretro) (1967), luego Bioallethrin® (1969), y finalmente fonotrina (Sumithrin®) (1973).

○ La tercera generación incluye fenvalerato (Pydrin® [descontinuado], Tribute®, y Bellmark®), y permetrina (Ambush®, Astro®, Dragnet®, Flee®, Pounce®, Prelude®, Talcord® y Torpedo®) que aparecieron en 1972-73. Estos se convirtieron en los primeros piretroides agrícolas debido a su excepcional actividad insecticida (0.1 Kg. ia/ha) y a su fotoestabilidad. Estos virtualmente no son afectados por la luz ultravioleta del sol, duran de 4-7 días como residuos eficaces sobre el follaje del cultivo.

○ Los insecticidas piretroides pertenecientes a la cuarta y actual generación comenzaron a registrarse durante los últimos 20 años, su efectividad se encuentra en el rango de 0.01 a 0.05 Kg. ia/ha. Esta generación incluye bifentrina (Capture®, Talstar®), *lambda*-cihalotrina (Demand®, Karate®, Scimitar® y Warrior®), cipermetrina (Ammo®, Barricade®, Cymbush®, Cynoff® y Ripcord®), ciflutrina (Baythroid®, Countdown®, Cylense®, Laser® y Tempo®), deltametrina (Decis®) esfenvalerato (Asana®, Hallmark®), fenpropatrina (Danitol®), flucithrinato (Cybolt®, Payoff®), fluvalinato (Mavrik®, Spur®, descontinuado), praletrina (Eloc®), *tau*-fluvalinato (Mavrik®) teflutrina (Evict®, Fireban®, Force® y Raze®), tralometrina (Scout X-TRA®, Tralex®), y *zeta*-cipermetrina (Mustang® and Fury®). Todos ellos son fotoestables, es decir, que en presencia de luz solar no sufren fotólisis (divisiones). Y como tienen una volatilidad mínima ofrecen una efectividad residual extendida, hasta de 10 días en condiciones óptimas. Adiciones recientes a la cuarta generación de piretroides son acrinatrina (Rufast®), imiprotrina (Pralle®), registrada en 1998, y *gamma*-cihalotrim (Pytech®), que está en desarrollo (Ware and Whitacre, 2004).

Los piretroides se han convertido en la alternativa de los granjeros para sustituir a los OP's debido en muchos casos a que superaran a estos en el rango de los insectos a los que eliminan, la sincronización del tratamiento y la actividad residual. Quizás el único

grupo de artrópodos para los cuales no son efectivos son los insectos del suelo y los ácaros, así como por sus precio que es menos caro.

En adición a su eficacia y costo, los piretroides presentan un bajo riesgo para los trabajadores y aplicadores, así como también la toxicidad para anfibios, mamíferos y aves es relativamente baja comparada con los OP's, sin embargo, muchos invertebrados acuáticos y peces son altamente susceptibles (Smith and Stratton, 1986).

Pero también con el incremento del uso de este grupo de insecticidas, se agudizara en el futuro varios problemas; los insectos benéficos y los ácaros son importantes componentes del Manejo Integrado de Plagas (MIP) ya que ellos pueden reducir la necesidad de aplicación de químicos si se encuentran a suficientes densidades. Los piretroides han mostrado que afectan seriamente a estos cuando se encuentran presentes en los campos, además generalmente no son compatibles con los programas de control biológico, aunado a esto, están asociados a el aumento del número de plagas secundarias (Bentley *et al.* 1987).

5.1.4.1. Resistencia a piretroides

Los piretroides como el DDT son neurotóxicos. Producen lesiones similares en el motor de las terminaciones nerviosas en una gran variedad de especies de insectos y pueden actuar en los nervios periféricos así como en sistema nervioso central (otras clases de insecticidas generalmente actúan en los axones periféricos). Los que actúan principalmente en los nervios periféricos son conocidos como Tipo I. Mientras que los que actúan principalmente en el sistema nervioso central (principalmente piretroides con el grupo α -ciano) son conocidos como Tipo II. Sin embargo, hay sus excepciones a estas categorías. A nivel de molécula, los piretroides pueden interactuar con los canales de sodio y potasio, GABA mediante los canales de cloro y con ATPs. Sin embargo, su interacción con los canales de sodio parecen relacionarse con todos sus efectos tóxicos en los insectos. Los efectos de los piretroides en los canales de sodio de los insectos no están claros, pero el incremento en la permeabilidad de sodio esta correlacionado con las lesiones presentes. Ahora sospechamos que el "derribo" confiere un cambio fundamental en los canales de sodio del sistema nervioso de los insectos con este rasgo. Desde que el

super-*kdr* fue identificado, se sospecha que este rasgo puede ser expresado en varias magnitudes (Millar, 1988).

5.1.5. Plaguicidas en México.

El uso de plaguicidas en México ha sido tema de discusión de las dependencias sanitarias durante los últimos 20 a 30 años. En aquel entonces la tarea de conservar registros era casi *inexistente*, pero durante los últimos 15 años se ha tomado conciencia de esta necesidad de monitoreo y control de plaguicidas. Hace casi 20 años, se creó la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) para coordinar esfuerzos intersecretariales, incluyendo estrategias del sector privado, y para facilitar el cumplimiento con las leyes de salud, salubridad y protección ambiental en México. Pese a los esfuerzos por parte de la CICOPLAFEST para controlar el uso de plaguicidas, no existe hasta el presente ningún reglamento que obligue a los aplicadores a conservar registros o reportar su uso de plaguicidas. Por ejemplo, de acuerdo con el Reglamento de Uso y Control de Herbicidas para México, el requisito más común que se les exige a los aplicadores es que usen productos químicos autorizados por la dependencia, pero en todo caso es requisito que se genere un registro de la aplicación. A pesar de ello, la mayoría de las dependencias guardan registros únicamente si opinan que pueden resultar útiles por razones económicas o administrativas.

Lo que se necesita con mayor urgencia en este momento es poder generar registros que documenten cada vez que se han aplicado plaguicidas en el territorio mexicano (Barud, 2006). La mayoría de las zona agrícolas carecen de un sistema de control para llevar la cuenta de las aplicaciones de plaguicidas. Esto es sumamente importante ya que en México se usa el 60% de los 22 plaguicidas como perjudiciales para la salud y el medio ambiente. De ellos el 42% se fabrican en el país. De 90 plaguicidas que han sido cancelados o restringido en los Estados Unidos, 30 se usan en México (INEGI, 1992).

Existen estudios que demuestran que son nocivos para la salud humana; buena parte de estas víctimas de los plaguicidas en el país son indígenas, trabajando ya sea lo mismo en Sonora que en Nayarit o Chiapas, así mismo son víctimas de los programas

agropecuarios, que en vez de diversidad alientan el monocultivo y el uso de paquetes tecnológicos que los hacen dependientes de los grandes consorcios productores de semillas, fertilizantes y otros productos químicos (Restrepo, 2007).

En México el uso del DDT fue sustituido por piretroides después de haberse usado por casi medio siglo, dentro del Sector de Salud Pública para el combate del mosquito *Ae. aegypti*, la Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector, los criaderos se deben tratar con temefos, larvicida degradable de los más inocuos, aplicado en agua a la dosis de una parte por millón. Se cuenta con tres presentaciones: líquido al 50%, cápsulas al 5% y granos de arena al 1%. En el caso de las cápsulas al 5% se debe utilizar un gramo del producto por cada 50 litros; para temefos en granos de arena al 1% se aplica un gramo por cada 10 litros de agua. La presentación de temefos al 50% se destina para tratar carros-cisterna que suministran agua para uso doméstico durante las emergencias sanitarias-epidemiológicas, o en la dotación cotidiana de agua a los asentamientos humanos de riesgo con suministro irregular. La dosis es de 1 a 2 ml por cada 1,000 litros de agua. La aplicación de temefos se hace a recipientes positivos a larvas, evitando su aplicación de rutina en recipientes frecuentemente negativos. Se emplea como medida preventiva básica y se regirá por la periodicidad que indiquen los estudios entomológicos. Ante la presencia de situaciones emergentes como los desastres naturales y brotes, debe aplicarse simultáneamente con rociado espacial a VUR cumpliendo con: coberturas integrales, en periodos de ejecución cortos (menores a tres semanas) y con reducción de los índices de infestación a niveles óptimos.

Así mismo se recomienda la siembra de peces en piletas, toneles y otros recipientes para almacenar agua es una medida aceptada por la comunidad que logra el control de larvas de mosquitos. Otra medida es el empleo de tabletas de Bti (*Bacillus thuringensis*) 2300 UTI/mg a razón de 1 tableta por cada 50 litros de agua, con residualidad de 45 días, otra alternativa del mismo ingrediente activo, es la presentación WDG (gránulos dispersables en agua) con 3000 UTI/mg a razón de 1.2 g por cada 200 litros de agua lo que permitirá disminuir costos de tratamiento. Los mosquitos aedinos también se combaten mediante la aplicación de VUR.

Para el combate de los mosquitos adultos, se indica el uso de piretroides sintéticos como la permetrina, esbiol y butóxido de piperonilo a dosis de 10.9, 0.15 y 11.1 gramos de ingrediente activo por hectárea respectivamente, o como alternativa cyflutrin a dosis de 1 a 2 g/ha, así también bifentrina al 1.5% para aplicaciones U.L.V. en el control del paludismo para usar en exteriores a dosis de 150 ml de producto por hectárea, diluido en agua; y otros que por su elección demuestren resultados satisfactorios. El insecticida malatión en aplicación espacial queda temporalmente fuera de uso para el control de vectores, hasta contar con un larvicida que no pertenezca al grupo de los organofosforados.

Dado que el mosquito *Ae. aegypti* se caracteriza por ser eminentemente doméstico, se ha observado con un solo ciclo de nebulización de un día, con una aplicación temprana en la mañana y otra por la noche, es suficiente para eliminar a la mayoría de los mosquitos del área tratada. Este esquema reduce la infestación hasta por cuatro semanas cuando se garantiza la reducción simultánea de criaderos activos. Cuando la nebulización se usa como única medida, se aplica en ciclos de varios días consecutivos (el número de días lo determinará la productividad de los criaderos), con dos aplicaciones por día, una en la mañana y otra por la noche. En este caso se tendrá en cuenta que la reducción de densidades no se mantendrá por más de dos semanas.

Sin embargo, los estudios sugieren que una estrategia de manejo de insecticidas (mezclas, mosaicos, rotaciones) es necesaria para implementar y mantener a largo plazo la susceptibilidad los insecticidas que se están utilizando en estos momentos.

5.2. Resistencia a plaguicidas

5.2.1. Concepto de resistencia

Cuando se discute el termino **resistencia a plaguicidas**, generalmente se hace referencia a la **habilidad humana** para controlar una plaga, y no como la **habilidad del organismo** (insecto, planta, hongo, etc.) para defenderse a si mismo, cuando en la realidad la resistencia a los tóxicos es una forma de **autodefensa**. Ahora bien, la **exposición** a un plaguicida puede describirse como un **ambiente de estrés** y la **resistencia** como la **expresión de la respuesta natural del organismo al estrés**, ya que éstos van a

enfrentarse a lo largo de su vida tanto con estrés letal como no letal desarrollan efectivos mecanismos de defensa como respuesta a esta presión (Scout, 1995).

Antes de definir el concepto de resistencia, hay que comprender términos importantes como: **estrés que podemos definir como cualquier cambio en el ambiente que actúe para reducir el bienestar de un organismo**; puede ser de origen físico, biótico y/o tener su origen en componentes tóxico que actúan de manera crónica, por estaciones o bien ambas al mismo tiempo, afectando a nivel de comunidad, población o individual (Koehn and Bayne, 1989).

Resistencia puede ser definida como el desarrollo de la habilidad de una cepa de una población de organismos para tolerar dosis de un tóxico que podría ser letal para la mayoría de los individuos de una población de la misma especie (Anónimo, 1957), ésta definición es sumamente imprecisa, porque infiere que ésta característica puede desarrollarse en un individuo expuesto o no a la presión de un tóxico, siendo estos dos momentos y eventos diferentes. **Resistencia es la expresión fenotípica de un rasgo heredable, que puede expresarse en un pequeño grupo de individuos de una población antes de la exposición a un tóxico.** El desarrollo de un cambio medible en la susceptibilidad de una población es debido a una selección específica de los individuos preadaptados por varias generaciones o bien por exposición a cantidades de tóxicos que pueden ser subletales para los preadaptados pero no para otros individuos de la población. **Resistencia se refiere a un decrecimiento en la susceptibilidad, que es heredable y no necesita ser inducida anteriormente para que pueda expresarse,** sin embargo exponer a un organismo a una condición de estrés, puede resultar en un incremento en la expresión de los genes resistentes que pueden o no ser heredables (Scout, 1995).

5.2.2. Resistencia cruzada y resistencia múltiple

Cientos de especies de insectos han adquirido de manera sucesiva resistencia a los grupos de plaguicidas presentes en el mercado. Pudiéndose presentar **resistencia cruzada** en donde un insecto exhibe un espectro de resistencia a **dos o más clases de plaguicidas** porque **estos productos tienen el mismo o muy similar modo de acción.** Podemos definirla como el mecanismo por el cual un simple gen confiere resistencia a varios químicos del mismo diferente grupo (Brogdon, 2003). Las fosfotriesterasas

muestran resistencia a varios organofosfatos y el gen *kdr* confiere resistencia a DDT y piretroides (Hemingway and Ranson, 2000). **Resistencia múltiple**, es cuando un organismo es resistente a dos o más clases de plaguicidas porque coexisten dos o más diferentes mecanismos de resistencia que contrarrestan las acciones de los productos incrementando esta (Brogdon, 2003; Hemingway and Ranson, 2000).

5.2.3. Mecanismos de resistencia

Los tipos más comunes de resistencia en insectos pueden ser agrupados en cuatro categorías:

1. Comportamiento: cuando el insecto modifica su comportamiento para evitar el contacto con el plaguicida.

2. Penetración: cuando la composición del exoesqueleto del insecto es modificado para inhibir la penetración del insecticida.

3. Sitio blanco insensible: cuando el sitio de acción para el insecticida comienza a ser modificado para reducir el impacto de la forma activa del insecticida.

Este grupo se encuentra: *acetilcolinesterasa insensible, receptor GABA, canal de sodio y el receptor HJ.*

4. Metabólica: donde el metabolismo de los insectos comienza a modificarse para detoxificar el insecticida o bien no permite que el compuesto se convierta en su forma tóxica. Puede dividirse en tres principales sistemas de enzimas: *citocromo P450 monooxigenasas (P450s), esterasas no específicas y glutatión s-transferasas (GSTs)*. Los componentes de cada sistema de enzimas puede mutar para alterar la detoxificación del plaguicida, sin embargo solamente tipos específicos de mutaciones parecen estar asociados con los mecanismos de resistencia (Tabla 1).

Tabla 1. Mutaciones genéticas asociadas con enzimas y receptores que pueden dar como resultado diferentes tipos de resistencia.

Tipos de resistencia	Mutaciones genéticas asociadas a:		
	Amplificación de genes	Alteración de expresión	Cambio estructural
Metabólica			
Oxidasa P450	ND	C	ND
Esterasas	C	ND	C
GSTs	ND	C	?
Insensibilidad en el sitio de acción			
Acetilcolinesterasa	ND	ND	C
Receptor GABA	ND	ND	C
Canal de sodio	ND	?	?
Receptor H1	ND	?	?

ND: No detectado; C: Confirmado; ?: Implicado pero no confirmado

Los dos tipos de mecanismos que pueden causar altos niveles de resistencia se refieren generalmente al tipo metabólico y el sitio blanco insensible (Oppenoorth, 1984; Scout, 1995).

5.2.3.1. Mecanismos de resistencia metabólicos

Son tres los grupos de enzimas considerados como la base importante en la resistencia para los grupos de insecticidas organofosforados, organofosforados, carbamatos y piretroides.

El sitio blanco de los organofosforados (OPS y carbamatos es la acetilcolinesterasa en la sinapsis nerviosa y el sitio blanco para los organoclorados, como el DDT y los piretroides sintéticos son los canales de sodio (Miyazaki *et al.* 1996; Williamson *et al.* 1996).

5.2.3.2. Citocromo P450 monooxigenasas (P450)

Las P450 monooxigenasas son enzimas bien ubicadas, encontradas desde las bacterias hasta los mamíferos. Están envueltas en el metabolismo endógeno así como también en el metabolismo de xenobióticos. Por ejemplo, en los insectos estas actividades son esenciales para la síntesis y la degradación de hormonas de muda y hormonas juveniles así como también en el mecanismo de las feromonas. Las P450 son también

importantes para los mecanismos adaptativos de los insectos para sintetizar los químicos tóxicos emitidos por las plantas hospederas (Gould, 1984).

Catalizan una variedad de reacciones detoxificativas en los insectos, incluyendo la hidroxilación del DDT y la epoxidación de ciclodienos (Feyereisen *et al.* 1990).

La variedad de reacciones simultáneas por estas enzimas son muchas, por lo que varias enzimas P450 pueden estar presentes en un solo insecto y varios alelos de cada gen puede existir. No existe evidencia que sugiera que los genes P450 son amplificados o estructuralmente alterados para producir resistencia. Pero son numerosos los ejemplos de que su expresión puede ser alterada por diversas sustancias (Rose *et al.* 1991; Jeong *et al.* 1992; Waxman and Azaroff, 1992; Zinder *et al.* 1993).

Por definición, si la expresión de P450 es alterada para producir resistencia, tanto las cepas susceptibles como resistentes pueden tener cuantitativamente diferentes cantidades de estas enzimas. Están involucradas en el metabolismo de virtualmente todos los insecticidas (Wilkinson and Brattsten, 1972; Hodgson, 1985; Agosin, 1985).

A la fecha, se han asignado para seis CYP familias; cinco son específicas para insectos (CYP6, 9, 12, 18 y 28) y una CYP4 esta relacionada con secuencias de otros organismos (Feyereisen, 1999).

5.2.3.3. Esterasas no específicas

Los mecanismos de resistencia producidos por las esterazas han sido estudiados ampliamente en diferentes especies de mosquitos del genero *Culex* y el pulgón *Myzus persicae*. Resistencia de amplio espectro a OPs es conferida por incremento de esterazas que actúan ligándose rápidamente al insecticida y desdoblándolo lentamente (Kadous *et al.* 1983). La clasificación de esterazas se basa en su preferencia por α o β naftil acetato, su movilidad en gel de policrilamida y en la secuencia de nucleótido (Hemingway and Ranson, 2000)

Dos sitios comunes de esterazas, esta y est β , se encuentran involucradas solas o en combinación en este tipo de resistencia en el genero *Culex* (Vaughan *et al.* 1997). En *Cx. quinquefasciatus* el fenotipo común de esterazas elevadas involucra dos enzimas: est α 2¹ y est β 2¹ (Vaughan and Hemingway, 1995). Un pequeño número de especies del genero

Culex muestran elevadas est β 1 solas, elevadas est α 1 solas o co-elevadas est α 3 y est β 1 (De Silva *et al.* 1997; Hemingway and Karunaratne, 1998).

Algunas especies del genero *Anopheles* tienen un mecanismo de esterases no elevadas, más sin embargo, estas confieren resistencia específica a malatión a través del incremento en el rango de metabolismo (Hemingway 1983).

5.2.3.4. Glutación s-transferasas

Las enzimas GSTs son multifuncionales y detoxifican un gran rango de xenobióticos. Estas enzimas catalizan el ataque nucleofílico del glutatión reducido (GSH, por sus siglas en ingles) en los centros electrofílicos de compuestos lipofílicos (Hemingway and Ranson, 2000). Múltiples formas de estas enzimas han sido reportadas en mosquitos, mosca domestica y *Drosophila* (Clark *et al.* 1984; Toung *et al.* 1990).

Existen por lo menos tres familias de GSTs en insectos y todas juegan un papel importante en la resistencia a insecticidas. En la especie *Ae. Aegypti* por lo menos dos GSTs se encontraron en altas concentraciones en mosquitos resistentes al DDT (Grant and Matsumura, 1989).

5.2.3.5. Insensibilidad en el sitio de acción

El segundo mecanismo de resistencia más importante es la insensibilidad en el sitio de acción, que se refiere a una alteración de la (s) moléculas (s) que directamente interactúan con el plaguicida para reducir la toxicidad. Tanto acetilcolinesterasa como el receptor ácido gamma-butírico (GABA) son conocidos como blancos de insecticidas y alelos resistentes de cada uno pudieran ser encontrados. El canal de sodio y el receptor de la hormona juvenil (HJ) son supuestos blancos de insecticidas. Su directa interacción con insecticidas no ha sido confirmada, pero está claramente evidenciado que juegan un rol clave en los procesos de intoxicación.

Acetilcolinesterasa (AChE) es el sitio blanco de organofosforados y carbamatos. Estos plaguicidas lazan a AChE y previenen que la enzima detenga la acción del neurotransmisor acetilcolina. Múltiples formas de AChE que confieren varios grados de resistencia pueden ser encontradas en una gran variedad de artrópodos. En cada caso examinado hasta ahora, la afinidad de ATC con el plaguicida ha sido reducida. Ningún

gen amplificado o expresión alteración de un gen que codifique a AChE ha sido detectado. En su lugar se han encontrado puntos de mutaciones que cambian la estructura de la enzima (Hemingway *et al.* 1986).

Recientemente se identificaron 5 puntos de mutación en *Drosophila melanogaster* que están asociados con sensibilidad reducida. Individualmente, las mutaciones dan solamente niveles bajos de resistencia, pero cuando varios de ellos se combinan, grandes niveles de resistencia son el resultado. La hipótesis es que la sensibilidad disminuida por ATC es el resultado de una combinación de varias mutaciones, cada una de las cuales provee una resistencia pequeña en lugar de la aparición de una sola mutación que proporcione una fuerte resistencia.

Los receptores GABA son el primer sitio blanco de los insecticidas ciclodienos. En vertebrados, este grupo de receptores juntos forman un canal de iones cloruro. En los invertebrados está inferido que poseen el mismo canal de iones. Muchos casos de aparición de resistencia a ciclodienos son debidos a una disminución de la sensibilidad del receptor GABA subtipo A, una parte integral del canal de iones cloruro. La disminución de la sensibilidad por receptores GABA es debido a un cambio estructural de una proteína. Ninguna amplificación o expresión alterada de genes del receptor GABA han sido detectadas. Solamente un punto de mutación causa que un aminoácido específico pueda ser sustituido dando como resultado altos niveles de resistencia para ciclodienos. Otros puntos de mutación han sido detectados pero estos no parecen ser la causa de resistencia o no están asociados consistentemente con este fenómeno (Hemingway *et al.* 1987).

Los canales de sodio juegan un rol integral en la transmisión de impulsos neurales. Los piretroides causan una interrupción en las transmisiones de los nervios por la interrupción de la función normal de los canales de sodio. La insensibilidad del sitio blanco para piretroides es una respuesta fenotípica comúnmente referida como “resistencia al derribo (*kdr*)”, dando como resultado que los canales de sodio comiencen a ser menos sensibles a la intoxicación. Aunque está claro que los canales de sodio son adversamente afectados por los piretroides, hay desacuerdo sobre si el *kdr* es el resultado de una mutación en el canal de sodio o lo es de alguna otra molécula que es parte integral para la función de los canales. Un punto de mutación para el canal de sodio que pudo ser

estructuralmente alterado fue detectado en una cepa de insectos resistentes, pero hasta ahora esta mutación no ha mostrado ser causa de resistencia

Otros reportes indican que la mutación que causa *kdr* esta cercanamente ligada a (físicamente cerca o es parte de) el gene que codifica a un tipo de canal de sodio y esta liga ha sido interpretada como una fuerte evidencia de la(s) mutación (es) de que un gen del canal esta asociado con *kdr*. Por otra parte, una mutación de una proteína regular o del receptor pudo también dar como resultado *kdr*. Existe evidencia indirecta para sustentar ésta hipótesis alternativa. La tercera hipótesis que ha sido propuesta y que esta limitada a evidencia electrofisiológica indica que *kdr* es causado por cambio de dos genes cercanos ligados. Uno involucra un canal de sodio alterado y el otro puede ser asociado con la fosforilación del calcio activado de una(s) proteína(s) involucrado con los neurotransmisores. Al mismo tiempo, puede ser que solamente esté indicado ya que no hay ningún evento de amplificación de gen asociado con *kdr*. Es más probable que la expresión de un gen que esta asociado con la función del canal de sodio ha sido alterado y/o una mutación estructural del canal de sodio resultó en *kdr* (Bisset, 2002).

Los análogos de las hormonas juveniles como el metopreno compiten con la hormona natural para el receptor de la HJ. La mayoría de la resistencia a los análogos de HJ son tanto metabólicos y/o una reducción en la penetración del insecticida a través de la cutícula. Los reportes de la insensibilidad del sitio blanco para análogos de HJ son en mutantes aislados de colonias de laboratorio de *Drosophila*. La transposición de los alelos de los genes de resistencia *Met* que han sido aislados de estas colonias por un TE pueden inducir resistencia, sin embargo, la transposición no es requerida para que la resistencia del gen sea expresada (Wilson, 1992).

Otros dos tipos de resistencia que deben ser descritos son la penetración reducida del plaguicida y la alteración del comportamiento para evitar el producto tóxico. Esto presume que la estructura cuticular es de alguna manera alterada para reducir la cantidad de penetración del tóxico. El cambio en el comportamiento parecer ser estimulado por contacto o a través de receptores táctiles u olfatorios que entrar en contacto con el pesticida. Solos, ninguno de estos mecanismos causan grandes niveles de resistencia pero ellos pueden ser encontrados en combinación con otros tipos de resistencia y pueden

hacer una contribución significativa para que la resistencia total exhibida por el insecto (Tabashnik 1989; Devonshire 1990).

5.3. Monitoreo, detección y manejo de resistencia

La resistencia es un fenómeno extenso y ya han sido detectadas muchas poblaciones resistentes de diversas plagas de importancia para el ser humano.

Donde el control ha fallado la historia nos revela que la aplicación de los plaguicidas usualmente indica que la exposición crónica a éstos ha resultado en altos niveles de resistencia que causan los fallos. Puede el desarrollo de poblaciones resistentes significar que la falla en el control es inevitable? Ciertamente la continua selección de los mismos mecanismos de resistencia una y otra vez pueden resultar en niveles de resistencia que sean tan grandes que resulte en un fallo total del control pero si la presión de selección (e.j. un plaguicida) por cada mecanismo es removido antes del desarrollo de una resistencia suficientemente significativa, entonces el fallo en el control puede evitarse (Georghiou, 1981; Georghiou and Lagunas, 1981; Georghiou, 1990).

Un paso importante para evitar este problema en el control de vectores es la detección de resistencia cuando se encuentra en su nivel más bajo, los objetivos de determinar el estatus de susceptibilidad de vectores son los siguientes:

a. Antes del comienzo de las operaciones de control, se debe obtener datos de la población a través del establecimiento de una línea base (es decir, es necesario tener el conocimiento de la susceptibilidad base, la cual se encontrará en una población que no ha sido expuesta previamente a plaguicidas, lo que servirá como punto de referencia) para establecer el programa y seleccionar el plaguicida a utilizar.

b. Detectar la presencia de la resistencia en un estado temprano para poder introducir un manejo de ésta en el momento justo. La detección en un estado avanzado de la evolución del organismo, es importante para elucidar la causa del fallo del sistema de control de la enfermedad; sin embargo, en ese caso, es muy probable que sea tarde para proponer alguna forma de manejo de la resistencia que no sea otra que reemplazar el insecticida.

c. Monitorear los niveles de resistencia sobre tiempo, en virtud de evaluar los efectos de las estrategias de control sobre ésta.

La WHO ha usado pruebas por muchos años para la detección y monitoreo de la resistencia en diversos vectores. La colecta y pruebas de los vectores deben ser estandarizados y racionalizados (e.j. para permitir ver el efecto de la edad en la resistencia), así como nuevos métodos deben ser desarrollados para probar los efectos de los plaguicidas que están saliendo al mercado así como detectar sus efectos en vectores, hospederos intermediarios y depredadores (WHO, 1970).

El más reciente desarrollo de técnicas de microensayos bioquímicos puede detectar mecanismos de resistencia en insectos individuales y estas facilidades para confirmar la resistencia en los pocos sobrevivientes de los bioensayos. La identificación de los mecanismos de resistencia ayuda a pronosticar el espectro de la resistencia cruzada y las facilidades de la selección de los plaguicidas alternativos.

5.3.1. Técnicas de detección y monitoreo de resistencia

5.3.1.1. Métodos estándares

Para que un método sea considerado como estándar, puede ser sencillo, replicable, eficaz, accesible y darnos un resultado rápido.

Las pruebas de susceptibilidad son para mosquitos, piojos, chinches de cama, moscas negras, moscas caseras, garrapatas, pulgas y roedores. Aun cuando estas pruebas han sido usadas extensivamente por muchos años con resultados satisfactorios, todavía se tienen algunas dificultades con ellos, como por ejemplo:

1. La mayoría de los métodos fueron desarrollados para buscar resistencia en las generaciones anteriores de plaguicidas. Los nuevos productos con acción fumigante, knockdown y/o repelente pueden requerir diferentes enfoques.

2. Muchos métodos de exposición están en uso. Mientras, en muchas pruebas, los vectores son expuestos a superficies tratadas (mosquitos, moscas de la arena, cucarachas, chinches triatominas, chinches de cama, pulgas, etc.) otras están basadas en la aplicación tópica de cantidades conocidas de plaguicidas en el tórax del vector (moscas domesticas, moscas tsé-tsé, moscas de los establos y garrapatas).

3. Mosquitos pequeños como *Ae. aegypti* frecuentemente escapan por la malla de las tapas de los tubos de exposición de los kids de pruebas para mosquitos adultos.

4. La aplicación tópica de soluciones de insecticidas para garrapatas y moscas involucran el uso de equipo especial, esto también es necesario para anestesiarse a las moscas que frecuentemente escapan durante el procedimiento.

5. En los tests que envuelven la exposición de mosquitos a papeletas impregnadas con insecticidas organoclorados, organofosforados y carbamatos, es asumido que el tiempo de exposición y el balance de la concentración siguen un camino semejante: tanto el producto como la mortalidad son constantes. Sin embargo, esto sólo puede ser verificado para pocos insecticidas y puede no ser totalmente cierto para algunos de los componentes probados (U.S. Army 1992).

5.3.1.2. Métodos tentativos

Estos incluyen pruebas para cucarachas y chinches reduviide, utilizando *Bacillus thuringensis*, fumigantes persistentes e irritantes.

Las pruebas para cucarachas son diferentes de otras por el número de observaciones consecutivas de tiempos de knockdown hechos en los mismos insectos pero sin removerlos de la superficie tratada por un tiempo fijo de post-exposición. Como las relaciones entre los tiempos de knockdown y los tiempos letales no son constantes, la primera opción particularmente sensible a la temperatura y los efectos de penetración, estas pruebas pueden ser cambiadas para llevarlas dentro de la línea con otros insectos (tiempo fijo de exposición y 48 horas de observación post-exposición). Un largo tiempo de post-exposición es recomendado para cucarachas porque pueden recobrase del knockdown después de la exposición entre 24-48 horas. En las pruebas utilizadas para chinches reduviide, las instrucciones nos sugieren utilizar los 7 instares. Estos son muy difíciles de coleccionar en gran número en el campo, los instares tempranos son usualmente más numerosos y más fáciles de coleccionar. Cuando se desea conocer el resultado de una aplicación residual, se pueden utilizar hojas o partes de ellas, sueltas o unidas a plantas, las cuales son puestas en contacto con soluciones acuosas del plaguicida a utilizarse, diluidos en dosis requeridas. Otro tipo de bioensayo es mediante la inmersión del insecto o "dip-test" que se utiliza como un procedimiento rápido de detección de resistencia mediante la aplicación de una dosis discriminante (que es la concentración de insecticida que mata a los organismos en un lapso de una hora a temperaturas de entre 20 y 25°C

después de una inmersión de 10 s). Las pruebas tentativas para fumigantes persistentes deben ser satisfactorios y deben considerarse una de las pruebas estándares. Los métodos de detección de cambios ambientales son voluminosos e ineficientes. En vista de la creciente importancia de los piretroides, que actúan tanto como irritantes como repelentes, estas pruebas deben ser revisadas y/o desarrollar otras (U.S. Army 1992).

5.3.1.3. Otros métodos

Peces, caracoles y *Cyclops spp.*, deberán ser probados tentativamente como si fueran larvas de mosquito; los biopesticidas deben ser considerados como larvicidas, pero la concentración del ingrediente activo es expresado en unidades tóxicas.

5.3.1.4. Bioensayos

Convencionalmente la detección de la resistencia está basada en pruebas de susceptibilidad a insecticidas que son experimentos de dosis-mortalidad (bioensayo). Existe una gran diversidad de tipos de bioensayo dependiendo del organismo al que va dirigido, el plaguicida a evaluar y el objetivo que se persigue.

Con éstos métodos se pueden detectar diferencias en susceptibilidad mediante la relación R/S (colonia resistente sobre colonia susceptible) de los valores de DL_{50} , llamada proporción de resistencia (PR), ésta permite comparar dos poblaciones de organismos con base en una dosis de un plaguicida (es decir, se encuentra a nivel de DL_{50} , DL_{90} u otra de interés) para saber cuantas veces es necesario aumentar la dosis para alcanzar la mortalidad deseada (50 o 90%) con respecto a la línea base. Permiten así mismo, detectar la homogeneidad genética de la población en su respuesta al tóxico, la cual se observa en los valores de la pendiente de la recta de regresión obtenida mediante el procedimiento de Probit, que nos señala que entre mayor es la pendiente la colonia es genéticamente más homogénea, es decir poseen los mismos genes de resistencia y están aproximadamente en iguales proporciones entre los individuos.

Los mecanismos que participan en el fenómeno de resistencia a plaguicidas en una población también pueden ser identificados indirectamente mediante estos ensayos debido a la utilización de sinergistas, ya que estos se unen a las enzimas que ocasionan resistencia permitiendo actuar libremente a los tóxicos, lo cual se verá reflejado en los

valores de susceptibilidad en insectos resistentes, casi tan bajo como los de la línea de base. A continuación se enlistan los más importantes dentro de este rubro (Brogdon 1989):

5.3.1.5. Dosis diagnóstico (concentración) para monitorear resistencia vectorial

La dosis diagnóstico (DD) es la forma más importante de monitoreo de resistencia en una población a través del tiempo. Esta determinada por la exposición de insectos susceptibles a una serie de concentraciones del insecticida a probar. La dosis letal para matar el 99.9% de la población testada (DL_{99}) deber ser determinada, la DD debe ser dos veces la DL_{99} . Por comparación, para definitivamente definir la resistencia deben determinarse la DL_{50} y la DL_{90} de la población testada y de una población susceptible.

Idealmente, la DD debe ser determinada antes de la exposición de la plaga blanco a insecticidas. Luego, a través de monitoreo regular, el desarrollo de la resistencia puede ser fácilmente detectable como un mayor porcentaje de la población del insecto plaga que sobrevive a la DD del insecticida. Sin embargo, probar una población de insectos plaga antes que sea expuesta a insecticidas raramente es hecho, por lo tanto, la DD de ciertos insecticidas debe ser determinada mediante el uso de una cepa de laboratorio susceptible.

Poblaciones sometidas son directamente comparadas con una población susceptible. En la mayoría de las poblaciones están presentes individuos tanto resistentes como susceptibles.

Para que éstas DD puedan considerarse para la determinación lo más pronto posible de resistencia en el campo deben ser definidas para cada situación local con el establecimiento de los valores de la línea base para las poblaciones locales susceptibles, de lo contrario se estaría cometiendo el error de sobreestimar o subestimar la resistencia en la población (Brogdon 1989).

5.3.1.5.1. Técnica de la WHO (1981)

La WHO ha coordinado el uso de sistemas de detección por 30 años, colectando resultados y proporcionando periódicamente de manera pública sus observaciones a través de comités expertos. La técnica de la WHO para mosquitos adultos, consiste en

exponerlos a papeletas impregnadas de una dosis conocida del plaguicida a probar en tubos de plástico.

El material biológico es colectado de sitios conocidos como por ejemplo en el caso de este mosquito en floreros de cementerios, tambos, piletas, etc. Se transporta a un insectario donde se establecerá una colonia para efectuar pruebas de dosis y resistencia. Los larvas son mantenidas en charolas de plástico, alimentadas con polvo de alimento para peces, cuando ya se encuentran en estado de pupa son trasladados a jaulas metálicas donde se mantienen hasta el momento de la prueba, son alimentados con agua y azúcar, si se quiere obtener huevos a las hembras se les proporcionará además sangre de ratón.

El procedimiento consiste en tomar de las jaulas 25 mosquitos adultos hembras de un día de edad, comprobar que son hembras todos los organismos, se utilizan dos tubos llamados de observación y de exposición. En el tubo de observación se colocan los mosquitos observándolos durante una hora para comprobar que no están dañados por manejo u otra circunstancia, se abre la compuerta que los separa y se deja pasar a los mosquitos al tubo de exposición que tiene la papeleta impregnada con el plaguicida a probar, durante una hora se expondrán los organismos. Al término de ese tiempo, se registra la mortalidad y son devueltos al tubo de observación. Se registrará nuevamente la mortalidad a las 24 horas. En caso de mortalidad en el control, ésta se ajusta mediante la fórmula de Abbot. Los mismos pasos se realizan en las poblaciones controles. Los bioensayos en larvas son semejantes, se utilizan larvas de 3er. estadio tardío o 4o. temprano. Se registra mortalidad a las 24 horas. En caso de mortalidad en el control, ésta se ajusta mediante la fórmula de Abbot.

La mortalidad de los mosquitos puede ser llevada acabo en papel logarítmico de probabilidad para la construcción de la línea de regresión de la dosis-mortalidad y/o para el tiempo-mortalidad cuando diferentes lotes de mosquitos son expuestos a alguna concentración de insecticida, pero para diferentes períodos de tiempo o cortos intervalos dependiendo de la concentración estándar del insecticida utilizado.

Si la mortalidad en el grupo de controles más del 5% pero menos del 20% se realiza como ya se mencionó una corrección de la mortalidad aplicando la fórmula de Abbot (figura 14).

$$\% \text{ Mortalidad corregida} = \frac{\% \text{ Mortalidad en prueba} - \% \text{ Mortalidad en control}}{100 - \% \text{ Mortalidad en control}} \times 100$$

Figura 14. Fórmula de Abbot.

Cuando la mortalidad en los controles es arriba del 20% las pruebas son descartadas. Calcular un promedio de la mortalidad obtenida para las concentraciones por triplicado. Al construir la línea de regresión, si ésta muestra una orientación hacia la derecha pero permanece paralela a la línea base, esto nos indica un incremento en la tolerancia solamente. Si la línea de regresión tiene tendencia a formar una meseta en la parte superior, esto indica resistencia (WHO 1981a, 1981b, 1981c, 1981d, 1986).

5.3.1.5.2. Bioensayo CDC (1998)

Se desarrollaron dos métodos de bioensayos, uno para trabajar con mosquitos adultos mientras que el otro es para larvas. El propósito de ambos bioensayos es detectar resistencia a insecticidas en insectos individuales por cambios medibles en el tiempo que requiere un insecticida en encontrar el blanco y ejercer su efecto tóxico, pero en presencia de mecanismos de resistencia el intervalo de tiempo se incrementa.

Es importante obtener estos datos de manera reciente, ya que la WHO posee información no actualizada de décadas atrás, esto hace que el principal problema para utilizar esta técnica es el hecho de que no se han establecido tiempos de exposición y dosis para poblaciones locales de vectores así que los datos obtenidos mediante esta técnica pueden complicarnos la selección de una real dosis discriminante para un plaguicida en particular mientras que la técnica del CDC nos permite establecer los niveles de resistencia para poblaciones colectadas en campo o bien proveniente de laboratorio actuales. En la tabla 2, se hace una comparación entre las técnicas mencionadas.

Tabla 2. Comparación entre las técnicas de la WHO (1981) y del CDC (1998) para obtención de la dosis diagnóstico.

CDC (1998)	vs	WHO (1981)
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Según el modo de acción de los insecticidas, el tiempo-mortalidad puede ser desde el primer minuto ✓ Las pruebas son baratas y se pueden realizar en cualquier país incluyendo a los que se encuentran en vías de desarrollo. ✓ En cualquier lugar del mundo se pueden conseguir botellas y vasos de precipitado de las medidas necesarias, sin necesidad de trámites complicados. ✓ No se utiliza material que pueda caducar debido a los trámites para conseguirlo. ✓ Se puede probar cualquier insecticida a cualquier concentración. ✓ Los datos obtenidos son locales y por lo tanto tienen peso dentro de los programas de control del país. 		<ul style="list-style-type: none"> * Tiene un tiempo establecido a 1 hora y 24 horas, no teniendo en cuenta el modo de acción del plaguicida que se está probando. * Las pruebas son caras, especialmente para los países donde puede estar presente la multiresistencia. * Los procedimientos para obtener los kits de prueba son complicados. Las órdenes de compra en América tienen que pasar antes por oficinas de la OPS presentes en el país, a Washington, EUA; Génova, Italia e ir de regreso por la misma ruta. * Las papeletas después de todo este viaje, no es inusual que ya estén caducas. * Las papeletas no son viables para algunos compuestos. * Son patrones globales que no tienen relevancia en los programas de control locales.

5.3.1.2. Técnicas bioquímicas para detección de resistencia

Los ensayos bioquímicos para mecanismos metabólicos son utilizados cuando se desea establecer el rol de las enzimas de resistencia de una manera rápida. Más de 30 ensayos pueden realizarse en un solo mosquito, esto es posible para probar algunos mecanismos de resistencia con repetición. Los ensayos de microplacas deben ser colorimétricos porque el análisis visual es necesario en los sitios de campo. Los modos de interpretar los dos tipos de mecanismos de resistencia (incremento en el metabolismo e insensibilidad del sitio de acción) son diferentes. La resistencia debido al incremento al metabolismo (detoxificación) es detectado por un incremento en el color de respuesta en un insecto resistente arriba del rango de valores para una población susceptible. Los microensayos de insensibilidad en el sitio de acción es la falta de un insecticida a una concentración particular para inhibir el sitio de acción de la enzima. Los métodos se pueden aplicar tanto a larvas como en adultos. Los niveles de enzimas pueden ser alterados drásticamente cuando los mosquitos son muertos bajo la presión de un producto

tóxico. En los ensayos bioquímicos se utilizan del mosquito la cabeza y el tórax, el abdomen servirá para las pruebas genéticas. El material se conserva a una temperatura de -70°C (Hemingway 1983; Hemingway *et al.* 1986; Hemingway *et al.* 1997).

5.3.1.2.1. Ensayo para acetilcolinesterasa alterada

Los organofosforados y carbamatos tienen como blanco a la acetilcolinesterasa (AChE). Esta hidroliza el neurotransmisor acetilcolina en la membrana post-sináptica. Alteraciones en AChE en insectos resistentes a estos tóxicos resultan en una sensibilidad decreciente para inhibir las enzimas de estos insectos. Solamente AChEI parece estar involucrada en la resistencia. El ensayo para acetilcolinesterasa alterada, está basado en la diferencia en la sensibilidad de la enzima al plaguicida resistente en comparación con el espécimen susceptible. El insecticida carbamato es generalmente utilizado como inhibidor, sin embargo, puede ser reemplazado por un análogo de un organofosforado bajo condiciones de laboratorio. En algunos ensayos, la enzima es preincubada con el insecticida antes de la adición del sustrato; en otros es incubado con el insecticida y el sustrato junto. La actividad de la enzima con el sustrato solo es determinada en los dos tipos de ensayo. Debe tenerse cuidado en la interpretación de los resultados si solamente un inhibidor es usado, como insensibilidad a carbamatos no es automáticamente implica insensibilidad a compuestos organofosforados y viceversa, al menos esto es general en el caso de mosquitos. Una variante de estos ensayos es usado en un laboratorio para la detección tentativa de la resistencia a compuestos organofosforados y carbamatos respectivamente de el mecanismo que involucra. El ensayo involucra pre-exposición del insecto al insecticida por un periodo fijo seguido de un análisis en microplaca buscando remanentes de la actividad de la acetilcolinesterasa (Brogdon and Barber, 1996).

5.3.1.2.2. Ensayo para actividad elevada de esterasas

Todas las esterasas actúan rápidamente atando y lentamente “envolviendo” al insecticida: secuestran a la molécula para luego rápidamente metabolizarlo. Un incremento en la actividad de las esterasas es un mecanismo común de resistencia, especialmente para los compuestos organofosforados. Este tipo de mecanismo puede ser detectado por filtros de las microplacas usando los sustratos generales α y β acetato naftil,

ya que su clasificación esta basada en sus preferencias por α ó β acetato naftil, además de su movilidad en los geles de policramina y su secuencia nucleótida. La superioridad de las esterases en “atar” a los insecticidas en las cepas de insectos resistentes sugiere que esto ha sido positivo para que la presión de selección que ejercen los insecticidas mantenga elevado el número de alelos de las estererasas. Cuando se detecta actividad elevada de estererasas en algunos insectos resistentes como en el mosquito *Culex quinquefasciatus*, se le atribuye a la amplificación de genes, sin embargo los niveles altos de las estererasas no siempre son el resultado de amplificaciones, la expresión de $\alpha 1$ en *Cx. pipiens* se debe a un elemento regulador aun no identificado. Teniendo un nivel alto de estererasas también se puede proveer protección a otras enzimas importantes y el insecto se podrá defender con mayor efectividad contra otros insecticidas (Brogdon and Dickinson 1983; Bisset 1990).

5.3.1.2.3. Ensayos para actividad elevada de glutatión s-transferasa

Algunos tipos de resistencia a DDT y compuestos organofosforados están basados en glutatión s-transferasa. Las GSTs son enzimas multifuncionales que juegan un rol en la detoxificación de un gran rango de xenobióticos. Dos familias de insectos GST son reconocidos, y ambos parecen tener un rol en la resistencia de los insectos. En *Ae. aegypti* por lo menos dos GSTs están elevadas en insectos resistentes al DDT, mientras que en *An. gambiae* un gran número de diferentes GSTs están elevadas, algunos son de clase I GSTs. La GST2 de *Ae. aegypti* esta sobre-expresado en todos sus tejidos excepto en los ovarios de los insectos resistentes. Donde este mecanismo se presenta, esta asociados con un incremento en la actividad del sustrato general: clorodinitrobenzeno (CDNB). Un ensayo con microplacas puede ser usado para detectar este mecanismo mediante la determinación de la cantidad de conjugación entre el glutatión reducido y el CDNB. La absorbancia que resulta este ensayo esta en el rango de color ultravioleta, hay que leerlo con filtros de 340 nm. En algunos insectos resistentes la sobre-expresión del gen GST es responsable de la producción de grandes cantidades de ésta enzima (Brogdon and Barber, 1996).

5.3.1.2.4. Ensayos para citocromo P450 monooxigenasas (P450s)

Las monooxigenasas son una familia de enzimas que se encuentran en muchos organismos incluyendo los insectos. Estas enzimas están involucradas en el metabolismo de xenobióticos y tienen un rol en los metabolismos endógenos. Las P450 ligan moléculas de oxígeno y reciben electrones de NAPH para introducir moléculas de oxígeno en el sustrato. La nomenclatura de la superfamilia P450 está basada en las secuencias del ácido amino homólogos, con todas las familias tienen el prefijo CYP seguido del número de familia, una letra para la subfamilia, y un número para el gen individual. Para los insectos P450s tienen asignados 6 familias, cinco son específicos para insectos, CYP4, tiene secuencia homologas con familias con otros organismos (Brogdon, 1989).

5.3.1.2.5. Comparación entre bioensayos y ensayos con microplacas

Los ensayos bioquímicos descritos arriba difieren ambos en la cantidad y calidad. El requerimiento mínimo es la habilidad para determinar si un mecanismo de resistencia está presente o no. Sin embargo hay que considerar que los costos entre los bioensayos y los ensayos con microplacas son diferentes pues hay que usar en el segundo químicos y aparatos costosos aun los bioensayos con papeletas son aun costosos pues hay que pedir este material a la WHO que además de caro para algunas personas, son muy difíciles cumplir con todos los tramites, además que en ocasiones ya las papeletas llegan caducas, aun la técnica de la botella tiene sus dificultades, si se lavan bien o no para que no tengan residuos de otros componentes, etc. Las pruebas bioquímicas son más capaces de detectar el nivel total de resistencia presente en una población tomando como base sólo una prueba (Brogdon and McAllister, 1998).

6. MÉTODOS

6.1. Área de estudio.

6.1.1. Estado de Baja California Norte



Figura 15. Mapa del estado de Baja California Norte que muestra las localidades de Tecate y Tijuana en donde fueron colectadas las poblaciones de *Ae. aegypti*.

El estado de Baja California Norte representa el 3.6% de la superficie del país. Está dividido en 5 municipios: Ensenada, Mexicali, Tecate, Tijuana y Playas del Rosarito. Se colectaron larvas del municipio de Tecate ubicado en las coordenadas 32° 34' latitud norte, 116° 38' longitud oeste con una altitud de 540 msnm y en Tijuana con las coordenadas 32° 32' latitud norte, 117° 02' longitud oeste con una altitud de 20 msnm.

6.1.2. Estado de Baja California Sur



Figura 16. Mapa del estado de Baja California Sur que muestra las localidades de Comondú (Ciudad Constitución) y Loreto en donde se colectaron las poblaciones de *Ae. aegypti*.

El estado de Baja California Sur colinda al norte con Baja California, al este con el Golfo de California, al sur y al oeste con el Océano Pacífico. Se colectaron larvas en Ciudad Constitución que es el principal núcleo poblacional de Comundu, en las coordenadas 25° 01' latitud norte, 111° 40' longitud oeste con una altitud de 50 msnm y en el municipio de Loreto ubicado en las coordenadas 26° 01' latitud norte, 111° 21' longitud oeste con una altitud de 20 msnm.

160700

6.1.3. Estado de Coahuila

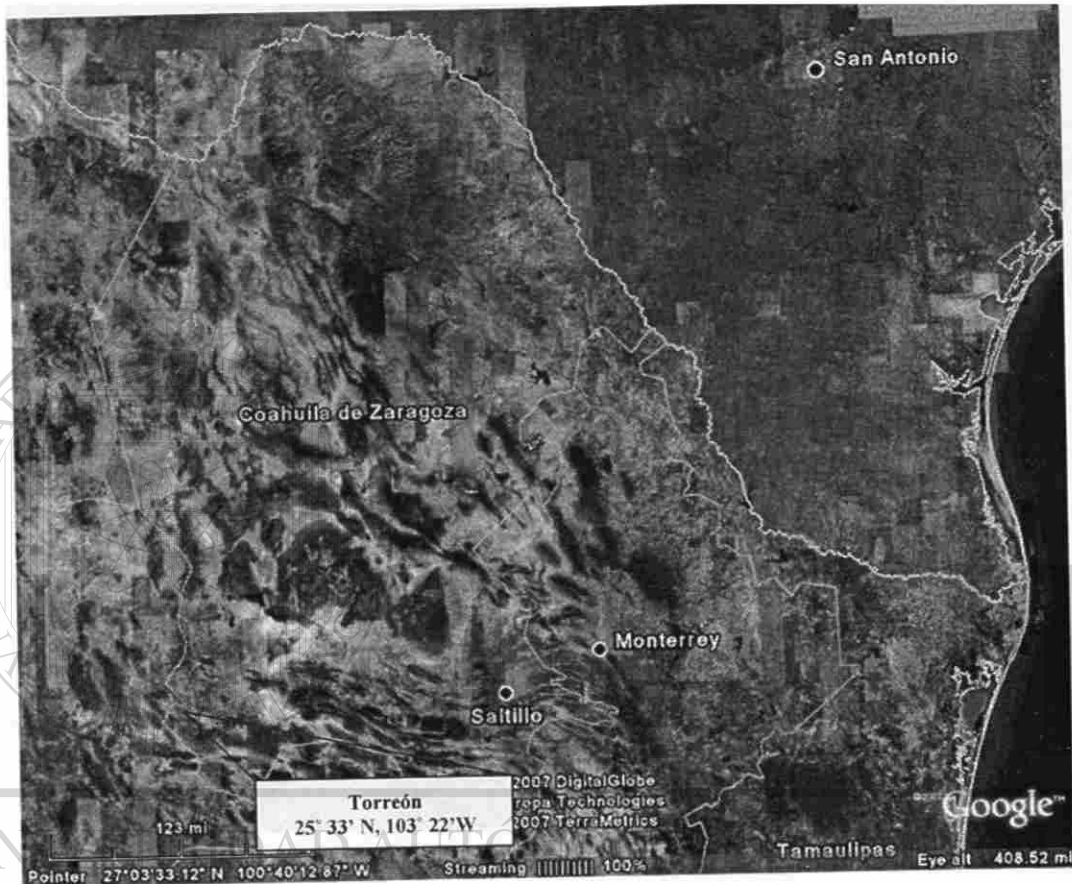


Figura 17. Mapa del estado de Coahuila que muestra la localidad Torreón en donde se colectaron las poblaciones de *Ae. aegypti*.

Coahuila de Zaragoza está ubicado en las coordenadas geográficas extremas al norte $29^{\circ} 53'$, al sur $24^{\circ} 32'$ de latitud norte, al este $99^{\circ} 51'$, al oeste $103^{\circ} 58'$ de longitud oeste. El municipio elegido para la colecta de larvas fue Torreón ubicado en las coordenadas: $25^{\circ} 33'$ longitud norte y $103^{\circ} 22'$ longitud oeste.

6.1.5. Estado de Tamaulipas

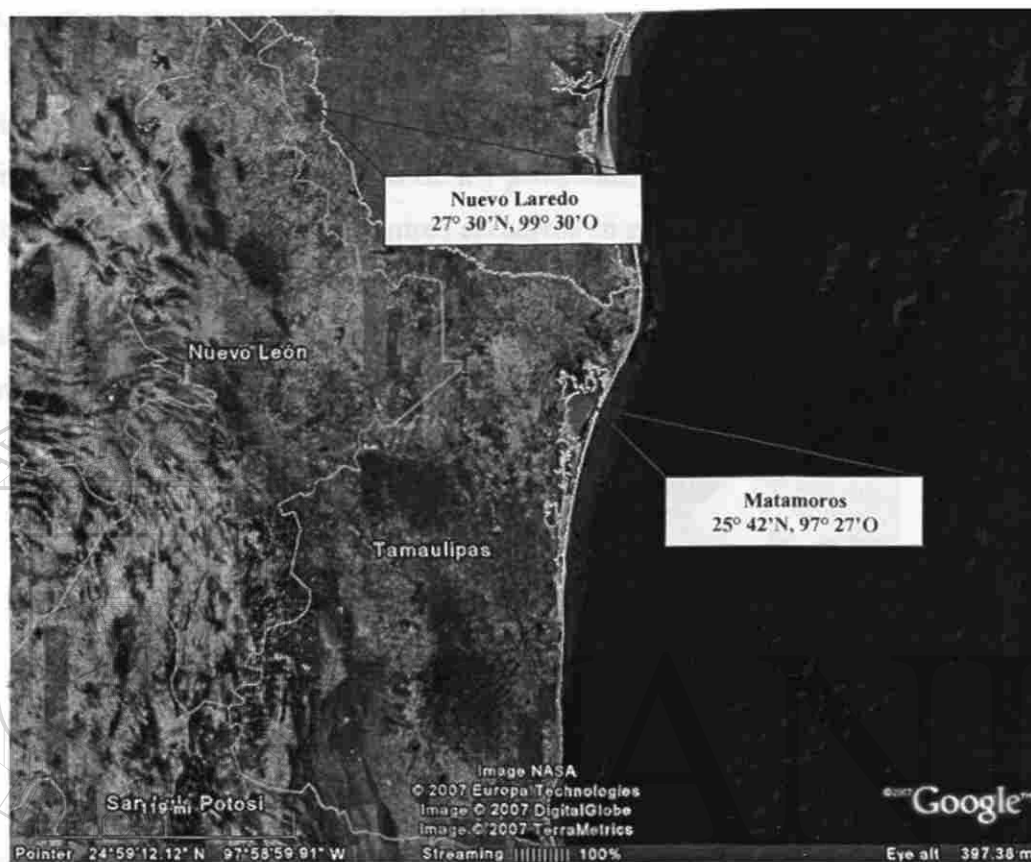


Figura 19. Mapa del estado de Tamaulipas que muestra las localidades de Reynosa, Matamoros y Nuevo Laredo en donde se colectaron las poblaciones de *Ae. aegypti*.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

El estado de Tamaulipas está dividido en 43 municipios. Colinda al norte con el estado de Nuevo León y Estados Unidos de América, al este con el Golfo de México y Estados Unidos de América, al sur con el Golfo de México, Veracruz y San Luis Potosí, al oeste con Nuevo León y San Luis Potosí. Se colectaron larvas en los municipios de Reynosa ubicado en las coordenadas: 26° 03' 37.9" latitud norte y 98° 14' longitud oeste. Matamoros con coordenadas y Nuevo Laredo ubicado en las coordenadas: 25° 42' latitud norte y 97° 27' latitud oeste; 27° 30' latitud norte y 99° 30' longitud oeste.

6.2. Metodología

6.2.1. Obtención y manejo de material biológico

Las larvas se colectaron en criaderos donde se conoce que el vector se reproduce como son tambos de 200 litros que encontramos en las zonas donde no existe infraestructura de drenaje, floreros de los panteones, llantas usadas en vulcanizadoras o en cualquier lugar donde se encuentren cacharros en general (figura 18).

El material fue transportado en bolsas WHIRL-PACK® y resguardado en termos hasta el laboratorio de Entomología Médica de la Universidad Autónoma de Nuevo León donde se establecieron las colonias.

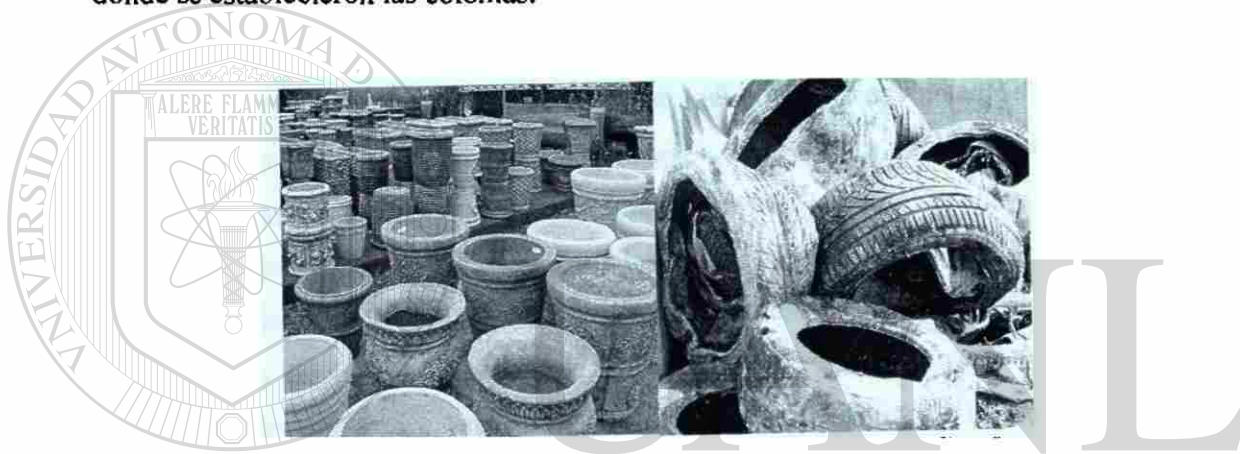


Figura 20. Floreros de cementerios y llantas de una vulcanizadora.

6.2.2. Mantenimiento y cría de mosquitos adultos

Las larvas colectadas se colocaron en charolas plásticas blancas de 35 x 25 cm, fueron alimentadas con AquaCrece® finamente molido (alimento para peces). Las pupas fueron transferidas a vasos de 250 ml de capacidad y colocadas en las jaulas de cría de 30 x 30 cm.

Los mosquitos adultos se alimentaron con una solución de agua y azúcar impregnada en algodones. A las hembras además se les ofreció sangre de ratón para la producción de huevos, para la recolección de éstos se colocaron vasos con agua dentro de los cuales se colocó papel filtro como sustrato de oviposición.

Se mantuvo una colonia representativa de cada una de las localidades muestreadas. Las condiciones controladas de temperatura fueron de $24^{\circ}\pm 2$ y 70% de humedad relativa.

6.2.3. Determinación de dosis diagnóstico (DD) en larvas y adultos.

Para la determinación de dosis diagnóstico (DD) impregnaron botellas Wheaton® de boca angosta (3 cm de diámetro) con capacidad de 250 ml. Se utilizaron los insecticidas DDT, malatión, propoxur, los piretroides: bifentrina, cipermetrina, deltametrina, lamdacihalotrina y permetrina en estudio grado técnico disuelto en acetona. Para la impregnación se colocó con una pipeta 1 ml de acetona más la concentración correspondiente del insecticida a probar. Se rotó la botella para mojar toda la superficie e impregnar interiormente base, paredes y tapa. Para la impregnación, se colocó la solución en el frasco, se giró para mojar uniformemente la base, se invirtió la botella para mojar la tapa, se colocó de costado y se rotó ligeramente para cubrir las paredes durante 1-2 minutos. Se aseguró que las botellas estuvieran bien secas antes de impregnar. Se dejó evaporar el solvente durante 24 horas a temperatura ambiente con la botella destapada. Para los controles se impregnó la botella con 1 ml de acetona y se procedió de la misma forma para la impregnación con las soluciones de insecticida.

Se introdujeron de 15 a 25 mosquitos adultos hembras de 1-3 días de edad, alimentadas y sin ingesta de sangre pertenecientes de la generación F2, que previamente se habían colectado con un aspirador bucal y se transfirieron a los frascos mediante un suave soplo de aire, se tapó el frasco y se examinaron para asegurarse que todos los mosquitos transferidos estuvieran en perfecto estado de supervivencia. Se comenzó el conteo con un cronómetro y se registraron los mosquitos volteados o muertos hasta completar el 100% de individuos. Como en todos los bioensayos los datos obtenidos se compararon con los que se obtuvieron de la cepa susceptible New Orleans.

Para la obtención de la DD para el larvicida temefos (grado técnico) se utilizaron larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano de la generación F2, aproximadamente cuatro días después de la eclosión. Se utilizaron recipientes con capacidad de 150 ml, donde con una pipeta se introdujo por debajo de la superficie del agua, 1 ml de etanol en los recipientes de control y 1 ml de solución alcohólica de temefos según las concentraciones a probar, se agitó el contenido durante 30 segundos. Después de un período de reposo de 15 a 30 minutos de preparadas las soluciones se transfirieron las larvas. Fueron expuestas durante un periodo de 24 horas. Se realizaron 4 repeticiones por cada concentración.

En estos bioensayos tiempo-mortalidad fueron evaluadas según la metodología propuesta por la OMS (1981) modificada por Brogdon y McAllister (1998). Las curvas de dosis-respuesta fueron construidas para las concentraciones probadas y las DD fue determinadas como aquellas que cuya concentración produce el 100% de mortalidad en el menor tiempo.

6.2.4. Bioensayos

Debido a que el insecticida piretroide permetrina es el utilizado para el control de las poblaciones adultas de *Ae. aegypti* en todo el territorio nacional según la Norma Mexicana NOM-032-SSA2-2002, los bioensayos se llevaron a cabo utilizando sólo las poblaciones que fueron sometidas a las DD obtenidas para este insecticida.

Las botellas fueron impregnadas con las DD obtenidas, para luego introducir 30 mosquitos por botella, hasta que se produjo el 50% de mortalidad. Se aspiraron los 15 mosquitos muertos y los 15 sobrevivientes, guardándolos por separado a -70°C en un ultracongelador Revco®. El procedimiento se repitió hasta completar 500 mosquitos muertos y 500 sobrevivientes.

Cada mosquito fue disectado en dos secciones: **1.** cabeza-tórax, que fue utilizado para las pruebas bioquímicas y **2.** abdomen que utilizamos para las pruebas genéticas.

6.2.5. Análisis bioquímico

El procedimiento de las técnicas utilizadas en este estudio bioquímico es el utilizado por el CDC de Atlanta, GA, USA. Fueron homogenizadas la cabeza-tórax de cada mosquito hembra en forma individual en 100 μl de buffer fosfato de sodio (KPO_4) 0.01 M pH 7.2, posteriormente se diluyó a 2 ml con 900 μl de buffer de manera adicional y se siguieron las indicaciones para realizar cada uno de los ensayos de las 6 enzimas analizadas: α y β -esterasas, oxidasas, GSTs, acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible de los 1 000 individuos. Las pruebas fueron hechas por triplicado en microplacas.

6.2.5.1. Enzayos enzimáticos de α y β -esterasas

Mediante esta técnica se obtuvo los niveles de las enzimas alfa y beta esterasas presentes. Se colocó 100 μ l de homogenato de cada mosquito por triplicado en los pozos de las microplacas, se adicionó 100 μ l de α -naftil o β -naftil acetato (disolver 56 mg de α -naftil acetato o β -naftil acetato en 20 ml de acetona y adicionar 80 ml de buffer fosfato de potasio). Se dejó incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos, se añadió 100 μ l de 0-dianidina (100 mg de 0-dianisidina más 100 ml de agua destilada), dejando incubar durante 4 minutos y se realizó una lectura en un lector de microplacas marca Benchmark (Biorad®) usando el filtro de 540 nanometros (nm). Se utilizó un control positivo que consistió en 100 μ l de α -naftil o β -naftil (17.5 μ l de solución stock de α -naftil o β -naftil más 1.2 ml de buffer fosfato de potasio) según el caso; el control negativo fue 100 μ l de buffer fosfato de potasio.

6.2.5.2. Enzayos enzimáticos de oxidasas

La prueba nos proporcionó los niveles de oxidasas presentes. En cada pozo que ya contenía 100 μ l de homogenato de cada mosquito se añadió 200 μ l de TMBZ (disolver 50 mg 3,3', 5,5' de tetrametil de benzina dihidrocloridio (TMBZ [2HCL] o TMBZ) en 25 ml de metanol, adicionar 75 ml de buffer de acetato 0.25 M pH 5); posteriormente se añadió 25 μ l de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Se dejó incubar por 10 minutos, para luego realizar la lectura usando un filtro de 630 nm. El control positivo consistió en 100 μ l de citocromo C (11 μ l de solución stock citocromo C más 1.2 ml de buffer fosfato de potasio) y el control negativo fue 100 μ l de buffer fosfato de potasio.

6.2.5.3. Enzayos enzimáticos de glutatión s-transferasa

Esta prueba realizó la medición del nivel de glutatión s-transferasa presente. En cada pozo se colocó 100 μ l de homogenato de cada mosquito por triplicado, se añadió 100 μ l de glutatión reducido (mezclar 61 mg de glutatión reducido en 100 ml de acetona añadir 90 ml de buffer fosfato de potasio), posteriormente se adicionó 100 μ l de cDNB (disolver 20 mg de 1-cloro-2,4' dinitrobenzeno en 10 ml de acetona, añadir 90 ml de buffer fosfato de potasio), para leer inmediatamente (T_0) usando filtro de 340 nm, se realizó otra lectura a los 10 minutos (T_{10}) usando el mismo filtro.

6.2.5.4. Enzayos enzimáticos de acetilcolinesterasa

Esta prueba se utilizó para realizar la medición de la cantidad de acetilcolinesterasa presente. Como en cada prueba se colocó 100 μ l de homogenato de cada mosquito por triplicado en las placas, se añadió 100 μ l de ATCH (disolver 75 mg de acetiltiocolina iodido [ATCH] en 10 ml de acetona, añadir 90 ml de buffer fosfato de potasio) a cada pozo; posterior a esto se añadió 100 μ l de DTNB (13 mg de ditio-bis-2-ácido nitrobenzoico [DTNB] en 100 ml de buffer fosfato de potasio), la lectura se realizó inmediatamente (T_0) usando un filtro de 415 nm, se hizo otra lectura a los 20 minutos usando el mismo filtro. Los controles negativos fueron 100 μ l de buffer fosfato de potasio por triplicado.

6.2.5.5. Enzayos enzimáticos de acetilcolinesterasa insensible

Para determinar si acetilcolinesterasa insensible se encuentra presente verificamos si el color que adquiere el homogenato en la placa es amarillo bajo lo cual nos sugiere que el sitio blanco no se encuentra alterado (homocigoto dominante), por el contrario si es de color amarillo muy oscuro el sitio blanco estaba alterado (homocigoto recesivo), un color amarillo intermedio nos sugiere que están presentes heterocigotos individuales.

Como en pruebas anteriores, se coloca 100 μ l de homogenato de cada mosquito por triplicado; se añadió 100 μ l de ATCH (disolver 75 mg de acetiltiocolina iodid [ATCH], 21 mg de propoxur en 10 ml de acetona, añadir 90 ml de buffer fosfato de potasio) a cada pozo; se añadió además 100 μ l de DTNB ((13 mg de ditio-bis-2-ácido nitrobenzoico [DTNB] en 100 ml de buffer fosfato de potasio) a cada pozo; para leer inmediatamente (T_0) usando un filtro de 415 nm, se realizó otra lectura a los 20 minutos usando el mismo filtro. El control negativo fue 100 μ l de buffer fosfato de potasio por triplicado.

6.2.6. Análisis de resultados

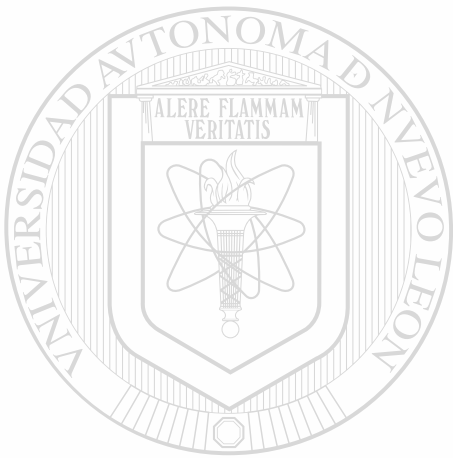
Las dosis diagnóstico (DD) para los insecticidas testados fueron determinadas por la técnica establecida por el CDC de Atlanta, basada en el método recomendado por la OMS, modificada por Brogdon (1984). Para la determinación de DD en mosquitos adultos se utilizaron 100 hembras adultas, sin alimentar, de dos días de edad por cada población, incluyendo la cepa de referencia. Se realizaron 3 repeticiones con diferentes

concentraciones (mayores o menores) o pequeños incrementos entre estas, de cada una de los insecticidas, tomando como base las dosis recomendadas por el CDC. El intervalo de tiempo para la toma de datos de mortalidad se estableció según el tipo de insecticida probado. En el caso de organoclorados y piretroides los datos fueron tomados cada 5 minutos hasta completar una hora; en cuanto a los insecticidas organofosforados y carbamatos fue cada 10 minutos hasta completar una hora, realizándose otra lectura a las 24 horas. En el caso de la determinación de la DD para el larvicida organofosforado temefos, se utilizaron 100 larvas de cuarto estadio temprano, de igual manera se realizaron repeticiones como se señaló anteriormente con los individuos adultos. Con los datos obtenidos se construyó una línea de regresión tiempo-mortalidad para cada población, incluyendo la cepa susceptible y para cada insecticida. Con la población de referencia se estableció un umbral de resistencia para cada insecticida y para cada población.

Debido a que el insecticida piretroide permetrina es el utilizado para el control de las poblaciones adultas de *Ae. aegypti* en todo el territorio nacional según la Norma Mexicana NOM-032-SSA2-2002, los bioensayos enzimáticos se llevaron a cabo utilizando sólo las poblaciones que fueron sometidas a las DD obtenidas para este insecticida. Una vez que la DD fue determinada, como se indica en el método del CDC,

un total de 1 000 mosquitos hembras adultas, sin alimentar, con dos días de edad, por población, fueron sometidas a la presión del insecticida, después de la exposición, fueron separados en dos grupos: sobrevivientes y muertos. La cabeza y tórax de cada mosquito fueron utilizados de manera individual para las pruebas bioquímicas. El mismo procedimiento fue establecido para la cepa susceptible de New Orleans. Seis diferentes enzimas están involucradas con los mecanismos de resistencia, que fueron examinados: α - y β -esterasas, multifunción oxidasas (MFO), glutatión s-transferasas (GST), acetilcolinesterasa (AChE) y acetilcolinesterasa insensible (iAChE). Con los datos de absorbancia obtenidos para cada enzima, para cada población, se creó una base de datos en el programa software Microsoft Excel, paso seguido se obtuvo el valor promedio de la absorbancia por mosquito (tres repeticiones para cada enzima por mosquito, por población). Se estableció el umbral de resistencia sobre la base del máximo valor de absorbancia obtenido para cada enzima en la población de la cepa susceptible (New

Orleans), con base en los umbrales de resistencia se determinó la proporción de resistencia de cada mecanismo enzimático de todas las poblaciones después de la exposición a la DD del insecticida permetrina. Estos datos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA), y la prueba de Tukey fue utilizada para el nivel de significancia de $p \leq 0.05$ en la comparación de los resultados entre las poblaciones que sobrevivieron a la presión de la DD de permetrina.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESULTADOS

7.1. Dosis diagnóstico para los estados de Baja California Norte y Sur, Coahuila, Sonora y Tamaulipas.

Las dosis diagnóstico (DD) para el insecticida permetrina fueron determinadas por la técnica de botella del CDC de Atlanta, basada en el método recomendado por la OMS, modificada por Brogdon (1984).

La tabla 3 muestra los valores de DD ($\mu\text{g}/\text{ml}$) del insecticida permetrina (grado técnico, 98%, Chem. Service, West Chester, PA) para las poblaciones de *Ae. aegypti* pertenecientes a los estados de Baja California Norte, Baja California Sur, Coahuila, Sonora y Tamaulipas obtenidos de la relación tiempo-mortalidad.

Tabla 3. Dosis diagnóstico del insecticida permetrina para las poblaciones de *Ae. aegypti* de los estados de Baja California Norte, California Sur, Coahuila, Sonora y Tamaulipas.

Población	DD (μg de i.a.)
Baja California Norte	172
Baja California Sur	172
Coahuila	86
Sonora	86
Tamaulipas	110

i.a.: ingrediente activo

Para las poblaciones pertenecientes a Tamaulipas, fueron también determinados los valores de DD para los insecticidas: malatión, bifentrina y cipermetrina; los resultados obtenidos a partir de la relación tiempo-mortalidad se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Dosis diagnóstico de tres diferentes insecticidas para las poblaciones de *Ae. aegypti* del estado de Tamaulipas.

Insecticida	DD (µg de i.a.)
Malatión	40
Bifentrina	3
Cipermetrina	3

i.a.: ingrediente activo

En la tabla 5, se reportan los valores de las DD obtenidas de los insecticidas: DDT, malatión, propoxur, temefos, bifentrina, lamdacihalotrina y cipermetrina para las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Baja California Sur.

Tabla 5. Dosis diagnóstico de los insecticidas DDT, malatión, propoxur, temefos, bifentrina, cipermetrina y lamdacihalotrina, para poblaciones de *Ae. aegypti* de los estados de Baja California Norte y Sur.

Insecticida	DD (µg de i.a.)
DDT	1 000
Malatión	250
Propoxur	10
Temefos	1 700
Bifentrina	60
Cipermetrina	60
Lamdacihalotrina	60

i.a.: ingrediente activo

7.2. Actividad enzimática y umbral de tolerancia.

Una vez que la DD fue determinada, como se indica en el método, un total de 1000 mosquitos hembras adultas, sin alimentar, con dos días de edad, por población, fueron sometidas a los presión de los insecticidas, después de la exposición, fueron separados en dos grupos: sobrevivientes y muertos. La cabeza y tórax de cada mosquito fueron utilizados de manera individual para las pruebas bioquímicas. El mismo procedimiento fue establecido para la cepa susceptible de New Orleans, la cual fue utilizada como referencia para establecer el umbral de resistencia.

Seis diferentes enzimas están involucradas con los mecanismos de resistencia que fueron examinados: α - y β -esterasas, multifunción oxidasas (MFO), glutación s-transferasas (GST), acetilcolinesterasa (AChE) y acetilcolinesterasa insensible (iAChE).

El umbral de susceptibilidad (el máximo valor obtenido para la cepa susceptible (New Orleans) fue determinado para cada enzima y para cada grupo (sobrevivientes y muertos) después de la exposición a la DD de permetrina para las poblaciones de Baja California Norte y Sur se muestran en las tablas 6 y 7.

Tabla 6. Porcentaje de hembras de *Ae. aegypti* seleccionadas con la DD de permetrina de Baja California Norte que superaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.

Pruebas	Tijuana		Tecate	
	Sobrevivientes	Muertos	Sobrevivientes	Muertos
α esterasas	98.9	0	100.00	0
β esterasas	0	21.10	98.90	98.90
Oxidasas	0	2.22	0	2.22
GST	57.80	0	0	50.00
AChE	0	5.55	0	70.00
iAChE	5.55	1.10	5.55	56.70

Tabla 7. Porcentaje de hembras de *Ae. aegypti* seleccionadas con la DD de permetrina de Baja California Sur que superaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.

Pruebas	Ciudad Constitución		Loreto	
	Sobrevivientes	Muertos	Sobrevivientes	Muertos
α esterasas	99.20	70.60	86.80	47.00
β esterasas	20.80	94.4	0	89.8
Oxidasas	65.40	44.4	47.00	14.20
GST	81.00	0	13.40	0
AChE	8.00	4.60	2.20	12.00
iAChE	25.8	11.60	42.40	6.40

El umbral de susceptibilidad (el máximo valor obtenido para la cepa susceptible (New Orleans) fue determinado para cada enzima y para cada grupo (sobrevivientes y

muestras) después de la exposición a la DD de permetrina para la población de Coahuila se muestra en la tabla 8.

Tabla 8. Porcentaje de hembras de *Ae. aegypti* seleccionadas con la DD de permetrina del estado de Coahuila que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.

Pruebas	Torreón	
	Sobrevivientes	Muertos
α esterasas	46.0	45.0
β esterasas	0.4	0.0
Oxidasas	18.6	19.0
GST	14.0	12.6
AChE	7.2	8.8
iAChE	100.0	0.0

El umbral de susceptibilidad (el máximo valor obtenido para la cepa susceptible (New Orleans) fue determinado para cada enzima y para cada grupo (sobrevivientes y muertos) después de la exposición a la DD de permetrina para las poblaciones de Sonora se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentaje de hembras de *Ae. aegypti* seleccionadas con la DD de permetrina del estado de Sonora que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.

Pruebas	Hermosillo		Sonoita	
	Sobrevivientes	Muertos	Sobrevivientes	Muertos
α esterasas	94.2	37.5	83.3	70.8
β esterasas	0	0	17.5	15.8
Oxidasas	23.2	70	44.2	4.2
GST	18.3	20	15.8	13.3
AChE	0.8	6.7	4.1	0
iAChE	4.1	24	3.3	59.1

El umbral de susceptibilidad (el máximo valor obtenido para la cepa susceptible (New Orleans) fue determinado para cada enzima y para cada grupo (sobrevivientes y muertos) después de la exposición a la DD de permetrina para las poblaciones de Tamaulipas se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Porcentaje de hembras de *Ae. aegypti* seleccionadas con la DD de permetrina del estado de Tamaulipas que sobrepasaron el umbral de resistencia establecido por la cepa susceptible New Orleans.

Pruebas	Reynosa		Matamoros		Nuevo Laredo	
	Sobrevivientes	Muertos	Sobrevivientes	Muertos	Sobrevivientes	Muertos
α esterazas	3.6	30.4	6.6	8.6	0	0
β esterazas	6	7.8	0	0.4	0	0.8
Oxidazas	6.8	1.2	8.2	0.8	3.4	0
GST	6.4	0.8	8.2	5.6	0.2	0.2
AChE	6.4	1.8	2.8	6.8	0.4	0.8
iAChE	15	0.2	22	0	21	1.2

7.3. Análisis y comparaciones de los resultados enzimáticos obtenidos entre las poblaciones estudiadas.

Los datos obtenidos para cada prueba bioquímica fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA), y la prueba de Tukey fue utilizada para el nivel de significancia de $p \leq 0.05$ en la comparación de los resultados entre las poblaciones que sobrevivieron a la presión de la DD de permetrina.

7.3.1. Comparación de α esterazas entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

En la tabla 11 se pueden observar que las poblaciones que presentaron las medias más altas fueron Ciudad Constitución, seguida por Tecate, Tijuana y Loreto, habiendo una diferencia significativa entre cada una de las poblaciones, la cepa susceptible obtuvo una media de 0.388 nm que fue la menor, al comparar las graficas de la figura 23 se

puede observar que todas las poblaciones superaron el umbral de tolerancia determinado por la cepa de New Orleans.

7.3.2. Comparación de α esterazas entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

Las poblaciones de Tecate y Ciudad Constitución son significativamente diferentes entre si y diferentes a las poblaciones de Loreto y Tijuana que no tienen diferencia significativa entre ellas, como se observa en la tabla 11. La población de referencia obtuvo la mayor media y fue estadísticamente diferente a las demás poblaciones; como se observa en la figura 24 ninguna de las poblaciones sobrepasó el umbral de tolerancia.

7.3.3. Comparación de β esterazas entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

Como se observa en la tabla 11, las poblaciones con las medias menores fueron las de Loreto (0.6397) y Tijuana (0.638 nm) no habiendo diferencia significativa entre ellas, New Orleans obtuvo una media de 0.9070 nm siendo estadísticamente diferente a las demás poblaciones, Tecate obtuvo una media de 1.218 nm, siendo significativamente diferente a las demás poblaciones, por último la población de Ciudad Constitución obtuvo la media mayor de 1.638, estos resultados pueden observarse en la figura 23.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

7.3.4. Comparación de β esterazas entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

Los resultados se observan en la tabla 11, destacando que la población que obtuvo la media menor fue la cepa de referencia con un valor de 0.510 nm, seguida de Tijuana con una media de 0.606 nm, sin embargo entre las poblaciones de Tecate y Ciudad Constitución no hubo diferencia significativa entre ellas (medias 0.744 nm y 0.780 nm respectivamente), la población de Loreto obtuvo una media de 0.840 que fue la mayor obtenida y significativamente mayor que el resto de las poblaciones. En la figura 24, puede observarse que todas las poblaciones sobrepasaron el umbral establecido como se confirma con los datos estadísticos obtenidos.

7.3.5. Comparación de oxidasas entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

La única población que obtuvo un resultado mayor que el obtenido para la cepa susceptible fue Loreto con una media de 0.155 nm, no existiendo una diferencia significativa entre las poblaciones de Tijuana, Ciudad Constitución y New Orleans, sin embargo, con la población de Tecate si existió una diferencia significativa pero estuvo por debajo de las medias de las demás poblaciones como se puede observar en la tabla 11 y en la figura 23.

7.3.6. Comparación de oxidasas entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

Solo existió diferencia significativa entre dos grupos formados por Tecate, Tijuana y New Orleans (medias 0.123 nm, 0.133 nm, y 0.125 nm respectivamente), no habiendo diferencia significativa entre ellas pero si con el grupo conformado por Loreto y Ciudad Constitución (medias de 0.179 nm y 0.170 nm respectivamente), observándose estos resultados en la figura 24.

7.3.7. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

En la tabla 11 se observan las medias que obtuvieron las poblaciones, siendo la población de Tecate la que obtuvo la menor: -0.010 nm, existiendo diferencia significativa entre esta y las poblaciones de referencia y Tijuana, sin embargo, si entre las poblaciones de Loreto y Ciudad Constitución donde si encontramos diferencia significativa, al comparar estos resultados con la figura 23, podemos observar que la población de Tecate no superó el umbral establecido por la cepa de referencia, Tijuana supero este umbral pero en una pequeña proporción pero no demostrando una significancia entre las medias.

7.3.8. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

En relación con este mecanismo enzimático, podemos observar en la tabla 11, que hubo diferencia significativa entre el grupo conformado por Loreto con una media de 0.016 y el grupo conformado por Tijuana y New Orleans (medias 0.032 nm y 0.037 nm respectivamente), el tercer grupo estuvo conformado por las poblaciones de Ciudad Constitución y Tecate, con unas medias de 0.052 nm y 0.061 nm respectivamente. Estos resultados pueden observarse en la figura 24, donde encontramos que a pesar de que Loreto superó el umbral establecido por la cepa de referencia, no represento una diferencia significativa en el análisis.

7.3.9. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

Los resultados se muestran en la tabla 11, donde se observa que todas las poblaciones fueron encontradas por debajo de la media establecida por la cepa de referencia, esta tendencia podemos encontrarla en la figura 23, aunque la población de Loreto sobrepaso el umbral no se denota una diferencia significativa.

7.3.10. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

En la comparación de medias que se observa en la tabla 11 se encuentra que la población de Tecate obtuvo la media de 0.254 nm encontrándose diferencia significativa entre este resultado y el grupo formado por las poblaciones de Ciudad Constitución, Tijuana y New Orleans con medias de 0.147 nm, 0.159 nm y 0.158 nm respectivamente. Así mismo también se encontró diferencia significativa ente estas poblaciones y Loreto (media 0.021 nm), que fue la población que obtuvo la menor media.

7.3.11. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos que sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

En cuanto a los resultados para esta prueba, se observa en la tabla 11 que el nivel más alto de actividad enzimática lo presento la población de Loreto con una media de

0.22 nm siendo significativamente diferente del grupo conformado por las poblaciones de la cepa de referencia, Ciudad Constitución y Tijuana con medias de 0.023 nm, 0.047 nm y 0.050 nm respectivamente. La población que obtuvo la menor media y fue significativamente diferente del resto de las poblaciones fue Tecate con una media de -0.038 nm.

7.3.12. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur.

En la tabla 11 se observa una diferencia significativa entre los grupos conformados por la población de Tijuana con una media de 0.0039 nm y la cepa de referencia con una media de 0.0052 nm; el grupo conformado por Loreto y Tecate con medias de 0.0231 nm y 0.0281 nm respectivamente y la población de Ciudad Constitución (media 0.0399 nm), esto se corrobora cuando se observa la figura 24.

La población de Coahuila se comparó con los resultados obtenidos por Loaiza (2005) con la población de Monterrey, Nuevo León, debido a que los individuos de ambas poblaciones fueron tratadas con la misma dosis diagnóstico de 86 μ g de i.a.

7.3.13. Comparación de α esterasas entre los individuos de la población del estado de Coahuila.

En relación con los resultados obtenidos en este bioensayo, el análisis estadístico de comparación de medias según Tukey, mostró diferencias significativas en todas las poblaciones (tabla 12). Las medias de las poblaciones en orden descendente fueron: Monterrey no sobrevivientes 0.734 nm, Torreón no sobrevivientes 0.704 nm, Torreón sobrevivientes 0.666 nm, New Orleans no sobrevivientes 0.624 nm, Monterrey sobrevivientes 0.603 nm y New Orleans sobrevivientes 0.592 nm. De acuerdo a sus medias poblacionales, Monterrey y Torreón muestran una tendencia hacia una mayor actividad enzimática de α esterasas que la población de New Orleans. Estos resultados podemos apreciarlos claramente en las figuras 25 y 26.

7.3.14. Comparación de β esterasas entre los individuos de la población del estado de Coahuila.

El análisis estadístico de comparación de medias según Tukey, no mostró diferencias entre las poblaciones New Orleans sobrevivientes y New Orleans no sobrevivientes, sin embargo, entre el resto de las poblaciones si se observaron diferencias significativas. Las medias de las poblaciones en orden descendente fueron; New Orleans sobrevivientes 0.993 nm, New Orleans no sobrevivientes 0.991 nm, Monterrey no sobrevivientes 0.905 nm, Monterrey sobrevivientes 850 nm, Torreón sobrevivientes 0.765 nm y Torreón no sobrevivientes 0.715 nm (tabla 12). Observándose en las figuras 25 y 26 estos resultados.

7.3.14. Comparación de oxidasas entre los individuos de la población del estado de Coahuila.

En esta prueba, el análisis estadístico de comparación de medias según Tukey, no mostró diferencias entre las poblaciones de Monterrey sobrevivientes y Monterrey no sobrevivientes, sin embargo, entre el resto de las poblaciones si se observaron diferencias significativas. Las medias de las poblaciones en orden descendente fueron; Monterrey no sobrevivientes 0.214 nm, Monterrey sobrevivientes 0.212 nm, New Orleans sobrevivientes 0.123 nm, Torreón sobrevivientes 0.106 nm, New Orleans no sobrevivientes 0.095, Torreón no sobrevivientes 0.091 nm (tabla 12).

7.3.15. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de la población del estado de Coahuila.

El análisis estadístico de comparación de medias según Tukey, no mostró diferencias entre las poblaciones de New Orleans sobrevivientes y Monterrey sobrevivientes, tampoco entre Torreón sobrevivientes y Torreón no sobrevivientes, sin embargo, entre el resto de las poblaciones si se observaron diferencias significativas. Las medias de las poblaciones en orden descendente fueron; New Orleans no sobrevivientes 0.062 nm, New Orleans sobrevivientes 0.058, Monterrey sobrevivientes 0.057 nm, Monterrey no sobrevivientes 0.048 nm, Torreón sobrevivientes 0.043 nm y Torreón no sobrevivientes 0.043 nm (tabla 12).

7.3.16. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de la población del estado de Coahuila.

El análisis estadístico de comparación de medias según Tukey, mostró diferencias significativas en todas las poblaciones (tabla 12). Las medias de las poblaciones en orden descendente fueron; New Orleans no sobrevivientes 0.213 nm, New Orleans sobrevivientes 0.190 nm, Torreón no sobrevivientes 0.165 nm, Torreón sobrevivientes 0.156 nm, Monterrey sobrevivientes 0.136 nm y Monterrey no sobrevivientes 0.127 nm.

7.3.17. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de la población del estado de Coahuila.

En relación con acetilcolinesterasa insensible, el análisis estadístico de comparación de medias según Tukey, no mostró diferencias entre las poblaciones New Orleans sobrevivientes y New Orleans no sobrevivientes, sin embargo, entre el resto de las poblaciones si se observaron diferencias significativas. Las medias de las poblaciones en orden descendente fueron; Torreón sobrevivientes 0.764 nm, Torreón no sobrevivientes 0.011 nm, New Orleans sobrevivientes 0.003 nm, New Orleans no sobrevivientes 0.001 nm, Monterrey no sobrevivientes -0.006 nm y Monterrey sobrevivientes -0.010 nm (tabla 12).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 11. Media y desviación estándar de las absorbancias obtenidas en cada ensayo bioquímico en las poblaciones de hembras adultas de los estados de Baja California Norte y Sur expuestas a la DD de permetrina.

Población	α Esterasas		β Esterasas		Oxidazas		GST		AChE		iAChE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
New Orleans (s)	0.388C	0.049	0.907C	0.506	0.084B	0.018	0.026B	0.016	0.195A	0.060	0.002B	0.003
New Orleans (m)	0.552A	0.021	0.510A	0.035	0.125A	0.018	0.037B	0.009	0.158B	0.036	0.005A	0.004
Ciudad Construcción (s)	1.184A	0.105	1.638A	0.119	0.082B	0.018	0.073A	0.020	0.148B	0.032	0.004B	0.003
Ciudad Construcción (m)	0.433B	0.081	0.780C	0.173	0.170B	0.082	0.052C	0.024	0.147B	0.061	0.039C	0.048
Loreto (s)	0.554D	0.173	0.639D	0.060	0.064A	0.020	0.179A	0.051	0.022A	0.034	0.554D	0.073
Loreto (m)	0.500B	0.045	0.840D	0.096	0.052B	0.052	0.016A	0.050	0.021A	0.347	0.028B	0.031
Tijuana (s)	0.684C	0.065	0.638D	0.089	0.088B	0.014	0.034B	0.062	0.094C	0.044	0.005B	0.003
Tijuana (m)	0.487C	0.032	0.606B	0.038	0.024A	0.024	0.032B	0.009	0.159B	0.046	0.003A	0.005
Tecate (s)	0.844B	0.078	1.218B	0.124	0.049C	0.007	-0.010C	0.040	0.133B	0.063	-0.004C	0.024
Tecate (m)	0.3916C	0.059	0.744C	0.058	0.032A	0.032	0.061C	0.022	0.254C	0.058	0.023B	0.022

(s) – sobrevivientes, DE – Desviación estándar. Nivel de significancia ($p < 0.01$), diferentes letras indican diferencia significativa

Tabla 12. Media y desviación estándar de las absorbancias medidas en cada ensayo bioquímico en la población de hembras adultas del estado de Coahuila expuestas a la DD de permetrina comparadas con la población de Monterrey.

Población	α Esterasas		β Esterasas		Oxidazas		GST		AChE		iAChE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
New Orleans (s)	0.592F	0.063	0.993A	0.042	0.123B	0.024	0.058B	0.007	0.190B	0.032	0.003C	0.006
New Orleans (m)	0.624D	0.073	0.099F	0.059	0.095C	0.001	0.062A	0.011	0.213A	0.039	0.001C	0.029
Monterrey (s)	0.603E	0.108	0.850C	0.115	0.212A	0.101	0.057B	0.005	0.136E	0.064	-0.010E	0.037
Monterrey (m)	0.734A	0.130	0.905B	0.230	0.214A	0.137	0.048C	0.042	0.127F	0.067	-0.006D	0.029
Torreón (s)	0.666C	0.021	0.765D	0.015	0.106B	0.013	0.043D	0.004	0.156D	0.004	0.764A	0.007
Torreón (m)	0.704B	0.011	0.715E	0.012	0.091C	0.008	0.043D	0.008	0.165C	0.036	0.011B	0.011

(s) sobrevivientes (m) muertos, DE – Desviación estándar. Nivel de significancia ($p < 0.01$), diferentes letras indican diferencia significativa

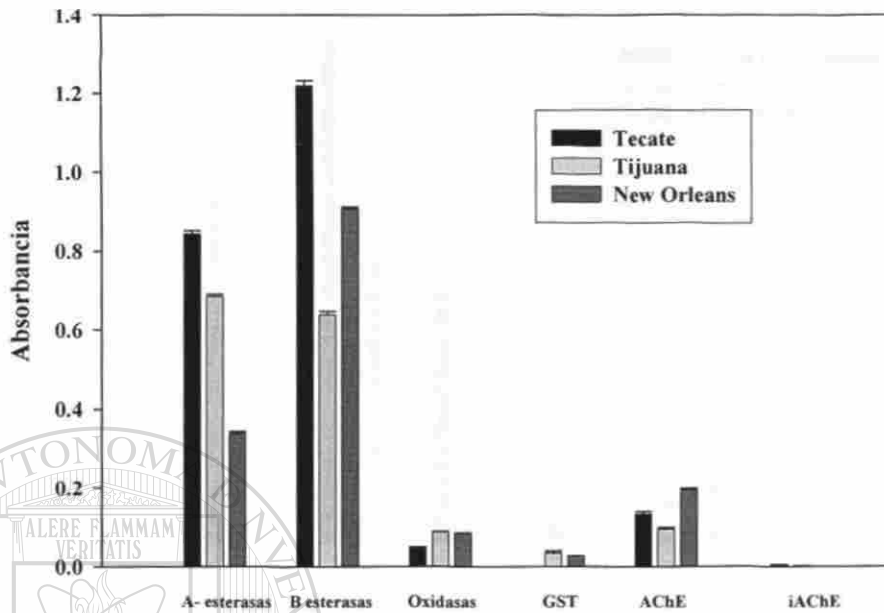


Figura 21. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Norte en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.



Figura 22. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Norte en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

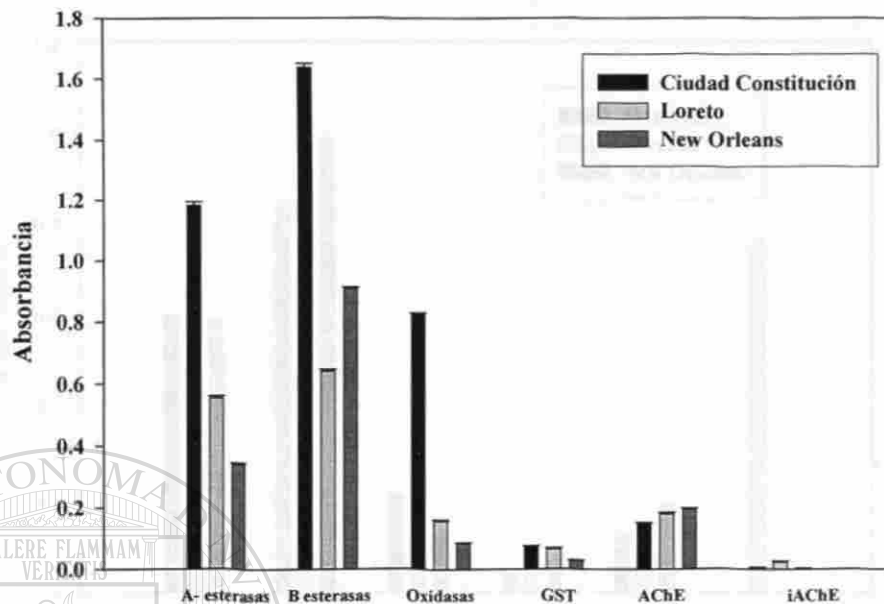


Figura 23. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Sur en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

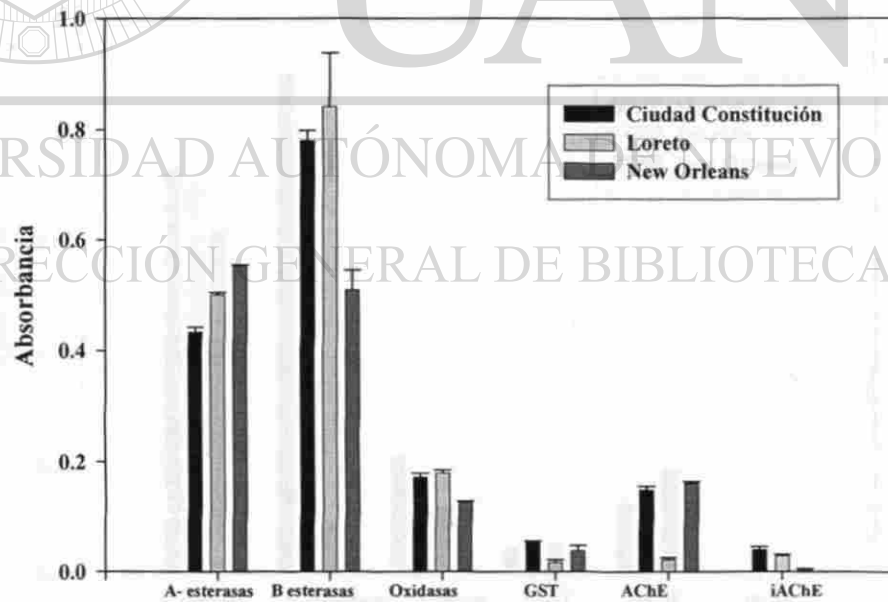


Figura 24. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Baja California Sur en estudio y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

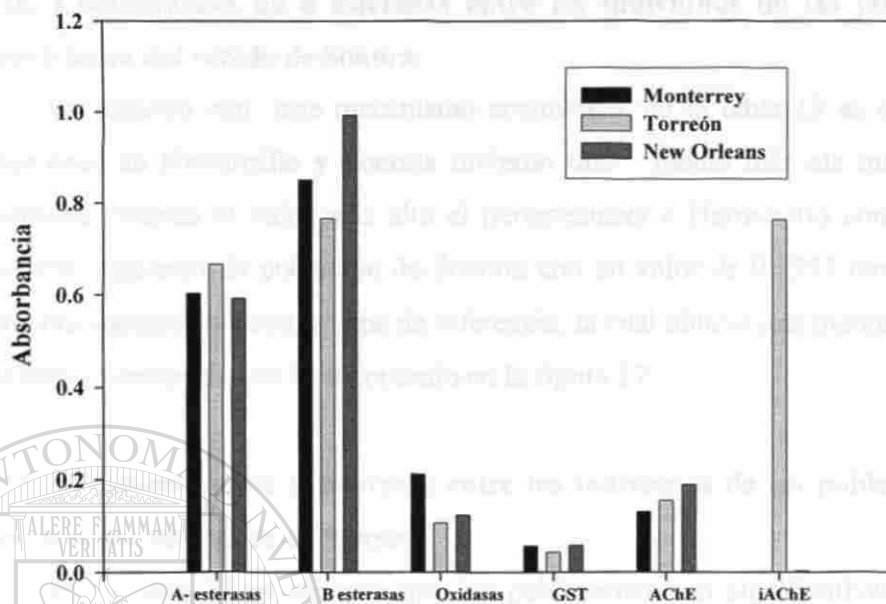


Figura 25. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones de los estados de Coahuila comparados con la población de Monterrey y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

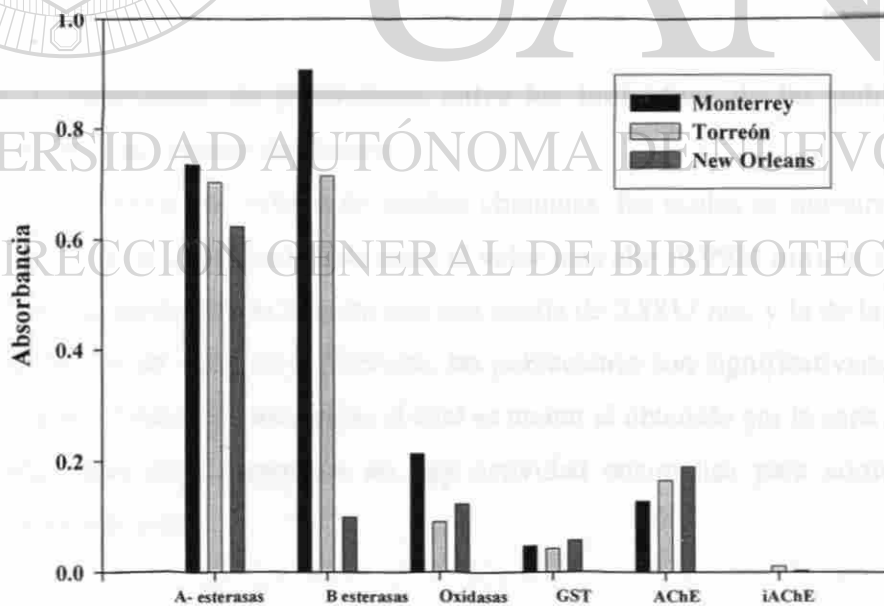


Figura 26. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones de los estados de Coahuila comparados con la población de Monterrey y la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

7.3.18. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

En relación con este mecanismo enzimático, en la tabla 13 se observa que las poblaciones de Hermosillo y Sonoita tuvieron una media más alta que la población susceptible. Siendo el valor más alto el perteneciente a Hermosillo con una media de 0.838 nm, siguiendo la población de Sonoita con un valor de 0.7553 nm, habiendo una diferencia significativa con la cepa de referencia, la cual obtuvo una media de 0.5909 nm. Lo anterior concuerda con lo encontrado en la figura 27.

7.3.19. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.

En la tabla 13 se observa que las poblaciones son significativamente distintas entre sí. La media de la población susceptible fue la más baja con un valor de 0.6204 nm, siguiendo con un valor de 0.6941 nm la población de Hermosillo, siendo la más alta media con un valor de 0.7561 nm la perteneciente a la población de Sonoita. Esto se ajusta a lo que se muestra en la figura 28.

7.3.20. Comparación de β esterasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

Al comparar los valores de medias obtenidas, las cuales se muestran en la tabla 13, la media de la cepa susceptible tiene el valor más alto (0.9924 nm), le sigue en valor decreciente la población de Sonoita con una media de 0.8817 nm, y la de la población de Hermosillo con un valor de 0.7299 nm; las poblaciones son significativamente distintas entre sí, pero el valor de sus medias el cual es menor al obtenido por la cepa New Orleans nos indica que estadísticamente no hay actividad enzimática para conferir que este mecanismo está activo.

7.3.21. Comparación de β esterasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.

En los resultados de comparación de medias (tabla 13), podemos encontrar que sobresale la población de Sonoita ya que obtuvo un valor mayor comparado con la cepa

de referencia, esta media fue de 1.089 nm, mientras que la obtenida por New Orleans fue de 0.9912 nm, en contraste a esto encontramos que Hermosillo obtuvo un valor menor que estas, 0.8467 nm, por lo que encontramos que todas las poblaciones fueron distintas entre si, esto podemos observarlo también en la figura 27.

7.3.22. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

Para las bioensayos de este mecanismo, encontramos que los resultados que se observan en la tabla 13, destacan que la población que obtuvo una media menor fue la cepa de referencia con un valor de 0.1230 nm, siguiendo en orden mayor la población de Hermosillo con una media de 0.1415 nm y por ultimo la población de Sonoita con un valor de 0.1941 nm, la cual fue la mayor media. Entre la población de Hermosillo y New Orleans no hay diferencia significativa, pero si entre la población de Sonoita y esta ultima, lo cual se puede observar en la figura 27 donde el 50% de los individuos que sobrevivieron sobrepasaron el umbral establecido por esta.

7.3.23. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.

En referencia a estos resultados encontramos en la comparación de medias (tabla 13), que hay una diferencia significativa entre las tres poblaciones, siendo la población de Hermosillo la que obtuvo el mayor valor de 0.1220 nm, después se encuentra en valor decreciente la cepa de referencia con una media de 0.951 nm y por ultimo la población de Sonoita con un valor de 0.0755 nm. Al comparar estos resultados con lo que se observa en la figura 28, se puede confirmar ya que en la gráfica se observa que los individuos de esta población (Hermosillo) superó el umbral establecido por la cepa de referencia.

7.3.24. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

En la tabla 13 se pueden observar las medias obtenidas por estas poblaciones para esta prueba enzimática; estableciéndose que la cepa de referencia, New Orleans, fue la que obtuvo la media con mayor valor, siendo este de 0.0580 nm, seguida por Hermosillo

y Sonoita con medias de 0.05264 nm y 0.03343 nm respectivamente. Estadísticamente no hay diferencia significativa entre la cepa de referencia y Hermosillo, pero si existe entre Sonoita y la cepa de referencia, esto concuerda con lo observado en la figura 27 donde podemos observar que una pequeña parte de la población sobrepasó el umbral establecido.

7.3.24. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

Para esta prueba, los resultados que se pueden observar en la tabla 13, muestran que la cepa de New Orleans obtuvo una media con un valor de 0.06191 nm, Hermosillo obtuvo una media de 0.4788 nm y Sonoita, 0.05504 nm la media que obtuvo; encontrándose sólo diferencia significativa entre Hermosillo y el grupo formado por las otras dos poblaciones.

7.3.25. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

En esta prueba se observa que existe una diferencia significativa entre las tres poblaciones al comparar las medias que obtuvieron (tabla 13), las cuales fueron 0.1916 nm, 0.1329 nm y 0.08563 nm para New Orleans, Hermosillo y Sonoita respectivamente. Los valores obtenidos por las dos últimas poblaciones están por debajo de la obtenida por la cepa de referencia, esto concuerda con lo que se observa en la figura 27, en la cual casi es nulo el porcentaje de individuos que sobrepasaron el umbral establecido por la cepa de referencia.

7.3.26. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.

En la tabla 13 se observa que al comparar las medias obtenidas, la población que obtuvo la media con el valor más alto fue New Orleans con 0.2133 nm, seguida en orden decreciente por Hermosillo (media de 0.1428 nm) y Sonoita (media de 0.08833 nm). Esto concuerda con los resultados que se observan en la figura 28.

7.3.27. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

Aquí podemos observar que como muestra la tabla 13, la cepa susceptible obtuvo el valor más alto con una media de 0.00366 nm, seguida en orden decreciente la población de Sonoita con una media de 0.00351 nm y la población de Hermosillo con un valor de -0.0214 nm, siendo esta última significativamente diferente al grupo conformado por las dos primeras poblaciones mencionadas, ya que entre estas no existe diferencia significativa. Estos resultados podemos observarlos en la figura 27.

7.3.28. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.

Al observar la tabla 13, podemos constatar que la población de Hermosillo obtuvo el valor de media más bajo el cual fue de -0.0296 nm, siguiendo en orden ascendente la cepa de New Orleans con una media de 0.000953 nm y el valor más alto lo obtuvo la población de Sonoita con una media de 0.00299 nm. Siendo solamente la población de Hermosillo diferencia significativamente a las otras dos poblaciones.

7.3.29. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

En esta comparación de medias, las cuales pueden observarse en la tabla 14, se encontró que hay diferencia significativa entre las tres poblaciones estudiadas. La figura 29 nos indica que la cepa susceptible obtuvo la mayor media con un valor de 0.8833 nm, seguida por la población de Matamoros que obtuvo una media de 0.7629 nm, la población de Reynosa presentó una media de 0.6504 nm, mientras que la población de Laredo obtuvo la media más baja la cual fue de 0.5795.

7.3.30. Comparación de α esterasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

Al analizar las comparaciones de medias de la tabla 14, encontramos que no hay diferencia significativa entre las poblaciones de Matamoros y la cepa susceptible, en contraste la localidad de Reynosa y Nuevo Laredo son diferentes significativamente entre

ellas y las también con las otras dos poblaciones primeramente mencionadas. Al hacer la comparación con la figura 30, la población de Reynosa sobrepasó el umbral de resistencia con la media de mayor valor, 0.8282 nm. La población de Matamoros también sobrepasó el umbral de resistencia con una media de 0.7326 nm.

7.3.31. Comparación de β esterasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

En el análisis de comparación de medias que puede observarse en la tabla 14, se encontró que las poblaciones de Nuevo Laredo y Matamoros son significativamente iguales, pero diferentes a las poblaciones de Reynosa y la cepa susceptible. La figura 29 nos muestra que la población de Reynosa sobrepasó el umbral establecido y presentó la media más alta con un valor de 1.0489 nm, mientras que las poblaciones de Matamoros y Nuevo Laredo obtuvieron las medias de 0.7334 nm y 0.6920 nm respectivamente, pero no sobrepasaron el umbral establecido.

7.3.32. Comparación de β esterasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

En la comparación de medias que puede observarse en la tabla 14, se muestra que las poblaciones de Matamoros y Reynosa no muestran diferencia significativa entre ellas, mientras que Nuevo Laredo y la cepa susceptible son diferente significativamente entre ellas y el grupo formado por las dos poblaciones primeramente mencionadas. La cepa susceptible arrojó la media con más alto valor. La figura 30 muestra que las tres poblaciones estudiadas sobrepasan el umbral de resistencia pero no con un porcentaje significativo.

7.3.33. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

En la comparación de medias (tabla 14) se observa que las poblaciones de Matamoros, Nuevo Laredo y la cepa susceptible son significativamente iguales, sin embargo la población de Reynosa fue diferente significativamente al grupo formado por las poblaciones primeramente mencionadas.

7.3.34. Comparación de oxidasas entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

La tabla 14 muestra la comparación de medias, indicando que las poblaciones de Nuevo Laredo, Reynosa y la cepa susceptible no muestran diferencia significativa entre ellas, pero la población de Matamoros fue significativamente diferente al grupo formado por las poblaciones mencionadas.

7.3.35. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Sonora.

Al analizar la tabla 14 de la comparación de medias, se observa que la población de Matamoros y la cepa susceptible son iguales significativamente, pero diferentes a las poblaciones de Reynosa y Nuevo Laredo. Al observar la figura 29 puede observarse que las tres poblaciones estudiadas sobrepasaron el umbral establecido por la cepa de referencia.

7.3.36. Comparación de glutatión s-transferasa entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Sonora.

En la tabla 14 se muestran las medias obtenidas por las poblaciones estudiadas, observándose que las poblaciones de Nuevo Laredo, Reynosa y Matamoros así como la cepa de referencia son significativamente iguales. La figura 30 nos indica que las medias fueron muy similares, aun cuando la cepa susceptible obtuvo la media más alta con un valor de 0.0692 nm, seguida de Matamoros con una media de 0.0589 nm y Laredo con 0.0510 nm.

7.3.37. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

En el análisis de medias que se puede observar en la tabla 14, se indica que la población de Matamoros y Reynosa son significativamente iguales entre si pero diferentes a la población de Nuevo Laredo y la cepa susceptible. En la figura 29 encontramos que las tres poblaciones superaron el umbral de resistencia establecido, pero no en gran proporción.

7.3.38. Comparación de acetilcolinesterasa entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

En la comparación de medias que puede observarse en la tabla 14, se encontró que las poblaciones estudiadas presentaron diferencias *significativas* entre cada una de ellas. La figura 30 nos indica que Reynosa, Matamoros y Nuevo Laredo sobrepasaron el umbral de resistencia comparados con la cepa de referencia. La cepa susceptible presento la media más alta con un valor de 0.14622 nm, mientras que las poblaciones de Matamoros, Reynosa y Nuevo Laredo, obtuvieron medias de 0.12373 nm, 0.10869 y 0.0623 nm.

7.3.39. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

En la tabla 14 podemos encontrar que al hacer las comparaciones de medias, la población de Nuevo Laredo y la cepa susceptible son *significativamente iguales* pero diferentes al grupo formado por Reynosa y Matamoros, las cuales son *significativamente iguales* entre sí. La figura 30 nos muestra que las tres poblaciones estudiadas sobrepasaron el umbral de resistencia.

7.3.40. Comparación de acetilcolinesterasa insensible entre los individuos de las poblaciones que no sobrevivieron del estado de Tamaulipas.

Al realizar la comparación de medias, la cual puede observarse en la tabla 14, se encontró que las poblaciones de Nuevo Laredo y Reynosa son *significativamente iguales*, mientras que la cepa susceptible y la población de Matamoros también son *iguales* *significativamente iguales* pero diferentes al grupo formado por las dos primeras poblaciones mencionadas.

Tabla 13. Media y desviación estándar de las absorbancias medidas en cada ensayo bioquímico en la población de hembras adultas del estado de Sonora expuestas a la DD de permetrina.

Population	α Esterasas		β Esterasas		Oxidazas		GST		AChE		iAChE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
New Orleans (s)	0.5909C	0.06446	0.9924A	0.04277	0.1230A	0.02484	0.0580A	0.07852	0.1906C	0.0322	0.0366A	0.0065
New Orleans (m)	0.6204D	0.07332	0.9912D	0.05935	0.0951D	0.01616	0.0619C	0.0165	0.2133D	0.0393	0.00095D	0.0142
Hermosillo (s)	0.8380A	0.1278	0.7299B	0.06727	0.1415A	0.04399	0.0526A	0.03296	0.1329B	0.0555	-0.0210B	0.0284
Hermosillo (m)	0.6941E	0.0661	0.8467E	0.1054	0.1222C	0.03274	0.0478D	0.03214	0.1468E	0.0705	-0.0796C	0.0400
Sonora (s)	0.7553B	0.08844	0.8817C	0.1275	0.1941B	0.1032	0.0334B	0.03992	0.0856A	0.1038	0.03500A	0.0208
Sonora (m)	0.7561F	0.09400	1.0897F	0.1066	0.0760D	0.03197	0.0550C	0.02403	0.0833F	0.0725	0.0029D	0.0223

(s)– sobrevivientes (m) muertos, DE= Desviación estándar Nivel de significancia (p< 0.05) diferentes letras indican diferencia no significativa

Tabla 14. Media y desviación estándar de las absorbancias medidas en cada ensayo bioquímico en la población de hembras adultas del estado de Tamaulipas expuestas a la DD de permetrina.

Population	α Esterasas		β Esterasas		Oxidazas		GST		AChE		iAChE	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
New Orleans (s)	0.8833D	0.1313	1.0489D	0.1372	0.1139C	0.0236	.00795B	0.0269	0.1524E	0.0481	-0.018C	0.0199
New Orleans (m)	0.7485A	0.1128	0.9327A	0.1025	0.1319A	0.0889	0.0692A	0.0537	0.1462D	0.0496	-0.0063B	0.0266
Reynosa (s)	0.6504E	0.1904	0.8780E	0.3620	0.1246D	0.0361	0.0058C	0.0526	0.1293F	0.0743	0.0507D	0.0050
Reynosa (m)	0.8282B	0.2702	0.8133B	0.2498	0.1211A	0.0523	0.0583A	0.0627	0.1086C	0.0722	-0.049A	0.2322
Matamoros (s)	0.7629F	0.2119	0.7334F	0.2068	0.1138C	0.0471	0.0830B	0.0442	0.1224F	0.0633	0.0075D	0.0075
Matamoros (m)	0.7326A	0.1567	0.7853B	0.1686	0.0958B	0.0859	0.0589A	0.0582	0.1237B	0.0743	0.0761B	0.0076
Nuevo Laredo (s)	0.5795G	0.1187	0.6920F	0.0935	0.1098C	0.0287	0.0452D	0.0266	0.0096G	0.0635	-0.020C	0.0035
Nuevo Laredo (m)	0.5803C	0.1141	0.7044C	0.1770	0.1154A	0.1223	0.051A	0.1714	0.0062A	0.0412	-0.0088A	0.0088

(s) sobrevivientes (m) muertos DE Desviación estándar Nivel de significancia (p< 0.05) diferentes letras indican diferencia significativa

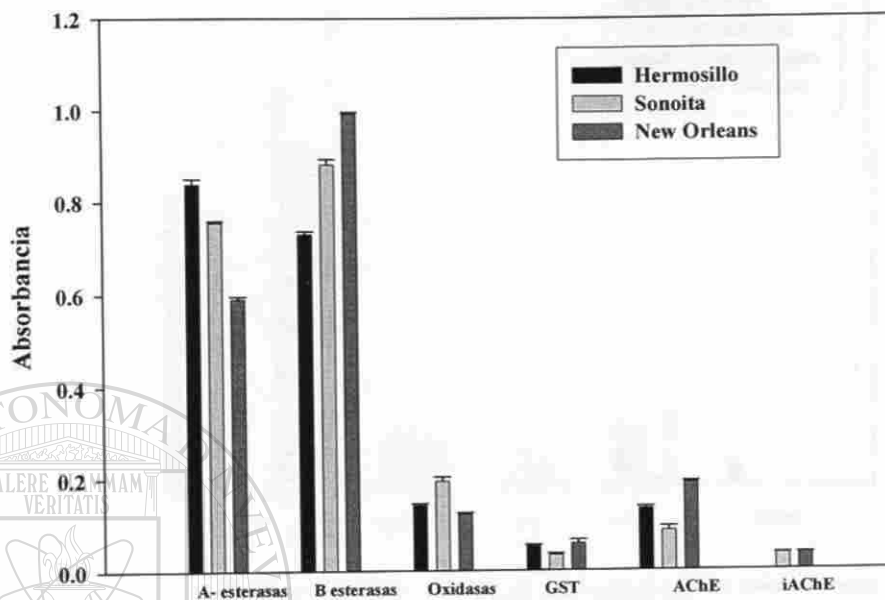


Figura 27. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Sonora comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

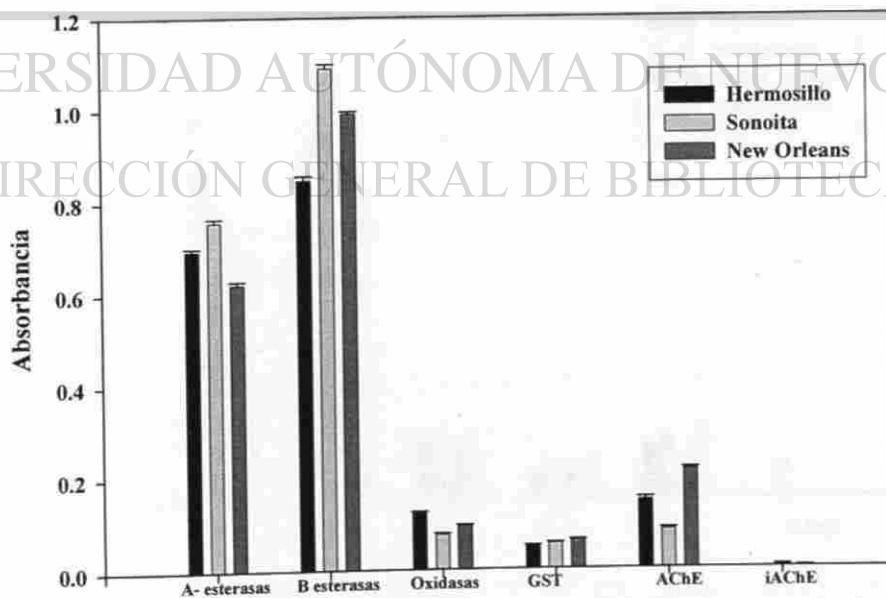


Figura 28. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Sonora comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

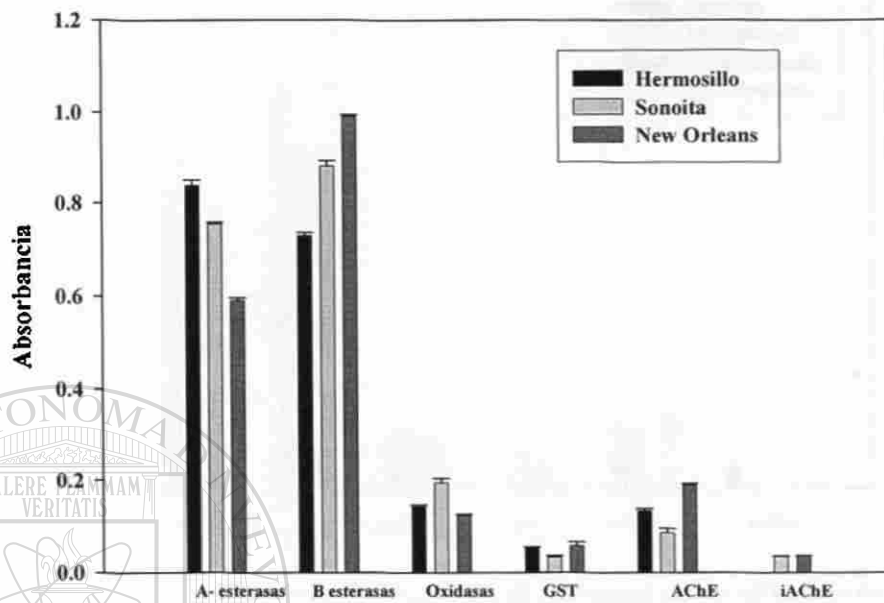


Figura 27. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Sonora comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

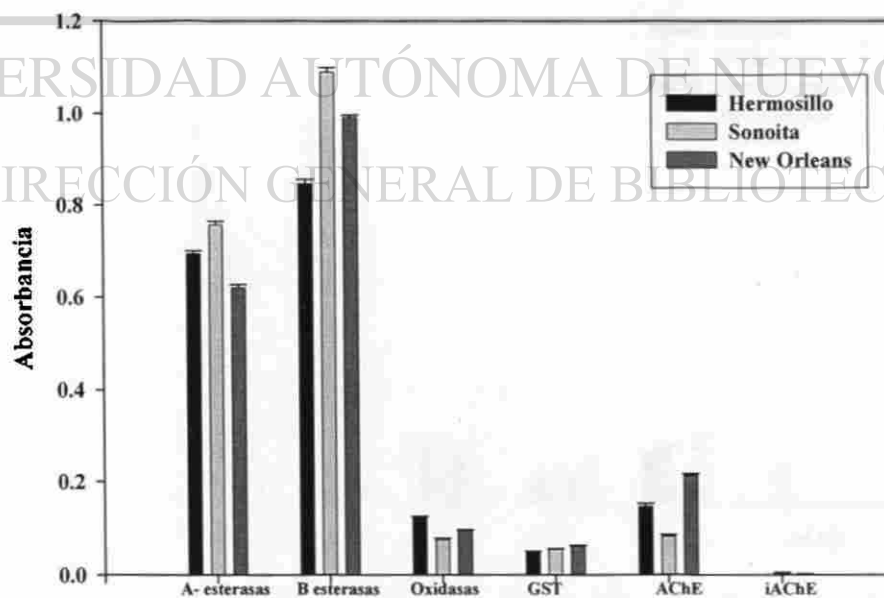


Figura 28. Valores de absorbancia de hembras adultas de *Ae. aegypti* que no sobrevivieron a la exposición de la DD del insecticida permetrina de las poblaciones del estado de Sonora comparados la cepa New Orleans obtenidas en los ensayos bioquímicos.

DISCUSION

De acuerdo a los datos obtenidos con la dosis diagnostico para el insecticida permetrina en este estudio para las poblaciones de los estados de Baja California Norte y Sur, (0.0172%) Coahuila (0.0086%), Sonora (0.0086%) y Tamaulipas (0.0110%), estos niveles están por debajo de las DD establecidas por la OMS, que es de 0.25% de a.i., en comparación con los resultados encontradas para las poblaciones del sur de México como son Chiapas (0.0032%), Tabasco (0.0043%) y Campeche (0.0065%).

Los resultados para la población de Ciudad Constitución, Baja California Sur muestran que las hembras sobrevivientes después de la exposición a la DD de permetrina tuvo altos niveles de actividad enzimática que sobrepasaron el nivel establecido por la cepa de referencia y los niveles obtenidos para los individuos muertos para α y β esteratasas, y también para GST. Para la población de Loreto, los individuos sobrevivientes a la selección con permetrina mostraron mayores valores de absorbancia que el umbral y para los niveles obtenidos para los individuos muertos, para α esteratasas, oxidatasas y GST.

Los mosquitos sobrevivientes de Tijuana mostraron que los niveles de α esteratasas y GST, fueron mayores que los obtenidos por la cepa de referencia y de la mayoría de los individuos muertos. Solo los niveles de α esteratasas fueron mayores para la población de Tecate comparada con el umbral establecido por la cepa susceptible. Sin embargo, las enzimas β esteratasas en los individuos sobrevivientes también mostró mayor actividad sobrepasando el umbral establecido, sin embargo los resultados no fueron diferentes significativamente de lo obtenido para los individuos muertos, indicando con ello que este mecanismo no esta involucrado en la resistencia a permetrina.

Con respecto al mecanismo AChE involucrado en los resultados obtenidos en los individuos sobrevivientes después de selección con permetrina, todas las poblaciones mostraron niveles por encima del umbral establecido, excepto la población de Loreto. Esta ultima tiene actividad enzimática ligeramente mayor que la cepa susceptible pero no significativamente.

Las medias de absorbancia obtenidas de iAChE que fueron obtenidas para Loreto son significativamente diferentes de las obtenidas para las demás poblaciones. La población de Tecate mostró significativamente bajos niveles de actividad de iAChE en relación con las otras poblaciones.

La población de Ciudad Constitución tiene altos niveles de α esterasas, seguida por las poblaciones de Tecate, Tijuana y Loreto, observándose una diferencia significativa entre ellas. Estos resultados indican que los individuos sobrevivientes sobrepasaron el umbral establecido por la cepa susceptible para la actividad de α esterasas. Por lo tanto se sugiere que la actividad enzimática juega un papel importante en la detoxificación del insecticida permetrina.

Esterasas no específicas están involucradas en el metabolismo de piretroides en varios insectos y juegan un papel importante para el insecticida permetrina en *Ae. aegypti* (Soderlund *et al.* 1983; Ruigt, 1985).

Aunque β esterasas muestran altos niveles de actividad en el grupo de individuos sobrevivientes a la selección con permetrina de Ciudad Constitución y Tecate, no muestran un patrón claro.

En el caso de las oxidasas, la población sobreviviente con mayor actividad fue Loreto, mientras que no hubo diferencia significativa de las otras poblaciones con respecto a la cepa susceptible.

Para GST, las medias observadas fueron similares en las poblaciones de Ciudad Constitución y Loreto, pero no significativamente mayores comparadas con las otras poblaciones. La actividad enzimática de la población de Coahuila estudiada (tabla 12), fue estadísticamente diferente que la obtenida para la cepa de referencia y la cepa de Monterrey, Nuevo León (población comparativa de referencia). Estos resultados demostraron que la presión ejercido por los insecticidas (dependiendo de la cantidad y de la frecuencia del uso), así como también las características inherentes de la especie seleccionada, dé lugar a una resistencia focal a los insecticidas (Brogdon 2003; Hemingway and Ranson, 2000).

Para la población de Torreón (sobrevivientes y muertos), solamente dos enzimas mostraron actividad (tabla 10): α -esterasas y acetilcolinesterasa insensible, las cuales mostraron altos valores de absorbancia en comparación con los resultados obtenidos para

la población de referencia (New Orleans), sugiriendo que la resistencia a insecticidas en esta población esta asociada con mecanismos bioquímicos (Kadous *et al.* 1983, Hemingway and Georghiou, 1983). En los ensayos para β -esterasas, Oxidasas, GST y AChE, las medias de absorbancia en esta población (sobrevivientes y muertos) fueron menores que los obtenidos para la cepa de New Orleans, caracterizando de esta manera a esta población como susceptible a insecticidas ya que estas enzimas están inactivas (Hemingway and Georghiou, 1983; Hemingway and Ranson, 2000). La población para hacer la comparación de referencia (Monterrey, Nuevo León) mostró medias de absorbancia mayores que las encontradas en la población de Torreón (sobrevivientes y muertos) en los tres ensayos enzimáticos: β esterasas, Oxidasas y GST, mientras que fueron más bajas que en AChE y iAChE. Por otro lado, las medias de absorbancia entre los individuos sobrevivientes obtenidas para α esterasas, fueron más altas que las obtenidas para la población de Torreón, mientras que la actividad más alta entre los individuos muertos fue para la población de Monterrey. En general, la población de Monterrey fue más resistente que la población de Torreón.

Los resultados obtenidos para la población de Coahuila son de gran importancia desde que estudios conducidos por Vaughan *et al.* (1998) en cepas de mosquitos *Culex* provenientes de las islas caribeñas de Trinidad sugieren que la resistencia a los organofosforados, el grupo de insecticidas que incluye a temefos utilizado en el control de los estados larvales por los programas de salud mexicanos, son usualmente mediante dos diferentes mecanismos: a) esterasas, como resultado de una amplificación genética y 2) acetilcolinesterasa insensible. Otros estudios han demostrado que población de mosquitos *Ae. aegypti* de las islas británicas de Tórtola, así como las poblaciones de este mosquito de Venezuela y de Trinidad, además están asociadas con resistencia a malatión, al igual que la población de Puerto Rico (Wirth and Georghiou, 1999), de tal manera que esto podría limitar el uso de piretroides tales como deltametrina debido a la resistencia cruzada (Rodríguez *et al.* 2002), lo cual implicaría un serio problema para todos los programas de control, puesto que temefos se utiliza exhaustivamente como el insecticida para el control larval en todo el mundo. Señalamos que aunque el mecanismo de acetilcolinesterasa insensible no esta relacionado con resistencia a piretroides, podría

sugerir una tardía aparición de resistencia a temefos, lo cual ahondaría aun más la problemática del control vectorial.

Las medias de absorbancia de las seis enzimas en las poblaciones de New Orleans (población susceptible) y las poblaciones de Sonoita y Hermosillo (tabla 13), denotan que estas últimas poblaciones muestran medias más altas que las obtenidas para la cepa susceptible, en comparación entre los resultados para α esterases de los individuos que sobrevivieron, indican que la detección de una actividad enzimática significativamente mayor que la cepa susceptible puede ser tomada como una alarma de una posible resistencia focal. En relación al porcentaje de individuos de las poblaciones de Sonora que sobrepasaron el umbral de resistencia en cada ensayo (tabla 9), establece que las enzimas α esterases son el mecanismo que se encuentra presente en ambas poblaciones estudiadas. Sucede lo mismo con las oxidasas, lo que representa en la población de Sonoita este es el mecanismo detoxificativo más importante.

Los valores obtenidos para las oxidasas en las localidades de Nuevo Laredo y Matamoros superaron el umbral de tolerancia establecido por la cepa susceptible New Orleans pero no significativamente. Los resultados demuestran claramente que los mecanismos de α y β esterases no son importantes para conferir resistencia a permetrina en las tres localidades estudiadas. Por otra parte, el mecanismo acetilcolinesterasa insensible se presentó en los individuos sobrevivientes a DD de permetrina y en una proporción significativa que en el resto de los mecanismos detoxificativos en las tres localidades estudiadas (organofosforados y carbamatos). Estas poblaciones también muestran la presencia del mecanismo acetilcolinesterasa insensible, sin embargo es de menor importancia si lo comparamos con los resultados obtenidos para la población de Coahuila, y basándonos en esta tendencia podemos encontrar en un futuro cercano resistencia a insecticidas pertenecientes a los grupos de organofosforados y carbamatos.

Sin embargo, no debe ser descontado que otros mecanismos no enzimáticos están trabajando para producir resistencia en aquellas poblaciones donde no encontramos una presencia significativa de la actividad enzimática asociada a resistencia. No obstante, la detección temprana de los mecanismos enzimáticos de la resistencia en poblaciones de *Ae. aegypti* podía incitar un cambio importante en programas de control y prolongar el uso eficaz de los pesticidas que utilizamos en la actualidad.

CONCLUSIONES

Los valores de DD para permetrina obtenidos para las poblaciones de Coahuila, Sonora y Tamaulipas fueron menores que las reportadas para las poblaciones de Tecate y Tijuana del estado de Baja California Norte y para las poblaciones de Ciudad Constitución y Loreto, localidades del estado de Baja California Sur.

En relación a las pruebas enzimáticas realizadas en las poblaciones de Baja California, α esterasas están presentes en las poblaciones de Tijuana y Tecate, detoxificando al insecticida permetrina, como el principal mecanismo de resistencia enzimática. Sin embargo, en Ciudad Constitución y Loreto, al encontrarlas tanto en individuos sobrevivientes como en muertos, pensamos que ejerce un papel detoxificativo importante, sin embargo no es el principal mecanismo de resistencia metabólica en estas poblaciones.

Los valores de oxidasas en las poblaciones de Loreto y Ciudad Constitución sometidas a DD de permetrina, indican una actividad elevada, sin embargo éstas no muestran un papel claro en la detoxificación a permetrina debido a su presencia en altas proporciones en los individuos que no sobrevivieron a esta presión.

GST, está presente en las poblaciones de mosquitos de Ciudad Constitución y Tijuana, con una actividad elevada, apareciendo como uno de los principales mecanismos de resistencia de los individuos sobrevivientes.

Para la población de Valle Verde de Torreón, Coahuila, los individuos sobrevivientes a la exposición a la DD de permetrina, muestran una actividad enzimática levemente mayor a la hallada en la cepa susceptible, no obstante no es significativa. Sin embargo, esta población tiene niveles de actividad enzimática significativamente mayor que otras poblaciones estudiadas.

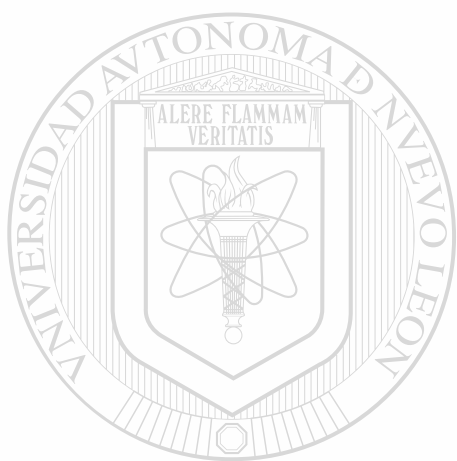
Los resultados demostraron que los mecanismos enzimáticos involucrados son α - esterasas, que se encuentra presente en esta población, sin embargo no es principal medio de detoxificación, ya que se encontró en los individuos de ambos grupos

(sobrevivientes y muertos) tras la exposición a la DD de permetrina. En las pruebas bioquímicas para oxidasas, GST y acetilcolinesterasa, los individuos sobrepasaron en un porcentaje muy bajo ($p > 0.05$) el umbral de resistencia establecido por la cepa de referencia. Acetilcolinesterasa insensible estuvo presente en esta población de una manera significativa ya que se encontró en el 100% de los individuos sobrevivientes a la dosis diagnóstico; sin embargo, este mecanismo no se encuentra asociado con la resistencia a piretroides, sino con insecticidas organofosforados y carbamatos.

Con respecto a las poblaciones del estado de Sonora: Hermosillo y Sonoita, estos mostraron niveles de actividad de α -esterasas por arriba del umbral establecido, sin embargo no son significativamente diferente a los encontrados en los individuos que no sobrevivieron. Los mosquitos sobrevivientes de Sonoita mostraron niveles de actividad de β -esterasas mayores que el umbral establecido, pero tampoco fueron significativamente diferentes a los obtenidos del grupo de los individuos muertos. Estos resultados indican que ninguno de estos mecanismos está involucrado en la resistencia a permetrina en estas poblaciones. Sin embargo, las oxidasas de función múltiple estuvieron presentes en la población de Sonoita, mostrando elevados niveles de actividad, apareciendo como el principal medio detoxificativo para esta población.

Reynosa, Matamoros y Nuevo Laredo, poblaciones del estado de Tamaulipas, mostraron resultados donde claramente puede observarse que las enzimas α y β esterazas no son medios detoxificativos importantes para conferir resistencia al piretroide permetrina en estas tres poblaciones estudiadas. Los valores obtenidos para las oxidasas en las localidades de Nuevo Laredo y Matamoros sobrepasaron el umbral de tolerancia establecido por la cepa de referencia, pero no de manera significativa. Por otro lado, el mecanismo acetilcolinesterasa insensible aparece operando en los individuos sobrevivientes después de la exposición a la DD de permetrina en una significativa proporción, mayor que el resto de los mecanismos detoxificativos en las tres poblaciones estudiadas. Sin embargo, este mecanismo no se encuentra asociado con la resistencia a piretroides, sino con insecticidas organofosforados y carbamatos.

APENDICES



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 15. Comparación de medias y análisis de varianza de α -esterasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.209	4	8.302	1424.138	.000
Within Groups	2.94	445	.006		
Total	35.803	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.3884	.04933	.00520	.3781	.3988	.27	.49
2	500	1.1843	.10500	.01107	1.1623	1.2063	.77	1.51
3	500	.5547	.07290	.00768	.5394	.5699	.37	.72
4	500	.6841	.06591	.00687	.6705	.6978	.49	.86
5	500	.8443	.07827	.00825	.8279	.8607	.70	1.03
T	2000	.7312	.28238	.01331	.7050	.7573	.27	1.51

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
1.00	500	.3884				
3.00	500		.5547			
4.00	500			.6841		
5.00	500				.8443	
2.00	500					1.1843
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 16. Comparación de medias y análisis de varianza de α -esterasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.398	4	.350	126.701	.000
Within Groups	1.228	445	.003		
Total	2.626	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.5528	.02172	.00229	.5482	.5573	.50	.62
2	500	.4331	.08172	.00861	.4160	.4160	.26	.57
3	500	.5003	.04531	.04531	.4908	.5098	.42	.62
4	500	.4871	.03205	.00338	.4804	.4938	.41	.57
5	500	.3916	.05970	.00629	.3791	.4041	.18	.52
T	2000	.4730	.07647	.00360	.4629	.4801	.18	.62

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
5.00	500	.3916			
2.00	500		.4331		
4.00	500			.4871	
3.00	500			.5003	
1.00	500				.5528
Sig.	2000	1.00	1.00	.442	1.00

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 17. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	65.173	4	16.293	1857.696	.000
Within Groups	3.903	445	.009		
Total	69.076	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.9070	.05065	.00534	.8964	.9176	.71	.99
2	500	1.6380	.11965	.01261	1.6129	1.6631	1.13	1.87
3	500	.6397	.06008	.00633	.6271	.6523	.51	.83
4	500	.6380	.08937	.00942	.6193	.6567	.48	.90
5	500	1.2189	.12400	.01307	1.1929	1.2449	.90	1.52
T	2000	1.0083	.39223	.01849	.9720	1.0446	.48	1.87

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
4.00	500	.6380			
3.00	500	.6397			
1.00	500		.9070		
5.00	500			1.2189	
2.00	500				1.6380
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000

^aMeans for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 18. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterases en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.564	4	1.641	180.29	.000
Within Groups	4.051	445	.009		
Total	10.615	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.5108	.03548	.00374	.5033	.5182	.43	.63
2	500	.7806	.17316	.01825	.7443	.8168	.44	1.09
3	500	.8409	.09661	.01018	.8207	.8611	.66	.98
4	500	.6060	.03815	.00402	.5980	.6140	.52	.69
5	500	.7449	.05898	.00622	.7325	.7572	.56	.91
T	2000	.6966	.15376	.00725	.6824	.7109	.43	1.09

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
1.00	500	.5108			
4.00	500		.6060		
5.00	500			.7449	
2.00	500			.7806	
3.00	500				.8409
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 19. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.535	4	.134	309.164	.000
Within Groups	.192	445	.000		
Total	.727	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0848	.01825	.00192	.0810	.0886	.04	.14
2	500	.0827	.01865	.00197	.0788	.0866	.05	.13
3	500	.1152	.03478	.00367	.1479	.1625	.06	.30
4	500	.0882	.01481	.00156	.0851	.0913	.06	.13
5	500	.0497	.00726	.00077	.0481	.0512	.04	.07
T	2000	.0921	.04025	.00190	.0884	.0958	.04	.30

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
5.00	500	.0497	.0827	.1552
2.00	500			
1.00	500			
4.00	500			
3.00	500			
Sig.	2000	1.000	.379	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 20. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.250	4	.063	27.171	.000
Within Groups	1.026	445	.002		
Total	1.276	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.1258	.01836	.00194	.1296	.1296	.09	.18
2	500	.1701	.08218	.00866	.1529	.1873	.04	.36
3	500	.1794	.05277	.00556	.1684	.1905	.11	.35
4	500	.1331	.02411	.00254	.1281	.1382	.08	.21
5	500	.1234	.03264	.00344	.1166	.1303	.07	.22
T	2000	.1464	.05331	.00251	.1414	.1513	.04	.36

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
5.00	500	.1234	
1.00	500	.1258	
4.00	500	.131	
2.00	500		.1701
3.00	500		.1794
Sig.	2000	.659	.689

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 21. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.398	4	.100	65.448	.000
Within Groups	.677	445	.002		
Total	1.076	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0264	.01653	.00174	.0229	.0298	-.05	.05
2	500	.0731	.02063	.00217	.0687	.0774	.02	.14
3	500	.0645	.03753	.00396	.0566	.0723	.03	.17
4	500	.0347	.06245	.00658	.0216	.0478	-.12	.10
5	500	-.0105	.04001	.00422	-.0188	-.0021	-.12	.03
T	2000	.0376	.04894	.00231	.0331	.0422	-.12	.17

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
5.00	500	-.0105		
1.00	500		.0264	
4.00	500		.0347	
3.00	500			.0645
2.00	500			.0731
Sig.	2000	1.00	.608	.579

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 22. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s- transferasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.112	4	.028	35.801	.000
Within Groups	.347	445	.001		
Total	.459	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0378	.00968	.00102	.0358	.0398	.01	.07
2	500	.0525	.02454	.00259	.0474	.0577	-.02	.11
3	500	.0163	.05092	.00537	.0056	.0269	-.17	.11
4	500	.0321	.00981	.00103	.0300	.0341	.01	.07
5	500	.0613	.02272	.00239	.0565	.0661	.03	.14
T	2000	.0400	.03197	.00151	.0370	.0430	-.17	.14

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
3.00	500	.0163		
4.00	500		.0321	
1.00	500		.0378	
2.00	500			.0525
5.00	500			.0613
Sig.	2000	1.000	.643	.218

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 23. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.562	4	.140	60.005	.000
Within Groups	1.041	445	.002		
Total	1.603	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.1949	.04577	.00482	.1853	.2045	.00	.29
2	500	.1488	.03190	.00336	.1421	.1555	.05	.26
3	500	.1792	.05113	.00539	.1685	.1899	-.01	.31
4	500	.0943	.04432	.00467	.0851	.1036	.01	.19
5	500	.1336	.06330	.00667	.1203	.1468	-.12	.23
T	2000	.1502	.05974	.00282	.1446	.1557	-.12	.31

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	.0943		
5.00	500		.1336	
2.00	500		.1488	
3.00	500			.1792
1.00	500			.1949
Sig.	2000	1.000	.217	.192

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 24. Comparación de medias y análisis de varianza acetilcolinesterasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.485	4	.621	263.004	.000
Within Groups	1.051	445	.002		
Total	3.536	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.1587	.0348	.00385	.1510	.1663	.05	.23
2	500	.1474	.06103	.00643	.1347	.1602	-.01	.26
3	500	.0217	.0375	.00366	.0144	.0289	-.01	.10
4	500	.1597	.04600	.00485	.1500	.1693	.06	.25
5	500	.2548	.05858	.00618	.2425	.2670	.07	.39
T	2000	.1484	.08874	.00418	.1402	.1567	-.01	.39

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
3.00	500	.0217		
2.00	500		.1474	
1.00	500		.1587	
4.00	500		.1597	
5.00	500			.2548
Sig.	2000	1.000	.443	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 25. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.034	4	.008	23.470	.000
Within Groups	.160	445	.000		
Total	.193	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0023	.00330	.00035	.0016	.0030	-.02	.01
2	500	.0047	.00358	.00038	.0040	.0055	-.01	.01
3	500	.0222	.03441	.00363	.0150	.0294	-.01	.10
4	500	.0050	.00311	.00033	.0044	.0057	.00	.02
5	500	-.0038	.02403	.00253	-.0089	.0012	-.14	.02
T	2000	.0061	.02076	.00098	.0042	.0080	-.14	10

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
5.00	500	-.0038		
1.00	500	.0023	.0023	
2.00	500		.0047	
4.00	500		.0050	
3.00	500			.0222
Sig.	2000	.189	.873	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 26. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Baja California Norte y Sur.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.086	4	.021	27.771	.000
Within Groups	.344	445	.001		
Total	.429	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0052	.00417	.00044	.0043	.0061	.00	.03
2	500	.0399	.04822	.00508	.0298	.0500	.00	.16
3	500	.0281	.03104	.00327	.0216	.0346	.00	.11
4	500	.0039	.00516	.00054	.0028	.0050	-.02	.03
5	500	.0231	.02297	.00242	.0183	.0279	.00	.08
T	2000	.0201	.03902	.00146	.0172	.0229	-.02	.16

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	.0039		
1.00	500	.0052		
5.00	500		.0231	
3.00	500		.0281	
2.00	500			.0399
Sig.	2000	.998	.754	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 27. Comparación de medias y análisis de varianza de α -esterasas en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33.209	4	8.302	1424.138	.000
Within Groups	2.94	445	.006		
Total	35.803	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.3884	.04933	.00520	.3781	.3988	.27	.49
2	500	1.1843	.10500	.01107	1.1623	1.2063	.77	1.51
3	500	.5547	.07290	.00768	.5394	.5699	.37	.72
4	500	.6841	.06591	.00687	.6705	.6978	.49	.86
5	500	.8443	.07827	.00825	.8279	.8607	.70	1.03
T	2000	.7312	.28238	.01331	.7050	.7573	.27	1.51

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
1.00	500	.592				
3.00	500		.624			
4.00	500			.603		
5.00	500				.734	
2.00	500					.704
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 28. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	65.173	4	16.293	1857.696	.000
Within Groups	3.903	445	.009		
Total	69.076	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.9070	.05065	.00534	.8964	.9176	.71	.99
2	500	1.6380	.11965	.01261	1.6129	1.6631	1.13	1.87
3	500	.6397	.06008	.00633	.6271	.6523	.51	.83
4	500	.6380	.08937	.00942	.6193	.6567	.48	.90
5	500	1.2189	.12400	.01307	1.1929	1.2449	.90	1.52
T	2000	1.0083	.39223	.01849	.9720	1.0446	.48	1.87

Homogeneous Subsets
Tukey HSD*

VAR00001	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
4.00	500	.6380			
3.00	500	.6397			
1.00	500		.9070		
5.00	500			1.2189	
2.00	500				1.6380
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
* Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 29. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que no sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.564	4	1.641	180.29	.000
Within Groups	4.051	445	.009		
Total	10.615	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.5108	.03548	.00374	.5033	.5182	.43	.63
2	500	.7806	.17316	.01825	.7443	.8168	.44	1.09
3	500	.8409	.09661	.01018	.8207	.8611	.66	.98
4	500	.6060	.03815	.00402	.5980	.6140	.52	.69
5	500	.7449	.05898	.00622	.7325	.7572	.56	.91
T	2000	.6966	.15376	.00725	.6824	.7109	.43	1.09

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
1.00	500	.5108			
4.00	500		.6060		
5.00	500			.7449	
2.00	500			.7806	
3.00	500				.8409
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 30. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.535	4	.134	309.164	.000
Within Groups	.192	445	.000		
Total	.727	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0848	.01825	.00192	.0810	.0886	.04	.14
2	500	.0827	.01865	.00197	.0788	.0866	.05	.13
3	500	.1152	.03478	.00367	.1479	.1625	.06	.30
4	500	.0882	.01481	.00156	.0851	.0913	.06	.13
5	500	.0497	.00726	.00077	.0481	.0512	.04	.07
T	2000	.0921	.04025	.00190	.0884	.0958	.04	.30

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
5.00	500	.0497		
2.00	500		.0827	
1.00	500		.0848	
4.00	500		.0882	.1552
3.00	500			
Sig.	2000	1.000	.379	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 31. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.398	4	.100	65.448	.000
Within Groups	.677	445	.002		
Total	1.076	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0264	.01653	.00174	.0229	.0298	-.05	.05
2	500	.0731	.02063	.00217	.0687	.0774	.02	.14
3	500	.0645	.03753	.00396	.0566	.0723	.03	.17
4	500	.0347	.06245	.00658	.0216	.0478	-.12	.10
5	500	-.0105	.04001	.00422	-.0188	-.0021	-.12	.03
T	2000	.0376	.04894	.00231	.0331	.0422	-.12	.17

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
5.00	500	-.0105		
1.00	500		.0264	
4.00	500		.0347	
3.00	500			.0645
2.00	500			.0731
Sig.	2000	1.00	.608	.579

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 32. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.562	4	.140	60.005	.000
Within Groups	1.041	445	.002		
Total	1.603	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.1949	.04577	.00482	.1853	.2045	.00	.29
2	500	.1488	.03190	.00336	.1421	.1555	.05	.26
3	500	.1792	.05113	.00539	.1685	.1899	-.01	.31
4	500	.0943	.04432	.00467	.0851	.1036	.01	.19
5	500	.1336	.06330	.00667	.1203	.1468	-.12	.23
T	2000	.1502	.05974	.00282	.1446	.1557	-.12	.31

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	.0943		
5.00	500		.1336	
2.00	500		.1488	
3.00	500			.1792
1.00	500			.1949
Sig.	2000	1.000	.217	.192

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 33. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron y muertos de las poblaciones de Coahuila y Monterrey.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.034	4	.008	23.470	.000
Within Groups	.160	445	.000		
Total	.193	449			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.0023	.00330	.00035	.0016	.0030	-.02	.01
2	500	.0047	.00358	.00038	.0040	.0055	-.01	.01
3	500	.0222	.03441	.00363	.0150	.0294	-.01	.10
4	500	.0050	.00311	.00033	.0044	.0057	.00	.02
5	500	-.0038	.02403	.00253	-.0089	.0012	-.14	.02
T	2000	.0061	.02076	.00098	.0042	.0080	-.14	10

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
5.00	500	-.0038		
1.00	500	.0023	.0023	
2.00	500		.0047	
4.00	500		.0050	
3.00	500			.0222
Sig.	2000	.189	.873	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 34. Comparación de medias y análisis de varianza de α -esterasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.798	2	1.899	201.232	.000
Within Groups	3.369	357	9.438E-.03		
Total	7.167	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.5909	6.446E-02	5.884E-03	.5792	.6025	.41	.70
2	500	.8380	.1278	4.167E-02	.8149	.8611	.54	1.05
3	500	.7553	8.844E-02	3.073E-03	.7393	.7713	.57	.98
T	2000	.7281	.1413	7.447E-03	.7134	.7427	.41	1.05

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
1.00	500	.5909		
3.00	500		.7553	
2.00	500			.8380
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 35. Comparación de medias y análisis de varianza de α -esterasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.109	2	.554	89.469	.000
Within Groups	2.212	357	6.197E-03		
Total	3.321	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.6204	7.332E-02	6.693E-03	.6071	.6336	.35	.72
2	500	.6941	6.618E-02	6.041E-03	.6821	.7060	.57	.85
3	500	.7561	9.400E-02	8.581E-03	.7391	.7731	.58	.96
T	2000	.6902	9.618E-02	5.069E-03	.6802	.7001	.35	.96

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
1.00	500	.6204		
2.00	500		.6941	
3.00	500			.7561
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 36. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.135	2	2.068	273.577	.000
Within Groups	2.683	357	7.558E-03		
Total	6.819	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.9924	4.277E-02	3.920E-03	.9847	1.002	.89	.106
2	500	.7299	6.727E-02	6.167E-03	.7177	.7421	.61	.093
3	500	.8817	.1275	1.164E-02	.8587	.9048	.59	1.15
T	2000	.8680	.1385	7.304E-03	.8537	.8824	.59	1.15

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
2.00	500	.7299		
3.00	500		.8817	
1.00	500			.9924
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 37. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.585	2	1.792	206.828	.000
Within Groups	3.094	357	8.666E-03		
Total	6.678	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.9912	5.935E-02	5.418E-03	.9805	1.0019	.91	1.23
2	500	.8467	.1054	9.623E-03	.8277	.8658	.66	1.12
3	500	1.0897	.1066	9.730E-03	1.0704	1.1090	.81	1.36
T	2000	.9759	.1364	7.188E-03	.9617	.9900	.66	1.36

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
2.00	500	.8467		
1.00	500		.9912	
3.00	500			1.0897
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 38. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.326	2	.163	37.035	.000
Within Groups	1.572	357	4.404E-03		
Total	1.899	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.1230	2.484E-02	2.268E-03	.1185	.1275	.08	.18
2	500	.1415	4.399E-02	4.016E-03	.1335	.1494	.07	.32
3	500	.1941	.1032	9.425E-03	.1754	.2127	.07	.49
T	2000	.1529	7.272E-02	3.833E-03	.1453	.1604	.07	.49

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
1.00	500	.1230	
2.00	500	.1415	
3.00	500		.1941
Sig.	2000	.079	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 39. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.132	2	6.581E-02	83.821	.000
Within Groups	.280	357	7.852E-04		
Total	.412	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	9.519E-02	1.616E-02	1.475E-03	9.227E-02	9.811E-02	.06	.13
2	500	.1222	3.274E-02	2.998E-03	.1163	.1281	.05	.24
3	500	7.558E-02	3.197E-02	2.919E-03	6.980E-02	8.136E-02	.05	.26
T	2000	9.767E-02	3.387E-02	1.785E-03	9.416E-02	.1012	.05	.26

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
3.00	500	7.558E-02		
1.00	500		9.519E-02	
2.00	500			.1222
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 40. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.021E-02	2	2.010E-02	21.997	.000
Within Groups	.326	357	9.140E-04		
Total	.366	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	5.806E-02	7.852E-03	7.168E-04	5.664E-02	5.948E-02	.05	.08
2	500	5.264E-02	3.296E-02	3.009E-03	4.668E-02	5.860E-02	-.08	.15
3	500	3.343E-02	3.992E-02	3.645E-03	2.621E-02	4.064E-02	.00	.15
T	2000	4.804E-02	3.195E-02	1.684E-03	4.473E-02	5.135E-02	-.08	.15

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
3.00	500	3.343E-02	
2.00	500		5.264E-02
1.00	500		5.806E-02
Sig.	2000	1.000	.347

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 41. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s- transferasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.181E-02	2	5.904E-03	10.779	.000
Within Groups	.196	357	5.477E-04		
Total	.207	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	6.191E-02	1.165E-02	1.063E-03	5.981E-02	6.401E-02	.04	.09
2	500	4.788E-02	3.521E-02	3.214E-03	4.152E-02	5.425E-02	-.06	.15
3	500	5.504E-02	1.637E-02	1.494E-03	5.208E-02	5.800E-02	.03	.12
T	2000	5.494E-02	2.403E-02	1.267E-03	5.245E-02	5.743E-02	-.06	.15

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
2.00	500	4.788E-02	
3.00	500		5.504E-02
1.00	500		6.191E-02
Sig.	2000	1.000	0.59

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 42. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.664	2	.332	66.504	.000
Within Groups	1.782	357	4.991E-03		
Total	2.445	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.1906	3.322E-02	3.032E-03	.1846	.1966	.12	.28
2	500	.1329	5.554E-02	5.071E-03	.1229	.1429	-.04	.36
3	500	8.563E-02	.1038	9.480E-03	.6685E-02	.1044	-.14	.28
T	2000	.1364	8.253E-02	4.350E-03	.1278	.1449	-.14	.36

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
3.00	500	8.563E-02		
2.00	500		.1329	
1.00	500			.1906
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 43. Comparación de medias y análisis de varianza acetilcolinesterasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.938	2	.469	176.300	.000
Within Groups	.949	357	2.660E-03		
Total	1.887	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.2133	3.935E-02	3.592E-03	.2062	.2204	.11	.28
2	500	.1468	7.059E-02	6.444E-03	.1341	.1596	-.02	.35
3	500	8.833E-02	3.805E-02	3.474E-03	8.146E-02	9.521E-02	.02	.26
T	2000	.1495	7.250E-02	3.821E-03	.1420	.1570	-.02	.35

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
3.00	500	8.833E-02		
2.00	500		.1468	
1.00	500			.2133
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 44. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.977E-02	2	2.489E-02	83.469	.000
Within Groups	.106	357	2.981E-02		
Total	.156	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	3.666E-03	6.520E-03	5.952E-04	2.487E-03	4.844E-03	-.05	.02
2	500	-2.14E-02	2.848E-02	2.600E-03	-2.65E-03	-1.62E-02	-.11	.03
3	500	3.501E-03	6.403E-03	5.845E-04	2.343E-03	4.658E-03	-.03	.03
T	2000	-4.73E-03	2.086E-02	1.099E-03	-6.89E-03	-2.56E-03	-.11	.03

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
2.00	500	-2.14E-02	
3.00	500		3.501E-03
1.00	500		3.66E-03
Sig.	2000	1.000	.997

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 45. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Sonora.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.017E-02	2	4.009E-02	52.082	.000
Within Groups	.275	357	7.697E-04		
Total	.355	359			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	9.533-04	1.427E-02	1.303E-03	-1.62E-03	3.533E-03	-.05	.03
2	500	-2.96E-02	4.006E-02	3.657E-03	-3.68E-02	-2.23E-02	-.15	.03
3	500	2.993E-03	2.237E-02	2.042E-03	-1.05E-03	7.036E-03	-.23	.03
T	2000	-8.56E-03	3.144E-02	1.657E-03	-1.18E-02	-5.303E-03	-.23	.03

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
2.00	500	-2.96E-02	
1.00	500		9.533-04
3.00	500		2.993-03
Sig.	2000	1.000	.836

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 46. Comparación de medias y análisis de varianza de α -esterasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.047	3	4.349	140.985	.000
Within Groups	49.234	1596	3.085E-02		
Total	62.281	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.8833	.1313	1.313E-02	.8573	.9094	.67	1.16
2	500	.6504	.1904	1.515E-03	.6337	.6671	.10	1.44
3	500	.7629	.2119	1.477E-03	.7442	.7815	.33	1.31
4	500	.5795	.1187	1.307E-03	.5691	.5899	.30	.93
T	2000	.6780	.1974	1.943E-03	.6683	.6876	.10	1.44

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
4.00	500	.5795			
2.00	500		.6504		
3.00	500			.7629	
1.00	500				.8833
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 47. Comparación de medias y análisis de varianza de α -esterasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.742	3	5.247	148.412	.000
Within Groups	56.430	1596	3.536E-02		
Total	72.173	1599			

	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
				Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.7485	2.128E-02	.7261	.7709	.50	.98
2	500	.8282	2.208E-02	.8045	.8519	.39	1.53
3	500	.7326	2.009E-02	.7188	.7463	.46	1.19
4	500	.5803	2.102E-03	.5703	.5903	.36	.81
T	2000	.7159	2.311E-03	.7054	.7263	.36	1.53

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	.5803		
3.00	500		.7326	
2.00	500		.7485	
1.00	500			.8282
Sig.	2000	1.000	.780	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 48. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterases en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.938	3	5.646	96.945	.000
Within Groups	92.951	1596	5.824E-02		
Total	109.889	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	1.0489	.1372	2.372E-02	1.0217	1.0761	.76	1.49
2	500	.8780	.3620	2.619E-02	.8462	.9098	.43	2.62
3	500	.7334	.2068	2.248E-03	.7152	.7516	.04	1.30
4	500	.6920	9.345E-02	2.183E-03	.6838	.7003	.49	.96
T	2000	.7854	.2622	2.554E-03	.7725	.7982	.04	2.62

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	.6920		
3.00	500	.7334		
2.00	500		.8780	
1.00	500			1.0489
Sig.	2000	.222	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

Tabla 49. Comparación de medias y análisis de varianza de β esterazas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.753	3	1.918	49.365	.000
Within Groups	61.996	1596	3.884E-02		
Total	67.748	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.9327	.1025	2.025E-02	.9124	.9531	.73	1.19
2	500	.8133	.2498	2.117E-02	.7913	.8352	.32	1.63
3	500	.7853	.1686	2.541E-03	.7705	.8001	.15	1.21
4	500	.7044	.1770	2.915E-03	.6888	.7199	.41	2.15
T	2000	.7780	.2058	2.146E-03	.7679	.7881	.15	2.15

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	.7044		
3.00	500		.7853	
2.00	500		.8133	
1.00	500			.9327
Sig.	2000	1.000	.387	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 50. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.930E-02	3	1.977E-02	14.137	.000
Within Groups	2.232	1596	1.398E-02		
Total	2.291	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.11397	2.3676E-02	2.37E-03	.10928	.11867	.063	.180
2	500	.12469	3.6195E-02	1.62E-03	.12151	.12787	.054	.287
3	500	.11380	4.7166E-02	2.11E-03	.10965	.11794	.060	.394
4	500	.10989	2.8745E-02	1.29E-03	.10736	.11241	.051	.231
T	2000	.11599	3.7851E-02	9.46E-03	.11414	.11785	.051	.394

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
4.00	500	.10989	
3.00	500	.11380	
1.00	500	.11397	
2.00	500		.12469
Sig.	2000	.613	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 51. Comparación de medias y análisis de varianza de oxidasas en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.219	3	7.287E-02	12.045	.000
Within Groups	9.656	1596	6.050E-03		
Total	9.874	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.13196	8.8915E-02	3.89E-03	.12424	.13968	.071	.285
2	500	.12110	5.2357E-02	2.34E-03	.11649	.12570	.043	.409
3	500	9.58E-02	3.5992E-02	2.61E-03	9.26E-02	9.89E-02	.043	.386
4	500	.11543	.12253	5.48E-03	.10466	.12619	.056	2.742
T	2000	.11209	7.8584E-02	4.96E-03	.10824	.11595	.043	2.742

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
3.00	500	9.58E-02	
4.00	500		.11543
2.00	500		.12110
1.00	500		.13196
Sig.	2000	1.000	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 52. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s-transferasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.412	3	.137	78.753	.000
Within Groups	2.785	1596	1.745E-03		
Total	3.197	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	7.95E-02	2.6980E-02	2.70E-03	7.4157E-02	8.4863E-02	-.015	.139
2	500	5.58E-02	5.2612E-02	2.35E-03	5.1175E-02	6.0420E-02	-.047	.264
3	500	8.30E-02	4.4260E-02	1.98E-03	7.9136E-02	8.6914E-02	-.251	.240
4	500	4.52E-02	2.6635E-02	1.19E-03	4.2828E-02	4.7508E-02	-.083	.142
T	2000	6.25E-02	4.4715E-02	1.12E-03	6.0274E-02	6.4559E-02	-.251	.264

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	4.52E-02		
2.00	500		5.58E-02	
1.00	500			7.95E-02
3.00	500			8.30E-02
Sig.	2000	1.000	1.000	.783

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 53. Comparación de medias y análisis de varianza de glutatión s- transferasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.586E-02	3	1.195E-02	1.029	.379
Within Groups	18.546	1596	1.162E-02		
Total	18.582	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	6.92E-02	5.3737E-02	5.37E-03	5.8564E-02	7.9889E-02	-.091	.156
2	500	5.83E-02	6.2790E-02	2.81E-03	5.2737E-02	6.3771E-02	-.066	1.229
3	500	5.89E-02	5.8274E-02	2.61E-03	5.3810E-02	6.4051E-02	-.145	.280
4	500	5.10E-02	.17104	7.65E-03	3.5924E-02	6.5981E-02	-2.634	.180
T	2000	5.69E-02	.10780	2.70E-03	5.1583E-02	6.2156E-02	-2.634	1.229

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	
4.00	500	5.10E-02	
2.00	500	5.83E-02	
3.00	500	5.89E-02	
1.00	500	6.92E-02	
Sig.	2000	.230	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed
* Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 54. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.914	3	1.638	373.205	.000
Within Groups	7.005	1596	4.389E-03		
Total	11.919	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.15245	4.8159E-02	4.82E-03	.14286	.16200	.044	.255
2	500	.12935	7.4317E-02	3.32E-03	.12282	.13588	-.080	.442
3	500	.12249	6.3386E-02	2.83E-03	.11692	.12806	-.206	.515
4	500	9.69E-03	6.3533E-02	2.84E-03	4.1110E-03	4.5276E-02	-.147	.283
T	2000	9.13E-02	3.6335E-02	2.16E-03	3.7022E-02	9.5489E-02	-.206	.515

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	9.69E-03		
3.00	500		.12249	
2.00	500		.12935	
1.00	500			.15245
Sig.	2000	1.000	.654	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 55. Comparación de medias y análisis de varianza acetilcolinesterasa en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.505	3	1.502	371.286	.000
Within Groups	6.6455	1596	4.044E-03		
Total	10.960	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.14622	4.9639E-02	4.96E-03	.13637	.15607	-.002	.255
2	500	.10869	7.2258E-02	3.23E-03	.10234	.11503	-.224	.331
3	500	.12373	7.4340E-02	3.32E-03	.11720	.13026	-.116	.389
4	500	6.23E-03	4.1220E-02	1.84E-03	2.6096E-03	9.8531E-03	-.122	.366
T	2000	8.37E-03	8.2790E-02	2.07E-03	7.9656E-02	7.9656E-02	-.224	.389

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
4.00	500	6.23E-03			
2.00	500		.10869		
3.00	500			.12373	
1.00	500				.14622
Sig.	2000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
* Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 56. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.914	3	1.638	373.205	.000
Within Groups	7.005	1596	4.389E-03		
Total	.11919	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	.15245	4.8159E-02	4.82E-03	.14289	.16200	.044	.255
2	500	.12935	7.4317E-02	3.32E-03	.12282	.13588	-.080	.442
3	500	.12249	6.3386E-02	2.83E-03	.11692	.12806	-.206	.515
4	500	9.69E-03	6.3533E-02	2.84E-03	4.1110E-03	4.5276E-02	-.147	.283
T	2000	9.13E-02	8.6335E-02	2.16E-03	3.7022E-02	9.5489E-02	-.206	.515

Homogeneous Subsets

Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
4.00	500	9.69E-03	.12249	.15245
3.00	500			
2.00	500			
1.00	500			
Sig.	2000	1.000	.654	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000

Tabla 57. Comparación de medias y análisis de varianza de acetilcolinesterasa insensible en individuos que no sobrevivieron de las poblaciones de Tamaulipas.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.863	3	.288	9.296	.000
Within Groups	49.369	1596	3.093E-02		
Total	50.231	1599			

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	500	-6.3E-03	2.6690E-02	2.67E-03	1.16159E-02	.02411E-03	-.060	.125
2	500	-4.9E-02	.23222	1.04E-02	6.95233E-02	2.8714E-02	-.137	.130
3	500	7.61E-03	1.7960E-02	8.03E-04	6.0337E-03	9.1899E-03	-.151	.052
4	500	-8.8E-03	.21105	9.44E-03	2.73224E-02	9.7664E-03	-.3460	.368
T	2000	-1.6E-02	.17724	4.43E-03	2.48003E-02	7.41795E-03	-.3460	.368

Homogeneous Subsets
Tukey HSD^a

VAR00001	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
2.00	500	-4.9E-02	
4.00	500	-8.8E-03	-8.8E-03
1.00	500		-6.3E-03
3.00	500		7.61E-03
Sig.	2000	.051	.725

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 500.000.

LITERATURA CITADA

- Agosin M. 1985. Role of microsomal oxidations in insecticide degradation. *Comp. Insect Physiol. Biochem. Physiol.* 12:647-712.
- Anónimo 1992. Guidelines for the prevention and control of dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas. Report of the dengue guidelines meeting. Washington, D.C.
- Anónimo. 1957. World Health Expert Committee on Insecticides 7th Report. WHO Technical Report Series No. 125.
- Barud A. 2006. Reporte Final: Inventario de Plaguicidas Agrícolas usados en la Frontera México-Estados Unidos. Organización Panamericana de la Salud. Oficina de Campo. México-Estados Unidos.
- Bentley WJ, Zalom FG, Barnett WW, and Sanderson JP. 1987. Population densities of *Tetranychus* spp. (Acari: Tetranychidae) after treatment with insecticides for *Amyelois transitella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* 80:193-200.
- Bisset JA. 1990. The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Bulletin of entomological research.* 80:245-250.
- Bisset JA. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Rev. Cub. Med. Trop.* 54(3):202-219.
- Brogdon WG and AM Barber. 1996. Microplate assay of glutathione s-transferase activity for resistance detection in single mosquito triturates. *Comparative biochemistry and physiology* 339-342.
- Brogdon WG and CM Dickinson. 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analytical biochemistry.* 131:499-503.
- Brogdon WG. 1989. Biochemical resistance detection: an alternative to bioassay. *Parasitology Today.* 5:56-60.
- Brogdon WG. 2003. Managing the emergence of pesticide resistance in vectors. In: The Resistance phenomenon in microbes and infectious disease vectors. Stacey, L., M.L. Stanley, N. Marjan, and T. Burroughs, Editors. Natinal Academy of Sciences.

Brogdon, WG and JC McAllister. 1998. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time-mortality determinations in bottles. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* 14(2):159-164.

Brogdon, WG and JC McAllister. 1998. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time-mortality determinations in bottles. *J. Am. Mosq. Cont. Assoc.* 14(2):159-164.

Center Diseases Control (CDC). 1980. *Aedes albopictus* infestation: United States, Brazil, Center for Disease Control and Prevention, United States Public Health Service: *Morbidity and Mortality Weekly Report* 35, 493-95.

Center Diseases Control (CDC). 1998. Evaluating mosquitoes for Insecticide Resistance. Web-Based Instructions. Disponible en línea: <http://www.cdc.gov/ncidod/wbt/resistance/>

Center Diseases Control (CDC). 2005. Dengue Fever. Disponible en línea: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/dengue/>

Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica (CENAVE). 2005. Dengue. Disponible en línea: <http://www.cenave.gob.mx/dengue/default.asp?id=13>

Curtis CF. 1985. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. *Bulletin Entomology Research* 75:259-265.

Devonshire AL. 1990. Biochemical and Molecular Genetic Analysis of Insect Populations Resistant to Insecticides. *Proceedings. Brighton Crop Protection Conference. Pest and Diseases.* 889-896 p.p.

Dye C. 1984. Models for the population-dynamics of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *J. Animal Ecology* 53(1):247-268.

Dyro FM. 2006. Organophosphates. Disponible en línea: http://www.emedicine.com/neuro/topic286.htm#section~author_information

Effler PV, Pang L, Kitsutani P, Vorndam V, Nakata M, Ayers T and Hawaii Dengue Outbreak Investigation Team. Dengue Fever, Hawaii, 2001–2002. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:5:742-749.

Environmental Protection Agency (EPA). 1997. Disponible en línea: <http://entweb.clemson.edu/pesticid/Document/EPAdef.htm>

Feyereisen R, Koener JF, Cariño FA and Daggett AS. 1990. Biochemistry and molecular biology of insect cytochrome P450 *In: Molecular Insect Science.* Hagedorn HH, JG Hildebrand, MG Kidwell and JH Law (eds.) Plenum, New York.

Feyereisen R, Koener JF, Farnsworth DE and Nebert DW. 1999. Isolation and sequence of cDNA encoding a cytochrome P450 from an insecticide-resistance strain of the house fly, *Musca domestica*. *Proc Natn. Acad. Sci. USA* 89,11998-12002.

Focks DA, Haile HG, Daniels E and Mount GA. 1993a. Dynamic life table model for *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Simulation results and validation. J Med Entomol 30:1018-1028.

Focks DA, Haile HG, Daniels E and Mount GA. 1993b. Dynamic life table model for *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). Analysis of the literature and model development. J Med Entomol 30:1003-1017.

Focks DA, Seawright JA and Hall DW. 1978. Laboratory rearing of *Toxorhynchites rutilus rutilus* (Coquillet) on a non-living diet. Mosquito News 38(3):325-328.

Focks DA. 2003; A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors. WHO. Disponible en línea: http://www.who.int/tdr/publications/publications/Pdf/dengue_review.pdf

García-Silva I, HH García-Da Silva and C García-Lima. 2003. Ovipositional behavior of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) in different strata and biological cycle. Acta Biol. Par., Curitiba. 32 (1,2,3,4):1-8.

Georghiou GP and Lagunes S. 1991. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Georghiou GP, M Whirt, H Tran, F Saume and Knudsen AB. 1981. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods: An index of cases reported through 1980. FAO Plant Production and Protection Series. FAO.

Georghiou GP. 1990. Implications of agricultural pesticide use in relation to the development of resistance in disease vector. Geneva. World Health Organization (unpublished document WHO/CTD/CA2/90.18).

Gilpin M.E. and G.A.H. McClelland (1979) Systems analysis of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. Fortschr Zool 25:355-388.

Githeko AK, Lindsay SW, Confalonieri UE and Patz JA. 2000. Bulletin of the World Health Organization. 78(9)1136-1147.

Gómez-Dantés H.; Tapia-Conyer R.; Velásquez-Monroy O. and Zarate-Aquino, ML. 1993. Monografía sobre la epidemiología del dengue. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. Pp. 60.

Gould F. 1984. Mixed function oxidases and herbivore polyphagy: the devil's advocate position. Ecol. Entomol. 9,29-34.

Gubler DJ. 1997 Chapter 2: Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. In: Gubler D.J. Kuno G., eds. Dengue and dengue hemorrhagic fever London. CAB International; Pp. 1-22.

- Gubler DJ. and Rosen L. 1976. Variation among geographic strains of *Aedes albopictus* in susceptibility to infection with dengue viruses. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*. 25, 318-325.
- Hemingway J. and Ranson H. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual. Rev. Entomol.* 45:371-391.
- Hemingway J. Boddington RG, Harris J. 1989. Mechanisms of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) from Puerto Rico. *Bull Ent Res* 79:123-130.
- Hemingway J. and Georghiou GP. 1983. Studies on malathion on the acetylcholinesterase of *Anopheles albimanus* resistant and susceptible to organophosphate and carbamate insecticides, *Pestic. Biochem. Physiol.* 19: 167-171.
- Hewingway J. KG Jayawardena and Herathe PRJ. 1986. Field and laboratory detection of the altered acetylcholinesterase resistance genes which confer organophosphate and carbamate resistance in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Bulletin of entomological research*. 76(559-565).
- Hewingway J. RP Penilla, AD Rodríguez, BM James and Edge W. 1997. Resistance management strategies in malaria vector mosquito control. A large scale trial in Southern Mexico. *Pest. Sci.* 51:375-382.
- Hewingway J. 1983. Biochemical studies on malathion resistance in *Anopheles arabiensis* from Sudan. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 77:477-480.
-
- Hewingway, J, KG Jayawardena, I Weerashinge and Herath PRJ. 1987. The use of biochemical test to identify multiple resistance mechanisms in field selected populations of *Anopheles subpictus* (Grassi). *Bulletin Entomology Research* 77:57-66. ®
- Hodgson E. 1985. Microsomal mono-oxygenases. *Comp. Insect Physiol. Biochem. Physiol.* 11,225-321.
<http://www.jornada.unam.mx/2007/08/13/index.php?section=opinion&article=016a2pol>
- Ibáñez-Bernal S. and H. Gómez-Dantés. 1995. Los Vectores del Dengue en México: Una revisión crítica. *Secretaria de Salud Pública* 37:53-63.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. 1992. Disponible en línea: <http://www.inegi.gob.mx/inegi/default.aspx>
- Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). 2005. Boletín Epidemiológico. Disponible en línea:
http://www.imss.gob.mx/IMSS/IMSS_SITIOS/DPM/Publicaciones/BoletinEpidem/2005/Nov_2005.htm

Integrated Taxonomic Information System. 2005. Disponible en línea:
<http://www.itis.usda.gov/index.html>

International Programme On Chemical Safety. Environmental Health Criteria 64. 1986.
Carbamate Pesticides: A General Introduction. Disponible en línea:
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc64.htm>

Jeong TC, Jeong HG and Yang KH. 1992. Induction of cytochrome P450 by dimethyl sulfoxide
in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Toxicol. Letters* 61:275-281.

Knudsen A. Bruce. (1983). *Aedes aegypti* and dengue in the Caribbean. Mosquito News. Vol. 43,
No. 3, pp. 269-275.

Koehn RK and Bayne BL. 1989. Towards a physiological and genetical understanding of the
energetics of the stress response. *Biological Journal of the Linnean Society* 37:157-171.

Lacayo M, Taylor R. and Duran H, Abell A. Outbreak investigation of dengue in Texas. (Late-
breaker). 2005. Presented at 54th Annual Meeting: American Society of Tropical
Medicine and Hygiene. Washington, DC.

Loaiza Becerra MH, Reyes Solís GC, Flores Suarez AE, Ponce García G and Fernández Salas I.
2005. Resistencia bioquímica al insecticida permetrina en tres poblaciones de *Aedes
aegypti* (L.) del norte de México, Memorias XL Congreso Nacional de Entomología.
Tapachula Chiapas, México.44-49.

Macdonald G. 1957. The epidemiology and control of malaria. Oxford: Oxford University Press.

McDonald PT. 1977. Population characteristics of domestic *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)
in villages on the Kenya coast I. Adult survivorship and population size. *J. Med Entomol.*
14:42-48.

Miller TA. 1988. Mechanisms of Resistance to Pyrethroid Insecticides. *Parasitology Today* 4(7)
S8-S12.

Miyazaki M, Ohyama H, Dunlap DY and Matsumura F. 1996. Cloning and sequencing of the
para-type sodium channel gene from susceptible and *kdr*-resistant German cockroaches
(*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). *Mol Gen Genet* 252:61-68.

Monath TP and FX Heinz. 1996. Flavivirus. *In: Fields Virology*. Fields B.N., Kinipe D.M.,
Howley.

Monath TP. 1986. *Aedes albopictus*, an exotic mosquito vector in the United States. *Annals of
Internal Medicine*. 105, 449-451.

- Morrison AC, A Astete, K Gray, A Getis, DA Focks, D Watts, M Sihuíncha and TW Scott. 2004. Spatial and temporal abundance patterns *Aedes aegypti* producing containers in Iquitos, Peru. *J Med Entomol* 41(6):1123-1142.
- Mortimer R. 1995. *Aedes aegypti* and Dengue fever. Microscopy-UK. Disponible en línea: www.microscopy-uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/art98/aedrol.html
- msnbc. 2007a. Paraguay in midst of dengue fever outbreak. State of emergency declared: 14,000 infected with mosquito-borne illness. Disponible en línea: (<http://www.msnbc.msn.com/id/17408802/>)
- msnbc. 2007b. Deadly dengue fever surging in Mexico. Mosquito-control teams dispatched to springtime tourist areas. 2007. Disponible en línea: <http://www.msnbc.msn.com/id/17876087/>
- National Center for Biotechnology Information. 2006. Disponible en línea: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Oppenoorth FJ. 1984. Biochemistry of insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2(22):187-193.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 1999. Informe sobre las enfermedades infecciosas: Eliminar obstáculos al desarrollo sustentable. WHO/CDS/99.1. Disponible en línea: <http://www.who.int/infectious-disease-report/idr99-spanish/pages/about.html>
-
- Patrick W. 1983. Biological Notes on Mosquitoes. Alameda County Mosquito Abatement District. Disponible en línea: <http://www.mosquitoes.org/index.htm>
- Peiris JSM, Dittus WPJ and Ratnayake CB. 1993. Seroepidemiology of dengue and other arboviruses in a natural population of toque macaques (*Macca sinica*) at Polonnaruwa, Sri Lanka. *J. Med. Primatol*. 22, 240-245.
- Pesticide Action Network North America. 2004. Disponible en línea: http://www.chemicalbodyburden.org/cs_organochl.htm
- Reeves WK. 2004. Oviposition by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in relation to conspecific larvae infected with internal symbiotes. *Journal of Vector Ecology* 29(1): 159-163.
- Restrepo I. 2007. Privatización de litorales y uso de plaguicida. La Jornada. Disponible en línea: <http://www.jornada.unam.mx/ultimas>
- Reyes-Villanueva F. 2004. Egg development may require multiple bloodmeals among small *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) field collected in Northeastern Mexico. *Florida Entomologist* 87(4).

- Rice CM. 1996. Flaviviridae: The viruses and their the replication. In: fields Viroly. Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M., Chanock R.M., Melnick J.L. Editors. 3era. Ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia; pp. 931-960.
- Rodhain F and L Rosen. 1997. Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. In: DJ Gubler and G. Kuno (eds.), Dengue and Dengue hemorrhagic fever. CAB International, New York, New York. Pp. 61-88.
- Rodhain F. 1991. The role of monkeys in the biology of dengue and yellow fever. Comp. Immunol. Micro. Infect. Dis. 14, 9-19.
- Rose RL, Gould F, Levi PE and Hodgson E. 1991. Differences in cytochrome P450 activities in tobacco budworm larvae as influenced by resistance to host plant allelochemicals and induction. Comp. Biochem. Physiol. 99B:535-540.
- Rosen L, Shroyer D, Tesh R, Frejer J and Lien JC. 1983. Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 32, 1108-1109.
- Rudnick A. 1984. Ecology of Dengue virus. Asian J. Infect. Dis. 2,156-160.
- Rudnick A. and Chan YC. 1965. Dengue-2 virus in naturally infected *Aedes albopictus* mosquitoes in Singapore. Science 149, 638-639.
- Ruigt DE. 1985. Pyrethroids, in: G.A. Kerkut, L.I. Gilbert (Eds.), Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, vol. 12, Pergamon Press, Oxford. Pp. 183-262.
- Russell BM, PN Foley and BH Kay. 1997. The importance of surface versus subterranean mosquitoes breeding during winter in north Queensland. Arbovirus Research Australia, 7:240-242.
- Russell RC. 1996. A colour photo atlas of mosquitoes of Southeastern Australia. Medical Entomology, Westmead Hospital.
- Schliessman DJ and Calheiros LB. 1974. A review of the status of yellow fever and *Aedes aegypti* eradication programs in the Americas. Mosquito News. 34:1-9.
- Scott JA. 1995. The molecular genetics of resistance: Resistance as a response to stress. Florida Entomologist 78(3) 399-414.
- Scott JG. 1988. Pyrethroid Insecticides. Atlas of Science: Pharmacology. 125-128.
- Siler J, Hall M and Hitchens A. 1926. Dengue: its history, epidemiology, mechanism of transmission, etiology, clinical manifestations, immunity and prevention. Philippine Journal of Science. 29, 1-302.

Smith TM and Stratton GW. 1986. Effects of synthetic pyrethroid insecticides on nontarget organisms. *Residue Rev* 97:93-120.

Snyder M, Hsu EL and Feyerisen R. 1993. Induction of cytochrome P450 activities by nicotine in the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *J. Chem. Ecol.* 19:2903-2916.

Soderlund DM, Sanborn JR, Lee PW. 1983. Metabolism of pyrethrins and pyrethroids in insects, in: D. Hutson, T.R. Roberts (Eds.), *Progress in Pesticide Biochemistry and Toxicology*, vol. 3, Wiley, New York. Pp. 401-435.

Southwood T.R.E., G. Murdie; M. Yasuno; R.J. Tonn and P.M. Reader (1972) Studies on the life budget of *Aedes aegypti* in Wat Samphaya Bangkok Thailand. *Bull WHO* 46:211-226.

Stacey, L, ML. Stanley, N Marjan and T Burroughs. Editors. National Academy of Sciences. Disponible en línea: <http://www.nap.edu>.

Tabachnick W.J. 1991. Evolutionary genetics and the Yellow Fever Mosquito. *American Entomologist* 37:14-24.

Tabashnik BE. 1989. Managing resistance with multiple pesticide tactics: Theory, Evidence and Recommendation. *J. Econ. Entomol.* 82:1263-1269.

Twiddy SS, Holmes HC and Rambaut A. 2003. Inferring the rate and time-scale of dengue virus evolution. *Mol. Biol. Evol.* 20, 122-129.

U.S. Army Environmental Hygiene Agency. 1992. Procedures for the Diagnostic Dose Resistance Test Kits for Mosquitoes, Body Lice and Beetle Pest of Stored Products. Aberdeen Proving Ground, Maryland, EUA.

Wang E, Ni H, Xu R, Barrett ADT, Watowich SJ, Gubler DJ and Weaver SC. 2000. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *J. Virol.* 74, 3227-3234.

Ware GW and DM Whitacre. 2004. An Introduction to Insecticides. University of Minnesota. Disponible en línea: <http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>

Waxman DJ and Azaroff L. 1992. Phenobarbital induction of cytochrome P-450 gene expression. *Biochem. J.* 281:577-592.

Weekly Epidemiological Report Epidemiology Unit Department of Health Services Sri Lanka. 2002. Dengue Haemorrhagic Fever: Vector Ecology and Bionomics. 30(9), Disponible en línea: [http://www.medinet.lk/epidemiology-unit/WER%2030%20\(9\).htm](http://www.medinet.lk/epidemiology-unit/WER%2030%20(9).htm)

WHO Technical Report Series No. 443. 1970. Insecticide resistance and vector control: seventeenth report of the WHO Expert Committee on insecticides.

Wilkinson CF and Brattsten LB. 1972. Microsomal drug-metabolizing enzymes in insects. *Drug Metab. Rev.* 1,153-227.

Williamson MS, Martinez-Torres D, Hick CA, and Devonshire AL. 1996. Identification of mutations in the housefly *para*-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides. *Mol Gen Genet* 252:51-60.

Wilson TG and C Turner. 1992. Molecular analysis of *Methoprene-tolerant* a gene in *Drosophila* involved in resistance to juvenile hormone analog insect growth regulators, In C. Mullin and J.G. Scott (eds.). *Molecular mechanisms of insecticide resistance*. American Chemical Society Symp. Series 505:99-112.

Womack M. (1993). The yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Wing Beats*, Vol. 5(4):4.

World Health Organization (WHO). 1981a. Instructions for determining the susceptibility of resistance of mosquito larvae to insect development inhibitors. Geneva. (unpublished document WHO/VBC/81.212).

World Health Organization (WHO). 1981b. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides, establishment of the base-line. Geneva, (unpublished document WHO/VBC/81.806).

World Health Organization (WHO). 1981c. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquitoes larvae to insecticides. Geneva. (unpublished document WHO/VBC/81.807).

World Health Organization. 1981d. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides diagnostic test. Geneva, (unpublished document WHO/VBC/81.806).

World Health Organization (WHO). 1986. Technical Report Series No. 737. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides: tenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control.

World Health Organization (WHO). 2002. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. Disponible en línea: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>

Zalom FG, Toscano NC and Byrne FJ. 2005. Managing resistance is critical to future use of pyrethroids and neonicotinoids. Disponible en línea: <http://CaliforniaAgriculture.ucop.edu>

RESUMEN BIOGRÁFICO

Guadalupe del Carmen Reyes Solís

Candidato para el grado de

Doctor en Ciencias Biológicas

Tesis: DOSIS DIAGNOSTICO Y ENSAYOS BIOQUIMICOS PARA MONITOREO DE RESISTENCIA EN POBLACIONES DEL MOSQUITO *Aedes aegypti* (L.) DE CINCO ESTADOS DEL NORTE DE MEXICO.

Campo de Estudio: Biología de la resistencia a insecticidas en mosquitos vectores de enfermedades

Datos Personales: Nacida en Mérida, Yucatán, México, el 28 de septiembre de 1975. Hija de José Antonio Reyes Cua y Teresita del Niño Jesús Solís Bojórquez..

Educación: Licenciada en Biología, egresada del Instituto Tecnológico No. 2 “Ing. José Alberto Navarrete Ruiz” situado en Conkal, Yucatán, México desde 2001.

Experiencia Profesional:

2006-2009 Estancia postdoctoral en Colorado State University, Fort Collins, CO, EUA. Bajo la dirección de William Black IV PhD., en el proyecto de resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) en América. Con financiamiento de UTMB, CONACYT y CSU.

2002-2006 Colaborador en el proyecto denominado: “Assessing the significance of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) in México. Con financiamiento de CONACyT. Bajo la dirección de la Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez. Laboratorio de Entomología Médica. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.

2002-2004 Colaborador como técnico de campo en el proyecto denominado “Trafficking potencial of West Nile Virus into Central America” con financiamiento de National Institutes of Health, bajo la dirección del Dr. Ildefonso Fernández Salas. Laboratorio de Entomología Médica. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

2001-2002 Colaborador como técnico de campo en el proyecto denominado “Trafficking potencial of West Nile Virus into Central America” con financiamiento de National Institutes of Health, bajo la dirección del Dr. José Farfán Ale, Dra. María Alba Loroño y M. en C. Julián García Rejón en el Laboratorio de Arbovirología del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” de Mérida, Yucatán, México.

