UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
DIVISION ESTUDIOS DE POSTGRADO

# CARACTERIZACION BIOQUIMICA DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN POBLACIONES ADULTAS DE *Aedes aegypti* (L.) EN CINCO MUNICIPIOS DE LA ZONA NORTE DEL ESTADO DE QUINTANA ROO, MEXICO

## T E S I S

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLOGICAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MEDICA

PRESENTA:

MED. JAIME SALOMON GRAJALES

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. ENERO DEL 2003

TM
RA644
.D4
S2
2003
c.1

1080124332

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
## DIVISION ESTUDIOS DE POSTGRADO

# INVESTIGACION BIOQUIMICA DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN POBLACIONES ADULTAS *Aedes aegypti* (L.) EN CINCO MUNICIPIOS DE LA QUINTANA ROO NORTE DEL ESTADO DE QUINTANA ROO, MEXICO

## T E S I S

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLOGICAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MEDICA

PRESENTA:

MED. JAIME SALOMON GRAJALES

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. ENERO DEL 2003

UANL
FONDO
TESIS MAESTRIA

TM
RA244
.D4
S2
2003

B U Raúl Rangel Frías
UANL
FONDO
TESIS MAESTRIA

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
DIVISION ESTUDIOS DE POSTGRADO

# CARACTERIZACION BIOQUÍMICA DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN POBLACIONES ADULTAS DE *Aedes aegypti* (L.) EN CINCO MUNICIPIOS DE LA ZONA NORTE DEL ESTADO DE QUINTANA ROO, MÉXICO.

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MÉDICA.

PRESENTA

MED. JAIME SALOMON GRAJALES

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, NUEVO LEON. ENERO DEL 2003

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS**

**DIVISION ESTUDIOS DE POSTGRADO**

# CARACTERIZACION BIOQUÍMICA DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN POBLACIONES ADULTAS DE *Aedes aegypti* (L .) EN CINCO MUNICIPIOS DE LA ZONA NORTE DEL ESTADO DE QUINTANA ROO, MÉXICO.

**TESIS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA MÉDICA.**

**PRESENTA: MED. JAIME SALOMON GRAJALES**

**COMISION DE TESIS**

Dra. Adriana E. Flores Suárez
Director de tésis

PhD. Ildefonso Fernández Salas
Secretario

PhD. Mohammad H. Baddi
Vocal (Co-director)

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.** **ENERO DEL 2003**

## DEDICATORIA

Con mucho amor a mi esposa Zarina, quien siempre me ha apoyado y no dudo lo seguirá haciendo en todos los caminos de mi vida.

A mis hijos Abraham, Tzietel y Danica por todo el amor que me han brindado y por ser parte de mi.

A mis padres por darme la vida y haber puesto en mí la semilla de la perseverancia.

A mis abuelos, tíos, hermanos y amigos quienes de una forma u otra me han estimulado para seguir adelante.

A la Dra. Adriana E. Flores Suárez por todas sus enseñanzas, paciencia y apoyo.

En agradecimiento especial al CONACyT ya que esta tesis fue realizada con financiamiento de dicho Organismo dentro del proyecto "Assesing the significance of insecticide resistance on *Aedes aegypti* L. in Mexico"

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Adriana E. Flores Suárez por aceptar dirigir la presente tesis.

Al Dr. Ildefonso Fernández Salas por su apoyo para culminar la presente.

Al Dr. Mohammad H. Badii Z. por sus enseñanzas y formar parte de mi comisión de tesis

A la Dra. Ma. Luisa Rodríguez Tovar por sus conocimientos y apoyo brindados.

A la M.C. Ma. Haydee Loaiza Becerra por su dedicación y apoyo para la realización del presente y por su amistad.

A todos mis compañeros y amigos de la Maestría por brindarme su amistad.

## INDICE GENERAL

**1.- Introducción** ..... 1

**2.- Objetivos**..... 3

2.1 Objetivo general..... 3

2.2 Objetivos particulares..... 3

**3.- Hipótesis**..... 4

**4.- Revisión de literatura**..... 5

4.1 Epidemiología del dengue..... 5

4.2 Vector del dengue..... 6

4.3 Resistencia..... 8

4.3.1 Definición..... 8

4.3.2 Mecanismos de resistencia..... 9

4.3.3 Sitios de acción de los insecticidas..... 13

4.3.4 Detoxificación..... 14

4.3.5 Resistencia a reguladores de crecimiento y bioinsecticidas 15

4.3.6 Resistencia en el control de enfermedades..... 16

4.3.7 Resistencia a piretroides..... 16

4.3.8 Manejo de poblaciones de vectores resistentes..... 17

4.3.9 Resistencia en mosquitos..... 18

**5.- Metodología** ..... 21

5.1 Localización geográfica..... 21

5.2 Medio físico..... 22

5.3 Municipios muestreados..... 25

5.4 Obtención del material biológico..... 33

5.4.1 Manejo del material biológico..... 34

5.4.2 Pruebas bioquímicas en microplacas..... 37

5.4.3 α y β esterasas ..... 38

5.4.4 Oxidasas..... 39

5.4.5 Glutatión-S-transferasa..... 40

5.4.6 Acetilcolinesterasa..... 41

5.4.7 Acetilcolinesterasa insensible..... 42

5.5 Análisis de resultados..... 43

**6.- Resultados y discusiones**..... 44

6.1 Actividad enzimática y umbral de tolerancia..... 44

6.1.1 Niveles promedio máximos B. Juárez..... 45

6.1.2 Niveles promedio máximos Cozumel..... 46

6.1.3 Niveles promedio máximos Isla Mujeres..... 47

6.1.4 Niveles promedio máximos Lázaro Cárdenas..... 48

6.1.5 Niveles promedio máximos Solidaridad..... 49

6.1.6 Número de mosquitos machos por arriba del umbral..... 50

6.1.7 Número de mosquitos hembras por arriba del umbral..... 51

6.2 Comparación de poblaciones en base a su actividad enzimática..... 53

6.2.1 Comparación de α estrasas machos entre poblaciones..... 53

6.2.2 Comparación de βesterasas machos entre poblaciones..... 53

6.2.3 Comparación de oxidasas machos entre poblaciones..... 54

6.2.4 Comparación de AChE machos entre poblaciones..... 54

6.2.5 Comparación de AChE insensible machos..... 55

6.2.6 Comparación de GST machos entre poblaciones..... 55

6.2.7 Comparación de α-esterasas hembras entre poblaciones..... 56

6.2.8 Comparación de β-esterasas hembras entre poblaciones..... 56

6.2.9 Comparación de Oxidasas hembras entre poblaciones..... 57

6.2.10 Comparación de AChE hembras entre poblaciones..... 57

6.2.11 Comparación de AChE insensible hembras..... 57

6.2.12 Comparación de GST hembras entre poblaciones..... 58

6.3 Gráficas de absorbancia y frecuencia en machos..... 59

6.4 Gráficas de absorbancia y frecuencia en hembras..... 66

6.5 Lectura de resultados..... 72

**7.- Conclusiones**..... 73

**8.- Literatura citada**..... 74

**9.- Anexo**..... 80

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1.-Mecanismos bioquímicos de resistencia a nivel molecular.....11

Figura 2.-Relación de resistencia cruzada de insecticidas usados .....12

Figura 3.-Mapa del Estado de Quintana Roo.....24

Figura 4.-Sitios donde se colectaron las muestras.....35

Figura 5.-Insectario del laboratorio de Entomología médica .....36

Figura 6.-Microplaca con reacción de oxidasa.....37

Figura 7.-Microplaca con reacción β-esterasa.....38

Figura 8.-Microplaca con reacción oxidasa.....39

Figura 9.-Microplaca con reacción GST.....40

Figura 10.- Microplaca con reacción AChE .....41

Figura 11-.Microplaca con reacción AChE insensible.....42

Figura 12.-Distribución de Frecuencias α -esterasa machos.....60

Figura 13.-Distribución de frecuencias β -esterasa machos.....61

Figura 14.-Distribución de frecuencias Oxidasas machos.....62

Figura 15.- Distribución de frecuencias AChE machos.....63

Figura 16.-Distribución de frecuencias AChE insensible machos.....64

Figura 17.-Distribución de frecuencias GST machos.....65

Figura 18.-Distribución de frecuencias α -esterasa hembras.....66

Figura 19.- Distribución de frecuencias β -esterasa hembras.....67

Figura 20.-Distribución de frecuencias oxidasas hembras.....68

Figura 21.-Distribución de frecuencias AChE hembras.....69

Figura 22.-Distribución de frecuencias AChE insensible hembras.....70

Figura 23.-Distribución de frecuencias GST hembras.....71

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de mecanismos de resistencia en insectos.....10

Cuadro 2. Niveles promedios máximos de absorbancia en Cepa New Orleans .....44

Cuadro 3. Niveles promedio máximos de absorbancia para B. Juárez.....45

Cuadro 4. Niveles promedio máximos de absorbancia para Cozumel.....46

Cuadro 5. Niveles promedio máximos de absorbancia para Isla Muejeres.....47

Cuadro 6. Niveles promedio máximos de absorbancia para L. Cárdenas.....48

Cuadro 7. Niveles promedio máximos de absorbancia para Solidaridad.....49

Cuadro 8. Número de mosquitos machos por arriba del Umbral de resistencia.....50

Cuadro 9. Número de mosquitos hembras por arriba del umbral de resistencia.....51

Cuadro 10. Porcentaje de mosquitos por arriba del umbral de resistencia.....52

Cuadro 11. Presencia de enzimas alteradas en las comunidades.....72

Cuadro 12. Anova para α-esterasa hembras.....80

Cuadro 13. Anova para β-esterasa hembras.....81

Cuadro 14. Anova para oxidasas hembras.....82

Cuadro 15. Anova para AChE hembras.....83

Cuadro 16. Anova para AChE insensible hembras.....84

Cuadro 17. Anova para GST hembras.....85

Cuadro 18. Anova para α-esterasa machos .....86

Cuadro 19. Anova para β-esterasa machos.....87

Cuadro 20. Anova para oxidasas machos.....88

Cuadro 21. Anova para AChE machos.....89

Cuadro 22. Anova para AChE insensible machos.....90

Cuadro 23. Anova para GST machos.....91

# RESUMEN

Se realizaron colectas y colonización de los mosquitos *Aedes aegypti (L.)* en el laboratorio de entomología médica, los cuales fueron representativos de cada uno de los cinco municipios muestreados, Benito Juárez, Cozumel, Isla Mujeres, Solidaridad y Lázaro Cárdenas, en el estado de Quintana Roo. Se seleccionaron 60 mosquitos hembras y 60 machos de un día de edad, sin alimentar, haciendo un total de 120 mosquitos por localidad. Se sometieron a pruebas bioquímicas para la determinación de enzimas de resistencia según la metodología de William G. Brogdon y Janet C. McAllister 1984. Los resultados obtenidos para cada población de *Aedes aegypti* se compararon con los obtenidos para la cepa susceptible New Orlenas. Considerando como límite de resistencia o umbral de resistencia los valores máximos de absorbancia en cada prueba enzimática. Se determinó la proporción de resistencia en cada una de las poblaciones para cada mecanismo α y β – esterasas, Oxidasas, AChE , AChE insensible y Gltutaión-S-transferasa. Se corroboró una vez más la teoría de que las hembras son más resistentes que los machos, debido a que en la mayoría de las pruebas la actividad enzimática fue mayor con respecto a machos; que de las cinco poblaciones estudiadas, las poblaciones de Isla mujeres y Solidaridad fueron las que presentaron el más bajo nivel de resistencia para organofosforados (OP) y carbamatos y piretroides, debido a que los niveles enzimáticos por arriba de la cepa susceptible, solo se elevaron en β- esterasas machos y oxidasas tanto hembras como machos, en la población de Isla Mujeres, y en Solidaridad se elevó para α - esterasas y AChE insensible tanto en hembras como machos.

# 1.- INTRODUCCIÓN

El dengue como enfermedad ha sido reportada en las Américas desde hace más de 200 años. Hasta 1960 la mayoría de los brotes de dengue ocurrían con intervalos de una o más décadas, pero ahora este intervalo se ha acortado. Durante la década de los 80's el problema del dengue se incrementó considerablemente en las Américas. Actualmente en México el dengue representa una de las más importantes enfermedades transmitidas por vector, aunado al incremento en el número de casos de ésta enfermedad, el problema se acentúa debido a la circulación de actual de los cuatro serotipos, y por sí esto fuera poco la presencia de cepas resistentes ha venido a incrementar el problema. La resistencia a insecticidas según la FAO (Food and Agriculture Organization, 1979), se define como la capacidad desarrollada por una población determinada de insectos a no ser afectada por la aplicación de insecticidas. Técnicamente la resistencia es definida como la habilidad complementaria y hereditaria propia de un individuo o conjunto de ellos que lo capacita fisiológica y etológicamente para bloquear la acción tóxica de un insecticida por medio de mecanismos metabólicos y no metabólicos , y en consecuencia sobrevivir a la exposición de dosis que para otros sería letal. El programa de vectores de la Secretaría de Salud en México han utilizado según la Norma Oficial Mexicana (NOM), los siguientes insecticidas desde 1960 para el control de mosquitos tanto vectores del paludismo como del dengue, el DDT (dicloro difenil tricloroetano), restringido su uso actualmente, pero se utilizó por tiempo prolongado, en rociados residuales en paredes viviendas; Malathión en rociados espaciales de ULV (ultra bajo volumen) tanto como para mosquitos *Anopheles* como *Aedes*; y temephos o gránulos de Abate al 1% en cuerpos de agua y recipientes domésticos