

LAS POBLACIONES DE *Aedes aegypti* DE ACAPULCO, GUERRERO SON RESISTENTES A PIRETROIDES TIPO I, PERO SUSCEPTIBLES A PIRETROIDES TIPO II Y PSEUDOPIRETROIDE

Felipe Antonio Dzul-Manzanilla¹, Cipriano Gutiérrez-Castro¹, Luis Hernández-Herrera¹, Jesús Ibarra-López¹, Wilbert Bibiano-Marín¹, Leonardo López-Damián¹. ¹Servicios Estatales de Salud de Guerrero, Avenida Ruffo Figueroa No. 6, Col. Burócratas, Chilpancingo, Guerrero. C.P. 39090, México. fdzul@me.com

RESUMEN: La resistencia a insecticidas es un problema que enfrentan los programas de prevención y control del Dengue. En México y el Estado de Guerrero se ha detectado un incremento de las frecuencias del gen de resistencia asociado con el uso de permectrina. Como parte de la solución la Secretaría de Salud desarrolló una red de monitoreo de resistencia a insecticidas. Los resultados de esta red documentan que las poblaciones de *Aedes aegypti* de Acapulco presentan susceptibilidad a carbamatos, organofosforados, piretroides tipo II, pseudopiretroides, y resistencia a piretroides tipo I.

Palabras clave: *Ae. aegypti*, resistencia a piretroides, Acapulco, Guerrero.

***Aedes aegypti* populations of Acapulco, Guerrero are resistant pyrethroids type i, but susceptible to pyrethroids type ii and pseudopyrethroid.**

ABSTRACT: The insecticide resistance is a problem faced by programs for prevention and control of dengue. In Mexico and the state of Guerrero has detected an increase in resistance gene frequencies associated with the use of permethrin. As part of the solution the Ministry of Health developed a network monitoring insecticide resistance. The results of this network documented that *Aedes aegypti* populations in Acapulco show susceptibility to carbamates, organophosphates, pyrethroids type II, pseudopiretroides, and resistance to pyrethroid type I.

Key words: *Ae. aegypti*, resistencia a piretroides, Acapulco, Guerrero.

Introducción

Las frecuencias de los genes de la resistencia asociada a la aplicación intensiva y extensiva para el control del vector del Dengue en México, se han incrementado drásticamente durante la última década (Flores *et al.*, 2005; Flores *et al.*, 2006; Saavedra-Rodríguez *et al.*, 2007; García *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2010; Aponte-Hincapie *et al.*, 2011; Siller *et al.*, 2011; Barbosa *et al.*, 2011; Vázquez-Martínez *et al.*, 2012; Flores *et al.*, 2013; Aponte-Hincapie *et al.*, 2013; Penilla-Navarro *et al.*, 2013), incluso los datos de la evolución de la resistencia en México han sido utilizados por la Organización Mundial de la Salud para ilustrar la posible evolución de resistencia en los Anofelinos (WHO, 2012).

En el Estado de Guerrero se han detectado dos mutaciones (V1016I y F1534C) cercanas al punto de fijación (Siller *et al.*, 2009; Siller *et al.*, 2011; Aponte *et al.*, 2013; Penilla *et al.*, 2013) y se ha determinado un incremento de la actividad de las enzimas que metabolizan a los insecticidas, específicamente de Citocromos, GSTs y Esterasas asociándose a la resistencia a piretroides (Aponte *et al.*, 2013; Aponte-Hincapie *et al.*, 2011).

Basados en esta evidencia, la Secretaría de Salud del Estado de Guerrero desarrolló una estrategia de manejo de la resistencia caracterizada por: 1) un cambio de grupo toxicológico de piretroides a organofosforados y carbamatos para el control del vector del dengue y 2) la implementación una red de monitoreo de resistencia a insecticidas.

El objetivo del presente es reportar los resultados de la red de monitoreo de resistencia a insecticidas en las poblaciones de *Ae. aegypti* de Acapulco, Guerrero usando las dosis diagnósticas y

razones de resistencia siguiendo la metodología de las botellas impregnadas del Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2010)

Material y Método

Material Biológico. En los bioensayos se usaron mosquitos adultos F1, hembras, y con 3-5 días de edad. Las colonias fueron obtenidas de huevos de muestras de ovitrampas instaladas (4400 ovitrampas) en 81 de colonias de Acapulco y cinco localidades (Xaltianguis, Tres Palos, Lomas de Chapultepec, La providencia y Km 30) del municipio de Acapulco a través del Sistema Nacional de Vigilancia Entomológica con ovitrampas.

Adicionalmente a las muestras de poblaciones locales de *Aedes aegypti* de Acapulco, se utilizó una cepa susceptible (New Orleans), la cual fue originalmente colectada en New Orleans, USA y proporcionada por el InDre.

Dosis Diagnósticas. La mortalidad aguda (24 hrs) y el derribo (Knock-Down, KD) resultado del contacto tarsal con las superficies impregnadas fueron medidos a través de la prueba de botellas de CDC. 100 mosquitos hembras F1 (25 por botellas, 4 botellas) fueron expuestos a cada dosis diagnóstica (DD) de los insecticidas y observados durante el tiempo de diagnóstico (TD). Las DD y TD que se utilizaron en el presente estudio fueron las recomendadas por el CDC (2010) y por la OMS (2013) (Tabla 1). Las DD y TD de Clorpirifos, Propoxur, Fenotrina y Etofenprox fueron determinadas con el método descrito por el CDC (2010) en la Universidad Autónoma de Nuevo León por el Grupo de investigación de la Dra. Adriana Flores. Los insecticidas grado técnico fue proporcionado por ChemService (West Chester, PA).

Tabla 1. Dosis diagnósticas y tiempo diagnóstico de insecticidas para mosquitos del género *Aedes*.

Bendiocarb	12.5	30-60 minutos.	CDC 2010 y OMS 2013
Malation	50		
Permetrina	15		
Deltametrina	10		
Lambdacialotrina	10		Dra. A. Flores. UANL
Etofenprox	5		
Clorpirifos	85		
Propoxur	3		
Fenotrina	2		

Adicionalmente, se expusieron 25 mosquitos en una botella impregnada con solo acetona, utilizándose esta como control negativo de la prueba.

El efecto de derribo fue registrado cada 10 minutos hasta el 100% de KD o 120 minutos. Posteriormente fueron transferidos a vasos de observación y alimentados con solución azucarada al 10%. A las 24 horas se registró la mortalidad aguda, considerando como mosquitos muertos: 1) mosquitos caídos en el fondo del recipiente, 2) mosquitos con apariencia anormal (alas abiertas, tarsos torcidos), 3) mosquitos con dificultades para volar.

Los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (2013) para interpretar los datos de mortalidad aguda son: 98-100% de mortalidad indica susceptibilidad, 90-98% de mortalidad sugiere resistencia y mortalidad < 90% indica resistencia.

Razón de Resistencia. Debido a que en las curvas de respuesta con las DD y TD se observaron diferencias entre los diferentes tipos de piretroides, se seleccionó un piretroide tipo I (permetrina), un piretroide tipo II (lambdacialotrina) y el pseudopiretoide etofenprox para confirmar o descartar la

resistencia observada con la técnica de DD. Cinco dosis de cada insecticida se utilizaron para determinar la LD₅₀ en las poblaciones de *Ae. aegypti* de Acapulco y en la cepa New Orleans. Las preparaciones y el estudio fue replicado tres veces. La razón de resistencia para la LD₅₀ fue calculada por dividir la LD₅₀ de las población de Acapulco entre la LD₅₀ de la cepa New Orleans. Para determinar si los LD₅₀ son diferentes entre insecticidas y entre cepas, se utilizaron las pruebas de sobrelape (Overlap Test) y la prueba de (Ratio Test) (Roberson et al, 1997). Los criterios utilizados para interpretar las RR son: RR > 10 indican altos niveles de resistencia, RR < 5 indican bajos niveles de resistencia (susceptibilidad) y RR entre >5 y < 10 indican moderados niveles de resistencia (Mazzari y Georghiou, 1995). Las LD₅₀ y LD₉₀ fueron calculadas en Stata 13.

Resultados y Discusión

Dosis diagnóstica. El análisis de Kaplan-Meier de los resultados de las dosis diagnósticas a organofosforados (clorpirifos y malation), carbamatos (propoxur y bendiocarb), piretroides tipo I (permetrina y fenotrina), piretroides tipo II (lambdacialotrina y deltametrina) y pseudopiretroides (etofenprox) son proporcionados en la figuras 1 y 2. Los resultados indican susceptibilidad a organofosforados, carbamatos, piretroides tipo II, pseudopiretroide; y resistencia a piretroides tipo I, específicamente a fenotrina y permetrina.

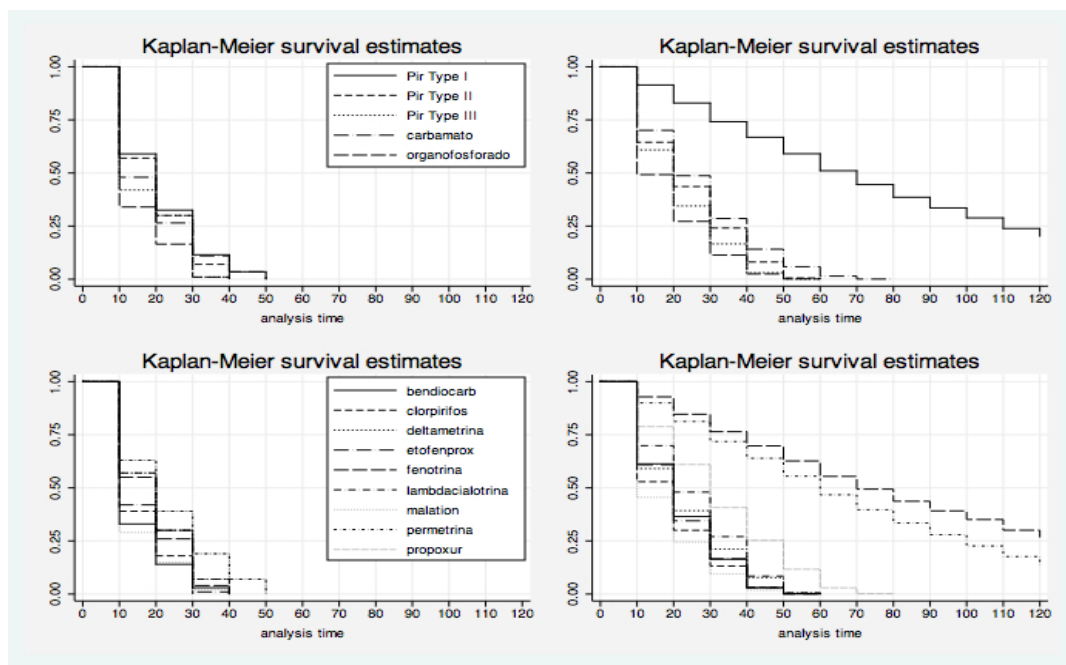


Figura 1. Análisis de Kaplan-Meier para las curvas de respuesta de *Ae. aegypti* de Acapulco (panel izquierdo) y la cepa New Orleans (panel derecho).

Razón de Resistencia. Los resultados de los análisis probit y el cálculo de los LD₅₀ de las poblaciones de *Ae. aegypti* de Acapulco y la colonia New Orleans expuestos a piretroides de diferente clase son presentados en la tabla 2. Las poblaciones de *Ae. aegypti* de Acapulco presentan altos niveles de resistencia (RR=13.543) al insecticida permetrina y bajos niveles de resistencia a los insecticidas Lambdacialotrina y Etofenprox (RR_{Lambda} = 4.560 y RR_{Eto}= 4.965) (Cuadro 1).

Dzul-Manzanilla. *et al.*: Las poblaciones de *Aedes aegypti* de Acapulco, Guerrero son resistentes a piretroides tipo I...

Cuadro 1. Dosis letal (LD₅₀) y razón de resistencia (RR) de tres insecticidas piretroides en poblaciones de *Ae. aegypti* de Acapulco.

Insecticida	Cepa	n	LD50	CI95%	Slope	SE	X(df)	P Value	RR
Permetrina	New Orleans	1500	0.613	0.014-1.401	1.292	0.104	22.096 (3)	0.000	1
	Acapulco	1500	8.302	5.629-14.832	1.745	0.098	19.430 (3)	0.000	13.543
Lambdacialotrina	New Orleans	1500	0.524	0.033-1.037	1.807	0.153	17.951 (3)	0.000	1
	Acapulco	1500	2.389	1.042-4.068	2.580	0.116	54.869 (3)	0.000	4.56
Etofenprox	New Orleans	1500	0.313	0.004-0.823	1.298	0.126	14.101 (3)	0.000	1
	Acapulco	1500	1.554	0.283-2.845	2.743	0.144	65.446 (3)	0.000	4.965

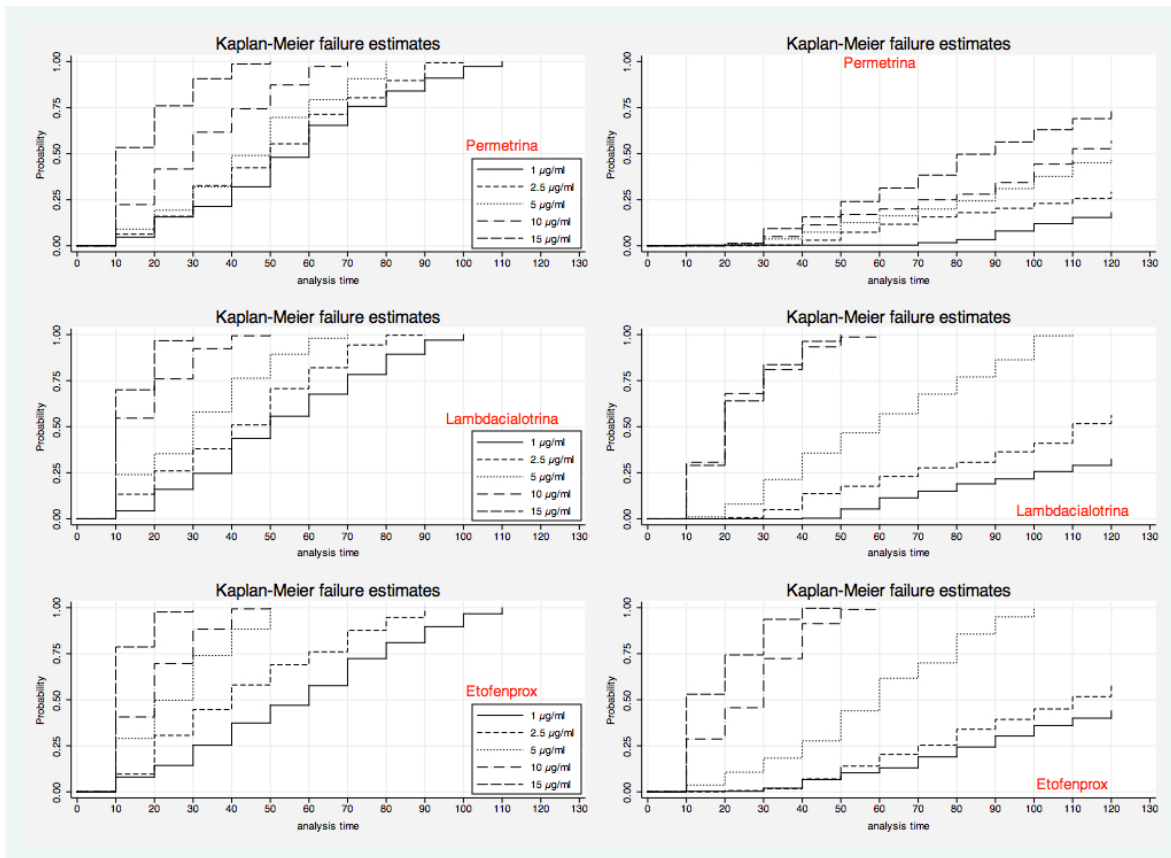


Figura 2. Análisis de Kaplan-Meier para las curvas de respuesta de *Ae. aegypti* de Acapulco (panel izquierdo) y la cepa New Orleans (panel derecho) a cinco dosis de tres piretroides.

Los resultados de las dosis diagnósticas y las razones de resistencia indican altos niveles de resistencia a los piretroides tipo I, y susceptibilidad a piretroides tipo II y pseudopiretroides. Sin embargo debido a la estrategia de manejo de la resistencia implementada en el Estado de Guerrero no es recomendable el uso piretroides tipo II y pseudopiretroides para el control del Dengue, ya que estos insecticidas podrían mantener los mecanismos de resistencia a piretroide y hacer completamente inefectivo el grupo completo de los piretroides.

Conclusiones y Recomendaciones

Las poblaciones de *Ae. aegypti* de Acapulco presentan susceptibilidad a carbamatos, organofosforados, piretroides tipo II, pseudopiretroides, y resistencia a piretroides tipo I. Los resultados del presente estudio recomiendan usar para el control del vector del dengue carbamatos y organofosforados y continuar monitoreando la resistencia a insecticidas.

Agradecimientos

Dra. Adriana Flores y Beatriz López por generar y proporcionarnos las dosis diagnósticas de Etofenprox, Clorpirifos, Propoxur y Fenotrina.

Literatura Citada

- Aponte-Hincapie A., F. Dzul-Manzanilla, A. Che-Mendoza, R. P. Penilla-Navarro, P. Manrique-Saide y A. Rodríguez-Ramírez. 2011. Resistencia a insecticidas piretroides mediada por mutaciones KDR en *Aedes aegypti* del estado de Guerrero, México. *Entomología Mexicana*, 10:655-660.
- Aponte-Hincapie A., P. Penilla-Navarro, F. Dzul-Manzanilla, A. Che-Mendoza, A. D. Lopez, F. Solis, P. Manrique-Saide, H. Ranson, A. Lenhart, P. J. McCall and A. D. Rodriguez. 2013. The pyrethroid resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* from Guerrero state, Mexico. *Pestic Biochem Physiol*, 107(2):226-234.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2010. Guidelines for Evaluation Insecticide Resistance in Vectors using the CDC Bottle Bioassay. Atlanta, Georgia 30333, USA. 56 pp.
- Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2010, para la Vigilancia Epidemiológica, Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector. 1 Junio del 2011.
- Flores A, W. Albeldaño-Vásquez, I. Fernández-Salas, M. Badii, H. Loaliza-Becerra, G. Ponce-García, S. Lozano-Fuentes, W. Brogdon, W. Black and B. Beaty. 2005. Elevated α -esterase levels associated with permethrin tolerance in *Aedes aegypti* (L.) from Baja California, México. *Pestic Biochem Physiol*, 82: 66-78.
- Flores A. E., J. S. Grajales, I. F. Salas, G. P. Garcia, M. H. Becerra, S. Lozano, W. G. Brogdon, W. C. Black WC and B. Beaty. 2006. Mechanism of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L.) from Quintana Roo, Southern Mexico. *J Am Mosq Control Assoc*, 22(4):672-677.
- Flores A. E., G. Ponce, B. G. Silva, S. M. Gutierrez, C. Bobadilla, B. López, R. Mercado and W. C. Black. 2013. Wide spread cross resistance to pyrethroids in *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae) from Veracruz state Mexico. *J Econ Entomol*, 106(2): 959-569.
- García G. P., A. E. Flores, I. Fernandez-Salas, K. Saavedra-Rodríguez, G. Reyes-Solis, S. Lozano-Fuentes, J. Guillermo Bond, M. Casas-Martínez, J. M Ramsey, J. García-Rejon, M. Domínguez-Galera, H. Ranson, J. Hemingway, L. Eisen y W. C. Black. 2009. Recent rapid rise of a permethrin knock down resistance allele in *Aedes aegypti* in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis*, 3(10):e531.
- Hernández-Ávila J. E., M. H. Rodríguez, R. Santos-Luna, V. Sánchez-Castañeda, S. Róman-Pérez, V. H. Ríos-Salgado and J. A. Salas-Sarmiento. 2013. National-wide, web-based, geographic information system for the integrated surveillance and control of dengue fever in Mexico. *PloS One*, 8(8): e70231.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2013. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. Geneva, Switzerland.

Dzul-Manzanilla. *et al.*: **Las poblaciones de *Aedes aegypti* de Acapulco, Guerrero son resistentes a piretroides tipo I...**

- Penilla-Navarro P., K. Saavedra-Rodríguez, F. Dzul-Manzanilla, A. D. Rodríguez-Ramírez, A. D. López-Solis, y W. C. William. 2013. *Aedes aegypti* de Acapulco Guerrero presentó altas frecuencias del gen de resistencia a piretroides “KDR”. *Entomología Mexicana*, 12(1); 896-900.
- Rodríguez A. D., F. Dzul-Manzanilla, P. Penilla-Navarro, A. Che-Mendoza, A. D. López Solís y F. Solís-Santoyo. 2010. Monitoreo de Resistencia a Insecticidas en *Aedes aegypti* de Acapulco, Guerrero, México. *Entomología Mexicana*, 9(1) 712-715.
- Saavedra-Rodríguez K., C. Strode, A. Flores Suarez, I. Fernandez Salas, H. Ranson, J. Hemingway, W. C. Black WC. 2007. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol*, 16(6):785-798.
- Siller Q., G. Ponce, S. Lozano, A. E. Flores. 2011. Update on the frequency of Ile1016 mutation in voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* in Mexico. *J Am Mosq Control Assoc*, 27(4): 357-362.
- Vazquez-Martinez N, F. Dzul-Manzanilla, A. Lopez-Solis, F. Solis-Santoyo, A. Rodriguez-Ramirez and P. Penilla-Navarro. 2012. Las Glutathion S-Tranferasas en *Aedes aegypti* resistentes a piretroides y DDT de Guerrero y Chiapas. *Entomología Mexicana*, 11(2): 874-879.
- World Health Organization (WHO). 2012. Global plan for insecticide resistance management in Malaria vectors (GPIRM). Geneva, Switzerland. Pp 132.
- Mazzari C. A. and G. P. Georghiuo. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field population of *Aedes aegypti* from Venezuela. *J Am Mosq Control Assoc*, 11: 315-322.