

Instituto Nacional
de Salud Pública

**MAESTRIA EN SALUD PÚBLICA EN SERVICIO
GENERACIÓN 2012-2014**

**“EVALUAR LA RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A INSECTICIDAS DE AEDES
AEGYPTI DENTRO DEL PROGRAMA DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR
VECTORES EN PUERTO VALLARTA, JALISCO”**

**PROYECTO TERMINAL PROFESIONAL
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN SALUD PUBLICA**

PRESENTA:

Fabian Correa Morales
fabiancorrea@msn.com

Coordinadora de la Maestría en Salud Pública en Servicio.

M.S.P. Rosaura Atrisco Olivos
Instituto Nacional de Salud Pública

Director de Proyecto:

M.S.P. Leandro Hernández Barrios
Servicios de Salud de Puebla

Asesora de Proyecto:

M.S.P. Carmen Delgadillo Jaimes
Secretaría de Salud de Jalisco

Cuernavaca, Morelos, Septiembre, 2015

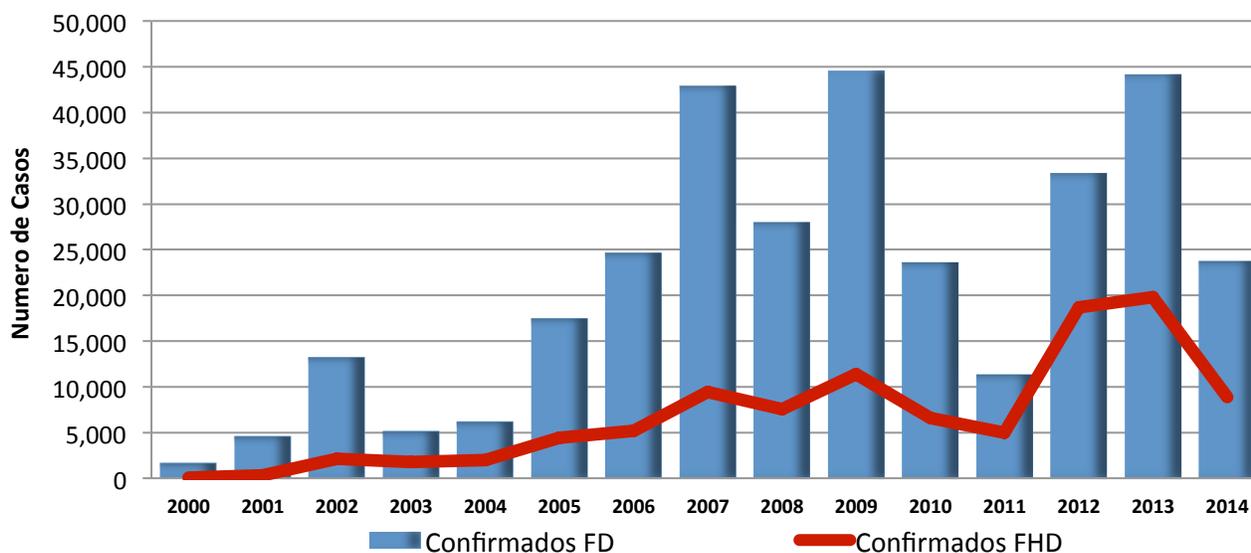
ÍNDICE

I.	Introducción.....	2
II.	Antecedentes.....	4
	i. Epidemiología.....	4
	ii. Enfermedad.....	6
	iii. Agente Patógeno.....	6
	iv. Vector.....	7
	v. Estrategia de gestión Integrada.....	8
	vi. Control vectorial.....	9
	vii. Resistencia a Insecticidas.....	10
	viii. Pruebas de Resistencia con Botellas CDC.....	12
	ix. Vigilancia Entomológica con Ovitrampas.....	13
III.	Justificación.....	14
IV.	Planteamiento del Problema.....	15
V.	Objetivos.	
	a. General.....	16
	b. Específicos	16
VI.	Material y Métodos.....	17
	a. Area de Estudio.....	17
	b. Material Biológico.....	18
	c. Bioensayos.....	19
	d. Dosis Diagnósticas.....	19
	e. Análisis de Datos.....	20
VII.	Resultados.....	21
VIII.	Discusión.....	25
IX.	Conclusión y recomendaciones.....	26
X.	Referencia Bibliográficas.....	27
XI.	Anexos.....	33

I. INTRODUCCIÓN

El dengue es una enfermedad febril sistémica causada por el virus dengue y transmitida por vectores del género *Aedes sp.*, presenta un grave impacto en Salud Pública teniendo grandes repercusiones sociales y económicas, que afectan no sólo al paciente sino a la familia y a la comunidad en su conjunto^{1,2,3,4,5}. Se calcula que el costo económico de la enfermedad es de 2.100 millones de dólares de los Estados Unidos por año⁶; se distinguen tres formas clínicas: Fiebre por Dengue (FD), Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) y el Síndrome de Choque por Dengue (SCHD)^{7,8}. Se estima que más del 40% de la población existente está en riesgo de contraer esta enfermedad calculando que en las últimas décadas cada año se registran entre 50 y 100 millones de casos en el mundo⁹. Así como en otros países, en México el Dengue representa un importante problema de Salud Pública que constituye pérdidas familiares y económicas, presentando en los últimos cinco años 136,336 casos de fiebre por dengue, 58,935 casos de fiebre hemorrágica por dengue y 462 defunciones (Figura 1)¹⁰.

Figura 1
Casos confirmados FD y FHD, 2000-2014



Los vectores de ésta enfermedad son *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) (Linnaeus 1762), y *Aedes albopictus* (*Ae. albopictus*) (Skuse 1984), quienes también transmiten el virus chikunguya (CHIKV) y virus del zika (ZIKAV)¹¹, pertenecen al orden Díptera, familia Culícida y subfamilia Culicinae. *Ae. aegypti* se distribuye ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales entre los 35° latitud Norte y 35° latitud Sur mientras que *Ae. albopictus* muestra un rápido ritmo de propagación geográfica y una alta capacidad de adaptación ecológica y fisiológica, aunado a su alta eficacia de transmisión de arbovirus hace que *Ae. albopictus* sea una grave amenaza para Salud Pública, especialmente para las poblaciones vulnerables^{12,13}.



Figura. 2. Especies Vectores transmisores de Dengue, Virus Chikungunya y Zika.

En ausencia de una vacuna eficaz y efectiva contra los cuatro serotipos del virus Dengue^{14,15} y métodos escalables que modifiquen la conducta humana para evitar el desarrollo del vector en los domicilios, la reducción del dengue tiene como eje principal la aplicación de insecticidas para disminuir las poblaciones tanto de *Ae. aegypti* como de *Ae. albopictus* en su fase larvaria hasta adulta¹⁶. En México, el uso de los insecticidas contra estos vectores requiere de la evaluación previa de la efectividad de los insecticidas, puesto que el uso no racional presiona al fenómeno de resistencia en los insectos vectores. Ante la escases de estudios específicos se han empleado insecticidas para el control vectorial de diferentes grupos químicos: Organofosforados, Carbamatos, Piretroides y Organoclorados, lo que ha llevado a obtener gran variabilidad en la eficacia biológica de dichos insecticidas al ser utilizados en la contención de brotes dentro del programa nacional de enfermedades transmitidas por vector, tal como ocurrió en el estado de Tabasco en el año 2013¹⁷.

Las altas densidades poblacionales de *Ae. aegypti*, ciclos biológicos cortos, aunado al uso irracional de insecticidas, así como la diferente presión de selección que se puede mostrar por regiones (estados), hace necesario el realizar estudios específicos por estados con alta transmisión a dengue. Dado lo anterior, se tiene conocimiento que en el programa de vectores nacional es necesario conocer la variabilidad de resistencia y/o susceptibilidad de las poblaciones de mosquitos *Aedes aegypti* a los principales grupos de insecticidas utilizados en el control de vectores.

El presente estudio es el inicio de una estrategia que permitiera al Programa Estatal de Prevención y Control de Enfermedades Transmitedas por Vectores, modelar un plan de rotación de insecticidas en base al estatus de resistencia/susceptibilidad, el cual se vería reflejado en un costo beneficio en la salud de la población.

El estudio se realizó en una localidad que históricamente ha presentado alta transmisión de la enfermedad de dengue, los casos confirmados que anualmente se presentan en esta región, hace que sea un punto importante a nivel nacional, ya que si se establece una buena estrategia de control, la transmisión sería disminuida en un alto porcentaje que se reflejaría en los casos a nivel nacional. La localidad de estudio fue Puerto Vallarta, Jalisco, México.

II. ANTECEDENTES

i. EPIDEMIOLOGÍA

El Dengue es una enfermedad infecciosa sistémica que presenta una etiología viral que es transmitida por mosquitos del Género *Aedes*, generalmente se encuentran dentro de las viviendas y se reproducen en una gran variedad de recipientes que almacenan agua limpia: tambos, tanques, cisternas, cubetas, macetas, pilas, etc.¹⁸; se considera un problema de Salud Pública a nivel mundial, debido a que presenta una gran variedad de determinantes: el cambio climático, el acceso a servicios públicos municipales, el aumento de la población mundial en áreas urbanas de ocurrencia rápida y desorganizada¹⁹. Según la Organización Mundial de la Salud, 2,500 millones de personas (dos quintos de la población mundial) corren el riesgo de contraer la enfermedad. La mayor velocidad con la que se transportan las personas, desde y hacia las zonas endémicas, ha contribuido al aumento. La incidencia mundial de Dengue ha crecido dramáticamente en las últimas décadas, alrededor de 2.5 billones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad, esto representa el 40% de la población a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud estima que anualmente ocurren alrededor de 50-100 millones de infecciones por dengue²⁰. Antes de 1970 solamente 9 países eran endémicos a esta enfermedad sin embargo actualmente se tiene registro de más de 100 países, siendo la región de América, sureste de Asia y el Pacífico occidental las más afectadas. En las dos últimas décadas en México, se ha considerado una enfermedad de importancia para la Salud Pública por su magnitud y trascendencia, tomando en cuenta que se cuenta con áreas que reúnen condiciones geográficas, epidemiológicas, demográficas y socioeconómicas que favorecen su transmisión. Con respecto a la fiebre por Chikungunya desde 2014 en México, se han comenzado a presentar brotes, aunque ésta enfermedad generalmente no tiene consecuencias graves, en promedio se presentan de dos o más semanas de incapacidad laboral, actualmente a la semana epidemiológica No. 37 del 2015 se tienen registrados 7,413 casos y cero defunciones²¹, es importante señalar que a pesar que tienen un diagnóstico clínico diferencial, las estrategias de prevención y control son las mismas que se presentan en las localidades endémicas a Dengue.

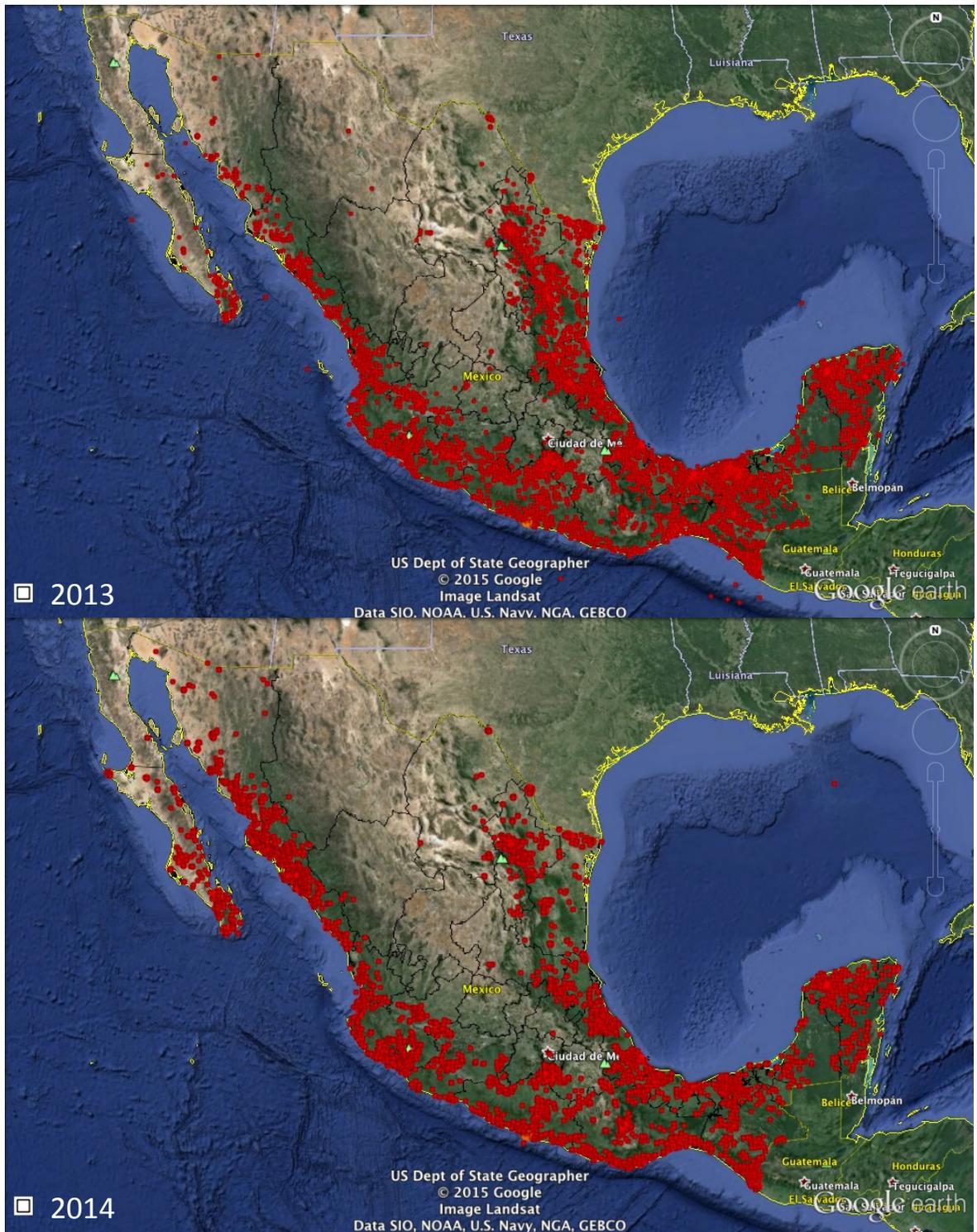


Figura. 3. Distribución espacial de Casos confirmados para FD y FHD durante 2013 y 2014.

Fuente: Plataforma del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, SINAVE

ii. ENFERMEDAD

El cuadro clínico para dengue es fiebre indiferenciada, Fiebre por Dengue (FD), Fiebre hemorrágica por Dengue (FHD) o Síndrome de Choque por Dengue cabe mencionar que también se presenta asintómicamente la enfermedad; es considerada la enfermedad más común transmitida por el grupo de los Artrópodos (arbovirosis) ²². Se reconocen cuatro fases: la fase de incubación, de tres a diez días; la fase febril, de dos a siete días; la fase crítica (fuga plasmática) entre el tercer y séptimo día de inicio de la fiebre; y la fase de recuperación (reabsorción de líquidos) entre el séptimo y décimo día. La variabilidad clínica está relacionada con la respuesta inmunológica del huésped a la infección, la co-morbilidad y los factores de riesgo presentes, la exposición previa a la enfermedad, y la virulencia de la cepa viral²³.

iii. AGENTE PATÓGENO

Dengue Virus DENV, es un arbovirus que pertenece al serocomplejo dengue, género Flavivirus, familia Flaviviridae, presenta cuatro serotipos; DENV-1, 2, 3 y 4, posee un genoma de RNA de cadena positiva monocatenaria, esférico, con un tamaño aproximado de 50 nanómetros, envueltos con una capa lipídica, conformada por 3 proteínas estructurales: C, prM y E, y 7 no estructurales: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5 ²⁴.

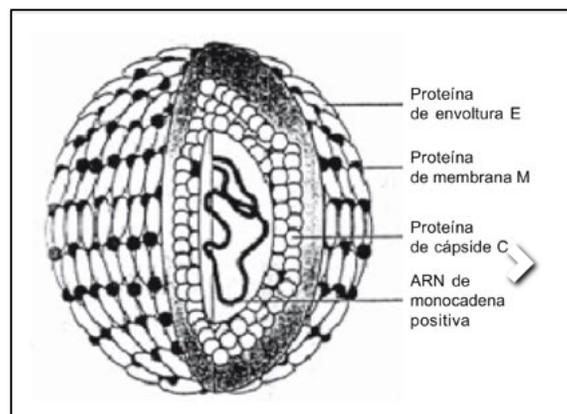


Figura. 4. Estructura de Virus Dengue.

iv. VECTOR

a. Bionomía

El mosquito *Aedes aegypti* es de origen Africano, presenta una amplia distribución por las regiones tropicales y subtropicales del globo, se encuentra entre los 35° latitud Norte y 35° latitud Sur ²⁵. En cuanto a su rango de distribución altitudinal, por lo general se encuentra hasta 1,700 msnm., cabe mencionar que el rango promedio varía de 1,700 a 2,130 msnm.²⁶

Fue introducido a las Américas durante la conquista por medios terrestres, aéreos y acuáticos. Se le conocen tres variantes *Aedes aegypti* var. *tipo*, *Ae. aegypti*, *ssp. formosus* y *Ae. aegypti* var. *queenslandensis*, la que se distribuye por todo el mundo es la denominada *Tipo*, que se presenta en México ²⁷. Los mosquitos *Aedes*, son insectos que presenta metamorfosis completa (Holometábolo), su ciclo biológico presenta dos fases, una acuática donde se muestran las etapas de huevo, larva, pupa, y una fase aérea donde se exhibe la fase de adulto o imago ²⁵. La hembra es la única que presenta hematofagia, capaz de incubar y transmitir distintos patógenos después de haber ingerido sangre infectada. Se distribuye por todo el mundo, considerándose el principal vector de DENV a nivel mundial, esto se debe a su amplia distribución geográfica, su alto grado de susceptibilidad a infectarse con el virus, así como su cercana asociación con las viviendas humanas; es considerado completamente antropofágico, más aún, el hábito de tomar más de una alimentación de sangre durante su ciclo gonotrófico incrementa su capacidad vectorial, la transmisión se da después de alimentarse con sangre infectada, el virus pasa un periodo de incubación y replicación dentro de *Aedes aegypti*, a éste se le conoce como periodo extrínseco²⁸. Después de la alimentación sanguínea, la hembra busca sitios de reposo para la maduración de los huevos y posterior a su puesta (ovoposición) en lugares con humedad y temperatura adecuada, predominantemente sitios donde se encuentren recipientes con agua, colocando de 50-150 huevos por puesta, cada tercer día. Después de la fase de huevo, eclosionan las larvas, pasando por cuatro fases evolutivas: Larva I, larva II, larva III y larva IV, con un promedio de 7 a 15 días, hasta llegar a la última fase acuática: La pupa, que es la transición con la fase aérea, el adulto o imago, la cual no se alimenta²⁹. La última fase del ciclo de vida es el adulto e imago, el cual emerge a partir de la pupa, para posteriormente aparearse, al tercer día en promedio, y completar su ciclo gonotrófico con una ingesta de sangre antes de la oviposición. Los machos no presenta un riesgo epidemiológico ya que no se alimentan de sangre, solo de néctar de las flores, el porcentaje de emergencia de los machos es mayor al de las hembras ya que necesitan dejar endurecer el exoesqueleto (cuerpo quitinoso de todos los insectos) las primeras horas, y volar antes que las hembras, para poder aparearse con la mayor cantidad de hembras posible.

b. Morfología

En su etapa adulta puede distinguirse por sus marcas torácicas características, las cuales consisten en dos grupos de escamas plateadas en forma de media luna, una a cada lado de la mitad anterior del escudo, entre las cuales pasan dos líneas plateadas paralelas siguiendo la línea media del cuerpo casi hasta el escudete. Todo esto completa la ornamentación conocida como “en forma de lira invertida”. Pueden observarse también bandas blancas en los artejos tarsales y un patrón de escamas blancas a cada lado del clipeo de la hembra (Figura 5). Esta especie presenta dimorfismo sexual, y en la práctica, el macho puede distinguirse de la hembra por las antenas plumosas, palpos más largos y la terminalia: un apéndice en forma de ganchos

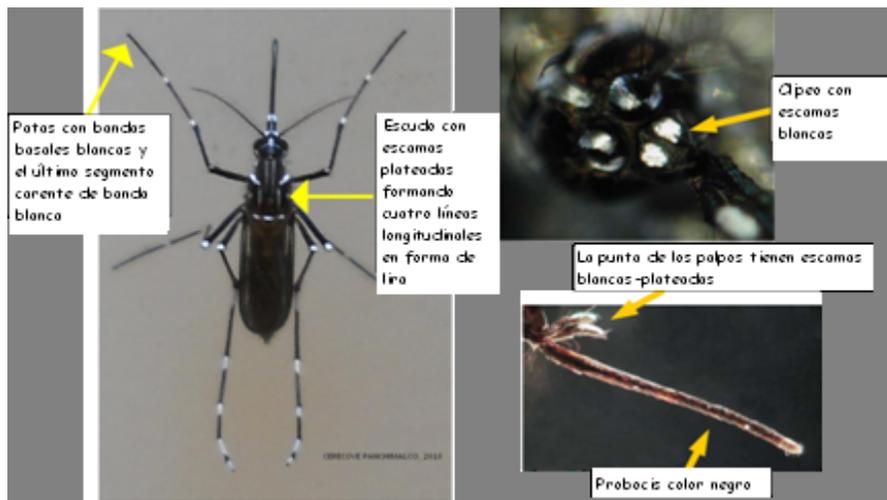


Figura. 5. Principales características morfológicas del mosquito adulto *Aedes aegypti*.

v. ESTRATEGIA DE GESTION INTEGRADA (EGI-DENGUE)

La OMS presenta una estrategia mundial para la prevención y control del dengue en 1999, en 2001 la OPS formuló directrices regionales contenidas en la Resolución CD43R4 de su Consejo Directivo. Estos programas buscaban promover una nueva generación de programas para reforzar los mecanismos de prevención y control del dengue los programas nacionales a través de la participación comunitaria, la educación sanitaria y la coordinación de acciones extra sectoriales con organizaciones gubernamentales y no gubernamentales. En el año 2003, en consejo directivo de la OPS/OMS se aprobó promover un cambio en el enfoque de los programas nacionales introduciendo el modelo de la EGI-Dengue, creando un grupo técnico de trabajo sobre el dengue en la Región.

La EGI es un modelo de gestión cuyo objetivo es “*fortalecer los programas nacionales a fin de reducir la morbilidad, mortalidad y la carga social y económica generada por los brotes y las epidemias de dengue*”. Para lo cual se promueve el cambio de conducta de las personas y de la comunidad de

manera tal que disminuyan los factores de riesgo de transmisión con acciones coordinadas dentro y fuera del sector salud. Promueve la elaboración de Planes Nacionales y subregionales integrales que permita trazar una estrategia nacional sostenible. Estas acciones deben tener un enfoque interprogramático, integrado e intersectorial, con fundamentos en una práctica que permita evaluar y dar continuidad a la acciones con recursos nacionales.

La estrategia integra seis componentes y sus consecuentes acciones. Estos componentes son: Epidemiología, Manejo Integrado de Vectores, Gestión del Ambiente, Atención al Paciente, Laboratorio y Vacuna.

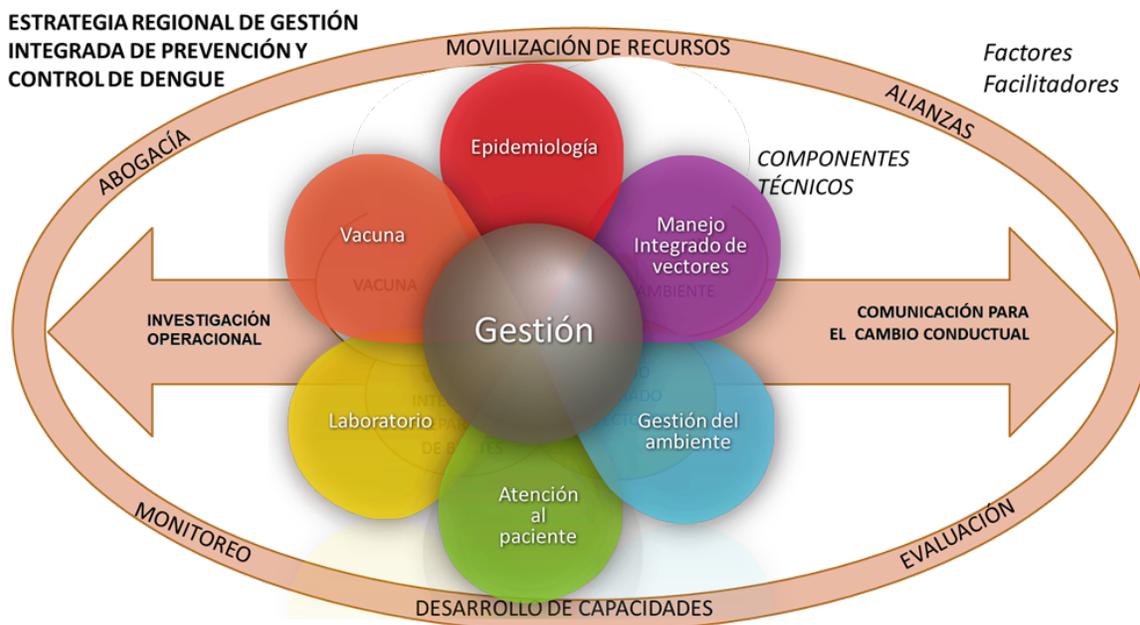


Figura 6. Componentes de la Estrategia de Gestión Integrada (EGI) según la OPS/OMS

Dentro del Componente de Manejo Integrado de vectores se considera el Control Vectorial y la evaluación de la eficacia biológica de los insecticidas empleados.

vi. CONTROL VECTORIAL

Debido a la eliminación de *Aedes aegypti*, como parte de la erradicación de la fiebre amarilla, en 1962 se declaró a México libre de ese vector. Sin embargo, en 1975 el país se reinfesta en las dos fronteras y en 1978 la enfermedad reaparece, dos años después se presenta una epidemia con poco más de 50 mil casos, para luego disminuir en los años siguientes. Esta experiencia debe tenerse siempre en cuenta, debido a que se perdió el control logrado en el programa al no invertir en la

prevención, vigilancia y control vectorial. Para disminuir el contacto humano-vector, la estrategia para controlar esta enfermedad en México es el manejo integrado con la participación de diferentes componentes y sectores, que desde décadas anteriores tiene como eje rector la disminución de la densidad poblacional de *Aedes aegypti*, desde su fase larvaria hasta adulto por medio de aplicaciones masivas y ciclos continuos con insecticidas. En los países de América la aplicación de insecticidas ha sido la principal medida de control para disminuir de forma rápida las densidades poblacionales del mosquito vector ^{30,31}.

En México, como en la mayoría de los Países, se han utilizado diversos insecticidas para el control del vector, por ejemplo el DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano), el cual fue usado intensivamente en los 60's para el control de la malaria, eventualmente se siguieron utilizando insecticidas organofosforados como el Malation (adulticida) y temefos (larvicida). El Malation se utilizó en aplicaciones espaciales de tipo ultra bajo volumen (UBV) mientras que temefos en gránulos sobre contenedores de agua que podrían ser criaderos de larvas de *Ae. aegypti* ³². La aplicación de ciertos grupos de insecticidas por periodos prolongados y la falta de estudio con objetivos establecidos al estudio de resistencia, ha llevado que el tema sea de importancia en la Salud Publica para medir y conocer el impacto en la población.

vii. RESISTENCIA A INSECTICIDAS

El uso indiscriminado de los diferentes grupos de insecticidas (Piretroides, organofosforados, organoclorados y carbamatos) para la erradicación de *Aedes aegypti*, por tiempos prolongados y dosis inadecuadas en los programas de control vectorial, ha presionado a la especie a generar cambios a nivel conductual, químico y genético, el cual se conoce como resistencia. En 1985, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) cambió la política de erradicación y propuso la política de control de dengue por la reducción del *Aedes*. En la década de los años 80, solo Cuba logró la reducción de la población de *Aedes aegypti*.

La Organización Mundial de la Salud ³³, define la resistencia como una característica hereditaria que permite una mayor tolerancia a un insecticida o grupo de insecticidas, de tal forma que los individuos resistentes sobreviven a una concentración determinada del compuesto que normalmente sería mortal para la especie. En otras palabras, los vectores no se mueren con la dosis estándar del insecticida (ya no son susceptibles) ³⁴.

La resistencia a insecticidas ha sido objeto de múltiples estudios, no solo por ser un ejemplo interesante de adaptabilidad de los insectos, sino porque es el principal motivo que favorece la transmisión de muchas enfermedades. La resistencia se ha desarrollado en cada uno de los grupos

de insecticidas, especialmente en los piretroides donde existen numerosos reportes sobre la resistencia en *Aedes aegypti*. El hecho de que la resistencia a un insecticida generalmente confiere resistencia cruzada a otros insecticidas, se convierte en el problema técnico más importante que enfrentan los programas de control de vectores. En cuanto a los insecticidas organofosforados, se conoce que la resistencia de *Aedes aegypti* a este grupo está generalizada en casi toda América³⁵. Son amplios los aspectos relacionados a susceptibilidad y resistencia del vector *Aedes aegypti* para tener un impacto general del uso de insecticidas aplicados para su control.

El primer caso reportado de insectos resistentes a insecticidas sintéticos fue en 1946 cuando se detectó resistencia a DDT en moscas domésticas de Suiza y Dinamarca³⁶. En 1960, se reportaron los primeros casos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos en *Aedes aegypti*, Fox reportó una cepa en Puerto Rico resistente 10X a malatión y diazinón³⁷. La capacidad de resistir a malatión se asoció con la detoxificación mediada por enzimas de actividad específica carboxilesterasas. La posible función de las enzimas específicas en el proceso de detoxificación de insecticidas, en *Aedes aegypti*, fue observada en larvas de la misma especie³⁸.

La resistencia a piretroides ha sido registrada para el género *Cx. quinquefasciatus*, así como en *An. albimanus*, *An. stephensi* y *An. gambiae* entre otros, mientras que para los piretroides el nivel de resistencia es amplio con respecto para *Ae. aegypti* de igual manera también se han presentado casos de resistencia al grupo de insecticidas de carbamatos y organofosforados³⁹. La resistencia fisiológica de *Aedes aegypti*, es un problema que preocupa a muchos países ya que representa un problema para el control, tal es el caso de Casanare, Colombia donde el dengue también es endémico, ellos determinaron la susceptibilidad de *Ae. aegypti*, obtenido de poblaciones naturales a los insecticidas que utilizan en salud pública y observaron que existe una pérdida de susceptibilidad a Organoclorados como el DDT y piretroides como Permetrina y Lambdacialotrina, dos de las localidades muestreadas presentaron susceptibilidad a Deltamentrina y otras cinco a Ciflutrina, con respecto a los organofosforados no se observó disminución en la susceptibilidad a Temefos, Malation y Fenitrothion, por lo que en Casanare, Colombia la utilización de organofosforados seguirá siendo la opción para la interrupción de la transmisión de dengue, sin embargo, en la localidad de Cucuta donde se determinó la resistencia de Temefos (Organofosforado) observando que la mortalidad de las larvas en campo a dos semanas de aplicación es menor al 80 % y menor al 50 % a las cuatro semanas de aplicación por lo que la estrategia de control en larvas, no tiene impacto, así también se determinó el mecanismo de resistencia, encontrando que existen diversos genes involucrados en la resistencia metabólica al Temefos lo cual limita las opciones para la utilización de insecticidas en esta etapa del mosquito⁴⁰. En México estudios de laboratorio utilizando la técnica de bioensayos en botellas descrito por la CDC (Center for Disease Control and Prevention) realizados en el estado de

Veracruz, han indicado resistencia a organofosforados en algunas cepas de *Aedes aegypti* tales como Coatzacoalcos, Poza Rica y Cosoleacaque, una cepa ligeramente resistente fue la de Veracruz y dentro de ese mismo estado se encontraron susceptibilidad con la cepa Tantoyuca y Martínez de la Torre, encontrando una correlación de la resistencia con los altos niveles de actividad de alfa o beta esterasa en la población muestreada lo que podría estar causando el desarrollo de resistencia hacia los organofosforados sin embargo los resultados mostraron menor resistencia al Clorpirifos que a los piretroides⁴¹. Por otro lado en Estados Unidos se evaluó la susceptibilidad de *Aedes albopictus* a los productos químicos que representan las principales clases de insecticidas con diferentes modos de acción: Organoclorados, Organofosforados, Carbamatos, Piretroides, reguladores de crecimiento (IGR), Biolarvicidas y Naturalytes (spinosad) utilizando una cepa susceptible de referencia (ATM95) en comparación con ocho poblaciones de Estados Unidos⁴², los resultados indicaron que en general existe susceptibilidad a los larvicidas y adulticidas disponibles actualmente, sin embargo, encontraron una resistencia significativa a diclorodifeniltricloroetano (DDT) en dos poblaciones de Florida y en una población de Nueva Jersey. Asimismo, se encontró resistencia al Malatión, un organofosforado, en Florida y Nueva Jersey y susceptibilidad reducida al IGR piriproxifen y metopreno. Todas las poblaciones analizadas fueron completamente susceptibles a los piretroides. Ensayos bioquímicos revelaron un importante sobre-regulación de glutatión S transferasa (GST) en las poblaciones resistentes al DDT en ambas etapas larvas y adultos así también las β -esterasas en las poblaciones con sospecha de resistencia a Malatión⁴³. Es de destacar que en ese estudio se identificó un polimorfismo de aminoácidos previamente desconocido (Phe \rightarrow Leu), en un lugar conocido asociado con la resistencia a los piretroides en *Aedes aegypti*. La resistencia observada al DDT en las poblaciones de Florida puede indicar múltiples introducciones de esta especie en EE.UU generando un problema para el control ya que los mecanismos que subyacen a la resistencia al DDT a menudo generan resistencia a piretroides⁴⁴.

Con la evidencia reportada en otros países sobre la resistencia a los diferentes grupos de insecticidas en *Ae. aegypti*, es necesario en México mantener una vigilancia en la conducta del vector principal, mediante estrategias sencillas, de bajo costo y altamente eficaces, que nos permitiera obtener el mosquito vector *Ae. aegypti* en sus primeras etapas evolutivas (huevo y larva) para posteriormente establecer estudios de resistencia/susceptibilidad por regiones donde se mantenga activa esta estrategia.

viii. PRUEBAS DE RESISTENCIA CON BOTELLAS DEL CDC

El ensayo biológico (bioensayo) de pruebas de botellas del CDC (Centers for Disease Control and Prevention) es un protocolo propuesto por Brogdon y McAllister (1998), en la cual describe la técnica como una herramienta de vigilancia para detectar la presencia de resistencia a insecticidas en

poblaciones de vectores⁴⁵. El ensayo ha sido diseñado para ayudar a determinar si una determinada formulación de un insecticida puede controlar un vector de un lugar específico en un momento en particular. Esta información, combinada con resultados de ensayos biológicos mediante sinergistas y de pruebas bioquímicas y moleculares, puede ayudar a determinar cuál insecticida se debería usar para controlar la población de un vector en caso de detectar resistencia⁴⁶.

Una ventaja importante de este ensayo biológico es que se pueden evaluar diferentes concentraciones de un insecticida. Además, la técnica es simple, rápida y económica comparada con otras alternativas. El ensayo biológico de la botella de los CDC puede ser utilizado como parte de un programa más amplio de monitoreo de la resistencia a insecticidas, el cual incluye el ensayo biológico basado en papel de la Organización Mundial para la Salud, así como los métodos bioquímicos y moleculares.

ix. VIGILANCIA ENTOMOLÓGICA CON OVITRAMPAS

En México, la estrategia para estimar la abundancia de los mosquitos *Aedes*, se conoce como vigilancia entomológica de *Aedes aegypti* con ovitrampas, el cual monitorea constantemente sitios de oviposición (ovitrampas) en cada estado logrando así identificar las áreas de mayor riesgo o prioritarias para ser intervenidas. Las ovitrampas desde su aparición en 1965 han sido utilizadas ampliamente ya sea de manera tradicional o con algunas modificaciones, ésta herramienta permite determinar la distribución del mosquito, medir la fluctuación estacional, la población media y por último es base para las evaluaciones de insecticidas y medidas de control. También se utilizan como una estrategia de muestreo presencia-ausencia, lo cual permite una estimación de la densidad mediante la proporción de muestras positivas; actualmente las ovitrampas se encuentran instaladas en la mayor parte del país como parte del programa nacional contra el dengue y además de la vigilancia entomológica y evaluación de las actividades de control proporciona el material biológico necesario para la determinación de resistencia a los insecticidas que se utilizan en el programa de control, ya que se ha observado que en ocasiones los brotes a pesar de las aplicaciones de adulticidas y las actividades de control larvario intensivo no disminuyen con la rapidez esperada tal como se observó en el brote en tabasco en el año 2013, así también en el 2014 en estados como Nuevo León y Michoacán que a pesar de haber realizado constantemente acciones de control, permanecieron brotes activos, en estudios realizados en ese momento demostraron que la efectividad de los insecticidas que se estaban aplicando no era la deseada, ya que los mosquitos no morían lo que sugería que la resistencia a los insecticidas estaba siendo un problema en el control. Al respecto, las políticas de Salud Pública y las directrices de los actuales programas de prevención y control de las enfermedades transmitidas por vector, recomiendan la realización de estudios de susceptibilidad a insecticidas y la determinación de los mecanismos de resistencia,^{47,48} con la finalidad de que los

directivos de los programas, cuenten con la evidencia para la toma de decisiones en la selección de insecticidas y desarrollen e implementen estrategias integrales de manejo de la resistencia a fin de asegurar la efectividad de los insecticidas en el presente y el futuro.

III. JUSTIFICACIÓN

Existe un gran número de insectos vectores resistentes a la acción de los insecticidas², de ellos, la especie *Aedes aegypti* representa un problema de Salud Pública debido al papel fundamental que desempeña como principal vector de Dengue y otras enfermedades transmitidas por vector, México no es la excepción, y a pesar que anualmente se presentan miles de casos aún no se cuenta con información suficiente que permita identificar la susceptibilidad y resistencia de los grupos o insecticidas empleados en el control de los vectores transmisores de enfermedades, en este caso particular del vector de Dengue y Chikungunya.

El monitoreo de la resistencia debería ser parte integral en el programa de control ya que esta puede ser un factor determinante de éxito o falla en el control químico de adultos o larvas, ya que si la población de *Ae. aegypti* presenta resistencia no se obtendrán los niveles de mortalidad esperados. Actualmente la utilización de insecticidas se realiza de manera generalizada sin analizar el comportamiento por entidad y región. Aún más allá de esto, el empleo irracional de los insecticidas, aplicando sobredosificación o subdosificación, sin evaluar, podría desencadenar una serie de consecuencias que impactan en la salud pública; tales como: Mortalidades en las poblaciones del vector por debajo de los valores indicados originando un bajo impacto en las acciones de control y la proliferación de brotes epidémicos de grandes magnitudes, como el ocurrido varios estados de México, adicionándolo al impacto ambiental que se genera.

Para los programas de Salud Pública que usan insecticidas en el Control integral de los Vectores, es más importante prevenir la resistencia que revertirla⁴⁹. El enfoque preventivo no es considerado o no existe en los programas de vigilancia, prevención y control del Dengue en México y en el enfoque reactivo se aplica de manera obligatoria, debido a lo anterior se propone en este estudio medir la resistencia a insecticidas en el vector transmisor de dengue en Puerto Vallarta, Jalisco como inicio de este programa. Pensando que la resistencia es un recurso no renovable, la implementación de Manejo Integrado de la Resistencia siempre es beneficiada en cuanto al costo- efectividad a largo plazo, aunque parezca que la implementación sea ligeramente más costo-efectiva en corto plazo⁴⁹.

Actualmente en México no se cuenta con información suficiente que permita identificar la susceptibilidad y resistencia de los grupos de insecticidas empleados en el control de los vectores transmisores de enfermedades, en este caso particular del vector de Dengue; aunado a ello, el empleo poco controlado de insecticidas para uso agrícola, ha generado en muchas regiones la

necesidad de utilizar dosis más altas o grupos químicos diferentes de manera generalizada. Aún más allá de esto, el emplear insecticidas sin evaluar su eficacia biológica podría desencadenar una serie de consecuencias que impactan en la salud pública. La evaluación de la resistencia o susceptibilidad a insecticidas del vector proporcionará evidencia de la situación por región y permitirá mantener un programa de control químico regionalizado y con mayor impacto en la aparición de casos de Dengue, con menor impacto al ambiente, lo que favorecerá el uso racional de insecticidas.

Por lo anterior y considerando que los programas de control en las entidades deben contar con elementos técnicos para la toma de decisiones en control vectorial, surge la necesidad de caracterizar el fenómeno de la resistencia de *Ae. aegypti* a los insecticidas de mayor uso para el control del dengue, determinando sus niveles de resistencia y su eficacia biológica con el fin de optimizar el uso racional de estos insecticidas o proponer nuevas alternativas de control.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El estudio se realizó en la localidad de Puerto, Vallarta, Jalisco, dentro del Programa de control de vectores del Estado, en la Región Sanitaria VIII. Esta ciudad es un destino turístico de nuestro país y anualmente se presentan casos de dengue autóctonos e importados, lo que ha originado una constante lucha contra el mosquito trasmisor con insecticidas. En años anteriores donde se presentaron brotes epidémicos se observó que el tiempo para poder controlarlos se ha alargado lo que sugiere que los insecticidas no están ocasionando el impacto requerido, tal como se mencionó anteriormente en el brote de Tabasco, 2013. A pesar de que hay estudios sobre la resistencia, no se tiene información concreta, es decir niveles de resistencia por regiones. Con la información generada en este proyecto será posible generar un plan estratégico para el manejo de la resistencia de Puerto Vallarta con el objetivo de extenderse y lograrlo a nivel nacional.

V. OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar la resistencia y susceptibilidad a los insecticidas empleados para el control de *Aedes aegypti* en el programa de enfermedades transmitidas por vectores de Puerto Vallarta, Jalisco.

Objetivos Específicos

- Establecer colonias de *Aedes aegypti* provenientes de la localidad de Puerto Vallarta, Jalisco en condiciones de insectario.
- Realizar el ensayo de susceptibilidad a los insecticidas Deltametrina, Bifentrina, Malatión Clorpirifos, Bendiocarb y Propoxur con la técnica de botellas del CDC.
- Establecer los parámetros de susceptibilidad a los insecticidas Deltametrina, Bifentrina, Malatión Clorpirifos, Bendiocarb y Propoxur de las colonias de *Aedes aegypti* provenientes de la localidad de Puerto Vallarta, Jalisco.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio.

Los estudios entomológicos se realizaron en la localidad de Puerto Vallarta, esta está identificada como área de estrato 1, es decir, de alto riesgo de transmisión y brotes de dengue (definido por el Programa Estatal de Prevención y Control del Dengue). El estudio se realizó en localidad de Puerto Vallarta, Jalisco, ubicado en la costa del pacifico mexicano (20°, 37 N, 105°14 O, 40 msnm). De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática ⁵⁰ Puerto Vallarta tiene 255,681 habitantes (127,104 mujeres y 128,577 hombres), quienes viven en aproximadamente 66,818 viviendas. De este universo de viviendas, el 24% (63,492/255681) carece de una red hidráulica y menos del 20% recibe agua por tandeo. El clima de Puerto Vallarta es principalmente cálido-subhúmedo, con un rango de temperatura de 20-28°C y dos épocas claramente diferenciadas: la época de secas de Noviembre a Abril y la época de lluvias de Mayo-Octubre con una rango de precipitación de 1100-2000 mm.

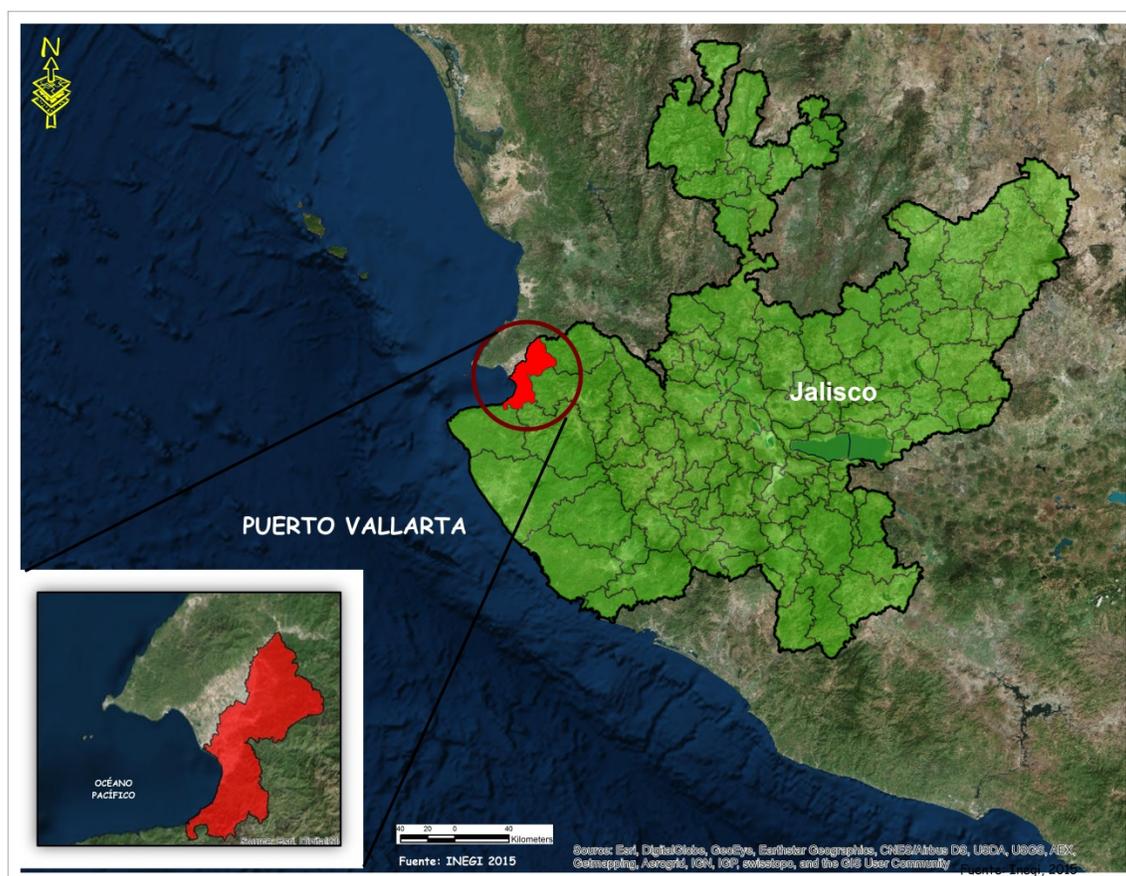


Figura 7. Ubicación geográfica de Puerto Vallarta, Jalisco, México.

MATERIAL BIOLÓGICO

Huevos. Fueron colectados de las 4,200 ovitrampas colocadas en Puerto Vallarta como parte de la vigilancia entomológica de *Aedes aegypti*, de estas, el 50% del total de las papeletas con 100 ó mas huevos, fueron almacenadas, y enviadas a la Unidad de Bioensayo de Acapulco, Guerrero, apegados a la guía de instalación y mantenimiento de *Aedes aegypti* en condiciones de insectario. Los huevos fueron embrionados y colocados en charolas de crecimiento dentro del Insectario, la dieta para las larvas consistió en granos finos (pellets molidos) de alimento para rata (Rodent Laboratory Chow 5001®) que es el propuesto por Consoli y De Oliveira (1994)⁵¹. Las pupas fueron contadas y transferidas a jaulas de emergencia (Jaulas de aluminio de 30 cm³) con un máximo de 250 hembras y 250 machos, lo que aseguró una adecuada reproducción (con un mantenimiento óptimo para la colonia), y buena producción de huevos, para de esta manera poder establecer las siguientes filiales de la colonia F1, necesaria para realizar las pruebas de botellas del CDC⁵².

Insecticidas. Se evaluaron ocho insecticidas grado técnico proporcionados por ChemService (West Chester, PA) cuatro insecticidas de la categoría de piretroides: permetrina, lambdacialotrina, alfacipermetrina y etofenprox, dos organofosforados: clorpirifos y malation y dos carbamatos: bendiocarb y propoxur (tabla I).

INSECTICIDA	GRUPO QUÍMICO
Bendiocarb	Carbamatos
Propoxur	
Malation	Organofosforados
Clorpirifos	
Permetrina	Piretroides
Lambdacialotrina	
Alfa cipermetrina	
Etofenprox	

Tabla I. Insecticidas grado técnico a evaluar.

Bioensayo. En los bioensayos se usaron hembras *Aedes aegypti* F1 con 3-5 días de edad (post-emergencia). Las colonias fueron obtenidas de huevos de papeletas de ovitrampas instaladas (4,200) en 81 de colonias del Puerto Vallarta. Por otro lado 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) hasta dos horas de exposición. Las DD y TD que se utilizaron en el presente estudio fueron las recomendadas por el CDC (2010) y por la OMS (2013) (Tabla II). 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 fueron proporcionados por ChemService (West Chester, PA).

Como control del procedimiento de la prueba, se expusieron 25 mosquitos en una botella impregnada únicamente con acetona y como control negativo de prueba se expusieron mosquitos susceptibles de la cepa New Orleans. La prueba y el procedimiento fueron replicados tres veces.

Insecticida	Dosis diagnóstica (µg/ml)	Tiempo diagnóstico	Fuente
Bendiocarb	12.5	60 minutos.	CDC 2010 y OMS 2013
Malation	50		
Permetrina	15		
Lambdacialotrina	10		
Alfa cipermetrina	10		Dra. A. Flores. UANL
Etofenprox	5		
Clorpirifos	85		
Propoxur	3		
	12		

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

El efecto de derribo fue registrado cada 10 minutos hasta el 100% del 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) y 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:

MORTALIDAD (%)	CONDICIÓN
98- 100	Población susceptible
90-98	Población con sugerencia de resistencia
<90	Población resistente

Tabla III. Criterios establecidos por la OMS para la evaluación de resistencia/susceptibilidad.

La interpretación de los bioensayos de tiempo KD de las Botellas impregnadas del CDC es como se describe brevemente (Gráfica 1). Cuando una población es susceptible a la DD, la respuesta KD en el TD es cercana al 100%. De tal forma que una población susceptible tiende a inclinarse hacia el eje del % KD (eje y) y mientras que una población resistente tiende a inclinarse al eje del tiempo (eje x). De otra forma, si a los 60 minutos la población estudiada no presenta un KD del 100%, podríamos estar hablando de poblaciones resistentes y la magnitud de la resistencia se obtiene de la diferencia del KD de la cepa susceptible y el KD de la población estudiada.

Instrumentos: Hoja de Reporte de Estudios de Impregnación de Botellas (Anexo 2).

Análisis de los datos.

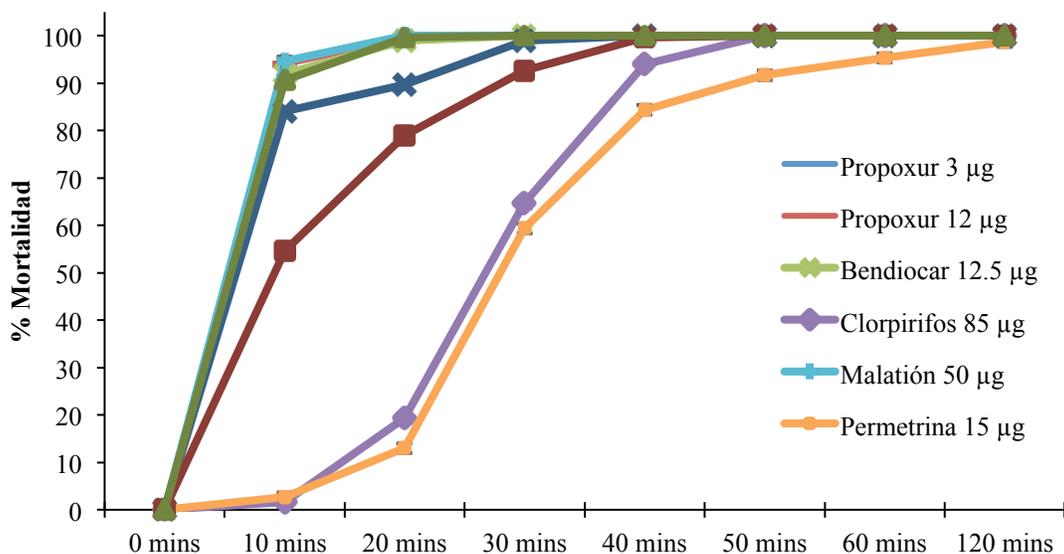
Con los datos binarios (muerto/vivo) de los bioensayos se realizó una tabla de sobrevida y los análisis fueron realizados con STATA 13 (StataCorp, College Station, TX) y R (ver 3.1.0).

Para cada insecticida se realizó una prueba *t* de *Student* para estimar si existían diferencias en la mortalidad entre la cepa de referencia New Orleans y la cepa Puerta Vallarta (a los 30 y 60 minutos PE). Se analizó si el número de individuos caídos a los 30 y 60 minutos difería entre insecticidas. Para esto se realizó un análisis de varianza (ANDEVA). Para ambos análisis se utilizó el programa Statistica 8.0 (Statsoft, Inc).

VII. RESULTADOS

Se realizaron 27 pruebas con el método de botellas del CDC en mosquitos *Aedes aegypti* cepa Puerto Vallarta, los cuales incluyeron ocho insecticidas de tres grupos toxicológicos: cuatro piretroides (permetrina, lambdacialotrina, alfacipermetrina y etofenprox), dos carbamatos (propoxur: 3 µg/ml y 12 µg/ml; bendiocarb) y dos organofosforados (malation y clorpirifos).

Los resultados de las pruebas de CDC, indican que las poblaciones de *Ae. aegypti* de Puerto Vallarta son susceptibles a los carbamatos y organofosforados (Gráfico 1). Los resultados de las pruebas de susceptibilidad a diferentes tipos de piretroides sugieren resistencia al piretroide tipo I permetrina, pero susceptibilidad a los piretroides tipo II lambdacialotrina y alfacipermetrina y al pseudopiretroide Etofenprox (Gráfico 1; Anexo 1).



Gráfica 1. Curvas de mortalidad por insecticida . (ver Anexo 1)

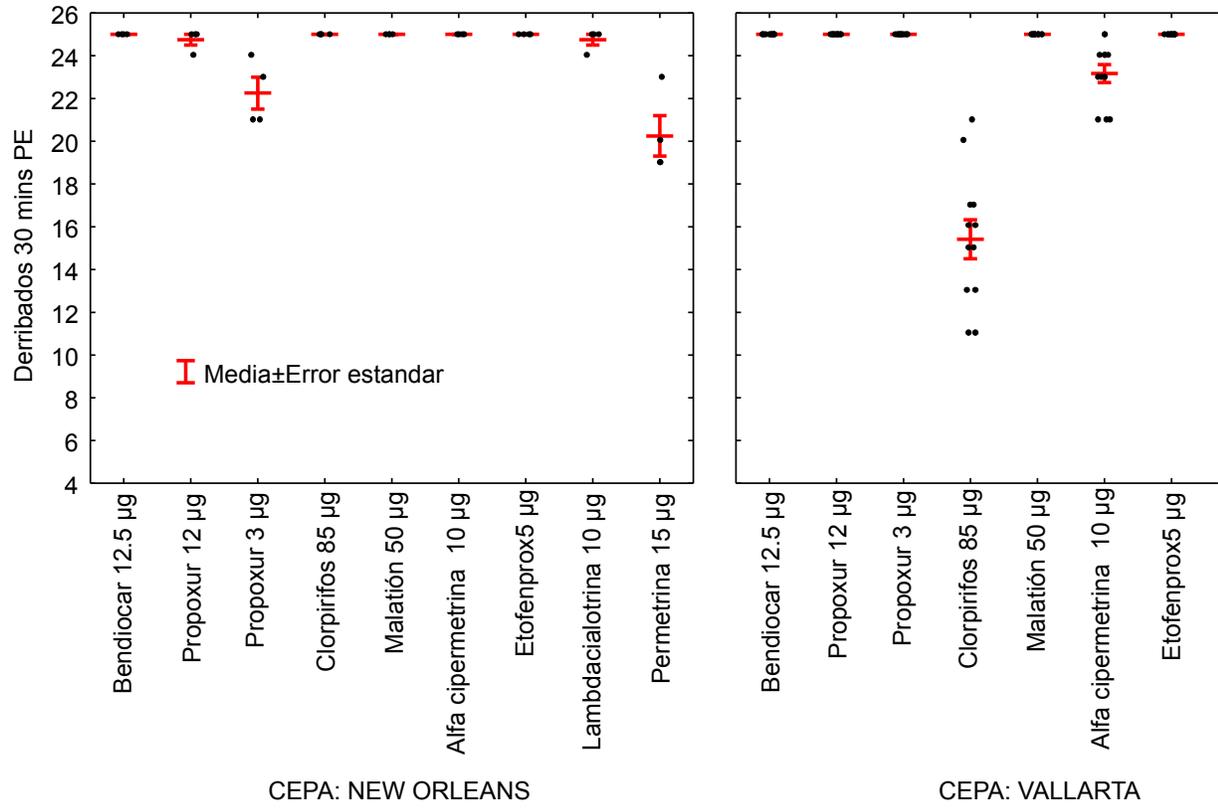
Mortalidad Aguda. La mortalidad aguda en los carbamatos y organofosforados a los 30 minutos post-exposición (PE) fue del 99-100% y de acuerdo a los criterios de la OMS (2013), las poblaciones de *Ae. aegypti* del Municipio de Puerto Vallarta, Jalisco son catalogadas categóricamente como susceptibles a estos dos grupos de insecticidas. La mortalidad a los 60 minutos PE fue del 100%.

Para el caso de propoxur 3µg lo que se observa es que la cepa de Puerto Vallarta muestra mayor mortalidad promedio en comparación con New Orleans (Gráfica 2). Mientras que para clorpirifos y alfa cipermetrina la cepa Puerto Vallarta es la que muestra menor mortalidad a los 30 minutos PE (Tabla IV). Estas diferencias son estadísticamente significativas ($P < 0.05$). La mortalidad entre la cepa New

Orleans y cepa Puerto Vallarta no difiere estadísticamente a los 60 minutos PE. Ambas cepas presentan la misma mortalidad (100%) a este tiempo (Tabla IV) (Gráfica 2).

Tabla IV. Diferencias en la mortalidad entre la cepa New Orleans y Puerto Vallarta a los 30 y 60 min PE. D.E: desviación estándar.

<i>30 minutos PE</i>	Insecticida	Mortalidad (\bar{x}) New Orleans	D.E	Mortalidad (\bar{x}) Puerto Vallarta	D.E .	<i>t-student</i>	<i>P</i>
Carbamatos	Bendiocarb 12.5 μ g	25	0	25	0	-	-
	Propoxur 12 μ g	24.75	0.50	25	0	-1.870	0.082
	Propoxur 3 μg	22.25	1.50	25	0	-6.859	< 0.0001
					3.1		
Organofosforados	Clorpirifos 85 μg	25	0	15.41	4	5.951	< 0.0001
	Malatión 50 μ g	25	0	25	0	-	-
					1.4		
Piretroides	Alfa cipermetrina 10 μg	25	0	23.16	6	2.442	0.028
	Etofenprox 5 μ g	25	0	25	0	-	-
					0.4		
	Lambdacialotrina 10 μ g	24.75	0.50	24.75	5	0	1
				6.3			
	Permetrina 15 μ g	20.25	1.89	14.83	3	1.65	0.121
60 minutos PE							
Carbamatos	Bendiocarb 12.5 μ g	25	0	25	0	-	-
	Propoxur 12 μ g	25	0	25	0	-	-
	Propoxur 3 μ g	25	0	25	0	-	-
Organofosforados	Clorpirifos 85 μ g	25	0	25	0	-	-
	Malatión 50 μ g	25	0	25	0	-	-
Piretroides	Alfa cipermetrina 10 μ g	25	0	25	0	-	-
	Etofenprox 5 μ g	25	0	25	0	-	-



Grafica 2. Número de individuos derribados a los 30 minutos en cada insecticida.

A los 30 minutos PE se observa una mortalidad diferencial entre insecticidas y estas diferencias son estadísticamente significativa ($P < 0.0001$). Permetrina es la que muestra menor mortalidad junto con clorpirifos y en menor proporción alfacipermetrina (Grafica 2). A los 60 minutos detectan diferencias, la mortalidad es similar entre insecticidas (~100%).

Anexo 1. Porcentaje de mortalidad de la cepa Puerto Vallarta para cada insecticida del tiempo 0 al tiempo 120 minutos post exposición.

Tempo PE	Propoxur 3 µg	Propoxur 12 µg	Bendiocarb 12.5 µg	Clorpirifos 85 µg	Malatión 50 µg	Permetrina 15 µg	Lambdacialotrina 10 µg	Alfa cipermetrina 10 µg	Etofenprox 5 µg
0 mins	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 mins	94.33	94	92	1.67	94.67	2.67	84	54.67	90.67
20 mins	99.67	99.33	99.00	19.33	100	13	89.67	79	99.67
30 mins	100	100	100	64.67	100	59.33	99	92.67	100
40 mins	100	100	100	94	100	84.33	100	99.67	100
50 mins	100	100	100	100	100	91.67	100	100	100
60 mins	100	100	100	100	100	95.33	100	100	100
120 mins	100	100	100	100	100	98.67	100	100	100

VIII. DISCUSIÓN

La resistencia a insecticidas y sus mecanismos en el vector del Dengue han sido documentados en México ⁵⁷⁻⁶⁸. Muchos de estos estudios demuestran resistencia a piretroides de diversas categorías. Dentro de los estudios, reportan resistencia a Permetrina involucrando el incremento de enzimas metabólicas y mutaciones kdr como mecanismos de resistencia.

El objetivo del presente estudio fue realizar un diagnóstico del estado actual de la resistencia a insecticidas en el vector del dengue en Puerto Vallarta, Jalisco. Los resultados de las pruebas de susceptibilidad con el método de las botellas de CDC con las dosis diagnósticas establecidas por CDC indican susceptibilidad a organofosforados, carbamatos, piretroides tipo II y etofenprox, sin embargo estas mismas pruebas sugieren resistencia al piretroide tipo I permetrina. La susceptibilidad a carbamatos y organofosforados, es explicada por el bajo historial de aplicaciones de estas moléculas debido a su reciente introducción. Estos resultados son congruentes con la evidencia de susceptibilidad a estos dos grupos químicos en el Estado de Veracruz ⁶⁹, Guerrero ⁷⁰, y Yucatán (Che-Mendoza, Com pers.).

La resistencia a permetrina está ampliamente documentada en México y los resultados del presente estudio confirman la decisión de la Secretaría de Salud Federal al limitar dicha molécula en la Lista de Productos Recomendados por el CENAPRECE para el Combate de los Insectos Vectores transmisores de Enfermedades a partir de 2015. Es importante señalar, que después de al menos cuatro años de no usar permetrina para el control de vectores, los niveles de resistencia aún se mantienen altos. Los factores que están ejerciendo una presión de selección incluyen, el uso

doméstico de piretroides, control de plagas urbanas y localidades que continúan aplicando piretroides.

La sugerencia de resistencia a permetrina permite proponer una estrategia de manejo, donde se prevea la rotación de grupos químicos cambiando de Piretroides a Organofosforados y Carbamatos y a el establecimiento de una red de monitoreo de la resistencia nacional y regional, así como el intercambio en la utilización de diferentes grupos de insecticidas en las dos fases biológicas predominantes para el control de *Aedes aegypti*: larva y adulto.

En el presente estudio se evidenció la sugerencia de resistencia a los piretroides tipo I (permetrina), pero susceptibilidad a piretroides tipo II (lambdacialotrina y alfacipermetrina) y el pseudopiretroide etofenprox. La sensibilidad diferenciada por tipo de piretroides ha sido observada en canales de sodio de cucarachas ⁷¹ y recientemente se documentó la existencia de dos receptores diferentes para los piretroides en los canales de sodio ^{72,73}, lo cual podría explicar la respuesta diferenciada por tipo de piretroide.

IX. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Con los resultados obtenidos, se evidencia que las poblaciones de *Ae. aegypti* de Puerto Vallarta, Jalisco presentan susceptibilidad a carbamatos, organofosforados, piretroides tipo II, pseudopiretroides, y sugieren resistencia a los piretroides tipo I,

Se recomienda el uso de carbamatos y organofosforados para el control del vector del dengue, así como continuar monitoreando las resistencia a insecticidas, en periodos máximos de dos años. Con esta evidencia, la Secretaria de Salud de Jalisco podrá generar una estrategia de manejo de la resistencia a insecticidas en el programa de control.

La Secretaría de Salud Federal deberá establecer los vínculos con la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Alimentación y Pesca (SAGARPA) para desarrollar un Plan de Manejo de la Resistencia por el uso poco controlado de insecticidas agrícolas.

La Secretaría de Salud Federal deberá generar las Políticas Públicas que permita evaluar la susceptibilidad y resistencia de los insecticidas de uso en Salud Pública.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. Ginebra. Organización Mundial de la Salud, 1997, pp. 12-23
2. TDR/WHO. Scientific Working Group Meeting on Dengue. Report on Dengue. TDR/SWG/08 Geneva, 2006, pp. 1-150. Disponible en: http://www.who.int/tdr/publications/documents/swg_dengue_2.pdf
3. World Health Organization. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. WHO/HTM/NTD/DEN/2009.1, 2009. pp. 1-14a. Disponible en: <http://www.who.int/tdr/publications/documents/dengue-diagnosis.pdf>
4. World Health Organization. La implementación del DengueNet en las Américas. Informe de una reunión de OMS/OPS/CDC San Juan, Puerto Rico 9-11 JULIO 2002. Disponible en: <http://www.who.int/csr/resources/publications/dengue/whocdscsrgar20038sp.pdf?ua=1>
5. OMS 2012. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020.
6. Shepard DS, Coudeville L, Halasa YA, Zambrano B, and Dayan, GH. Economic impact of dengue illness in the Americas. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2011;84(2):200-207.
7. Bhatt S1, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, Drake JM, Brownstein JS, Hoen AG, Sankoh O, Myers MF, George DB, Jaenisch T, Wint GR, Simmons CP, Scott TW, Farrar JJ, Hay SI. The global distribution and burden of dengue. 2013, Nature. Apr 25;496(7446):504-7. doi: 10.1038/nature12060.
8. Organización Panamericana de la Salud, OMS. Dengue, Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. La Paz, Bolivia, OPS, OMS. 2010. Disponible en: http://www.bvsde.paho.org/cursoa_dengue/e/pdf/dengue_oms_2009.pdf
9. Organización Mundial de la Salud. Centro de prensa. 2014. Nota descriptiva # 117.
10. Secretaría de Salud, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica [en línea]. [accesado 02 May 2015]. Disponible en: <http://www.sinave.gob.mx>
11. Norma E Martínez, Felipe Dzul-Manzanilla, Cipriano Gutiérrez-Castro, Jesus Ibarra-López, Wilbert Bibiano-Marín, Leonardo López-Damián, Andrés Martini-Jaimes, Herón Huerta, Azael Che-Mendoza, Guadalupe Ayora-Talavera, Pablo Manrique-Saide. Natural vertical transmission of dengue-1 virus in *Aedes aegypti* populations in Acapulco, Mexico. J Am Mosq Control Assoc 2014 Jun;30(2):143-6. Disponible en: <http://www.pubfacts.com/detail/25102601/Natural-vertical-transmission-of-dengue-1-virus-in-Aedes-aegypti-populations-in-Acapulco-Mexico>
12. Felipe Dzul-Manzanilla, Norma E Martínez, Maximina Cruz-Nolasco, Cipriano Gutiérrez-Castro, Leonardo López-Damián, Jesús Ibarra-López, Andrés Martini, Joel Torres-Leyva, Wilbert

- Bibiano-Marín, Citlalli Tornez-Benitez, Guadalupe Ayora-Talavera, Pablo Manrique-Saide. Arbovirus Surveillance and First Report of Chikungunya Virus in Wild Populations of *Aedes aegypti* from Guerrero, Mexico. *J Am Mosq Control Assoc* 2015 Sep;31(3):275-7. Disponible en: <http://www.pubfacts.com/author/Leonardo+López-Damián>.
13. Edward B. Hayes, Zika Virus Outside Africa. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • Vol. 15, No. 9, September 2009. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2819875/pdf/09-0442_finalS.pdf
 14. Nuckols JT, Huang YJ, Higgs S, Miller AL, Pyles RB, Spratt HM, Horne KM, Vanlandingham DL. Evaluation of Simultaneous Transmission of Chikungunya Virus and Dengue Virus Type 2 in Infected *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal Medical Entomology*, 2015 May;52(3):447-51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26334820>
 15. Proestos Y, Christophides GK, Ergü'ler K, Tanarhte M, Waldoock J, Lelieveld J. Present and future projections of habitat suitability of the Asian tiger mosquito, a vector of viral pathogens, from global climate simulation. *Phil. Trans. R. Soc.* 2015; B 370: 20130554. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0554>
 16. Abrão EP, Espósito DL, Lauretti F, Fonseca BA. Dengue vaccines: what we know, what has been done, but what does the future hold? *Rev Saude Publica*. 2015;49:1-6. Epub 2015 Sep 18. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v49/0034-8910-rsp-S0034-89102015049006146.pdf>
 17. Del Angel RM, Reyes-del Valle J. Dengue vaccines: strongly sought but not a reality just yet. *PLoS Pathog*. 2013;9(10):e1003551. Doi10.1371/journal.ppat.1003551. Epub 2013 Oct 3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24098108>
 18. Suphatrakul A, Yasanga T, Keelapang P, Sriburi R, Roytrakul T, Pulmanausahakul R, Utaipat U, Kawilapan Y, Puttikhunt C, Kasinrerak W, Yoksan S, Auewarakul P, Malasit P, Charoensri N, Sittisombut N. Generation and preclinical immunogenicity study of dengue type 2 virus-like particles derived from stably transfected mosquito cells. *Vaccine*. 2015 Sep 14. pii: S0264-410X(15)01243-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.08.090. [Epub ahead of print]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26382602>
 19. George L, Lenhart A, Toledo J, Lazaro A, Han WW, Velayudhan R, Runge Ranzinger S, Horstick O. Community-Effectiveness of Temephos for Dengue Vector Control: A Systematic Literature Review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015 Sep 15;9(9):e0004006. doi: 10.1371/journal.pntd.0004006. eCollection 2015. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4570708/>
 20. McGraw EA1, O'Neill SL. Beyond insecticides: new thinking on an ancient problem. *Nat Rev Microbiol*. 2013 Mar;11(3):181-93. doi: 10.1038/nrmicro2968.
 21. S Bhatt et al. *Nature* 000, 1-4 (2013) doi:10.1038/nature12060

22. Dirección General de Epidemiología. Secretaria de Salud. Boletín Epidemiológico Sem. Epid. N° 37, publicado el 27 de septiembre de 2015.
23. Ministry of Health New Zealand. Arboviral Disease. Communicable Disease Control Manual. Mayo 2012 Disponible en: <https://www.health.govt.nz/system/files/documents/publications/cd-manual-arboviral-diseases-may2012.pdf>
24. Chuang YC, Chen HR, Yeh TM. Pathogenic roles of macrophage migration inhibitory factor during dengue virus infection. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:547094.
25. Bargerón Clark K, Hsiao HM, Noisakran S, Tsai JJ, Perng GC. Role of microparticles in dengue virus infection and its impact on medical intervention strategies. *Yale Journal Biology Medical* 2012 Mar;85(1):3-18. Epub 2012 Mar 29.
26. Leopoldo G. Gebhard, Claudia V. Filomatori and Andrea V. Gamarnik. Functional RNA Elements in the Dengue Virus Genome. *Viruses* 2011, 3, 1739-1756. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3187688/pdf/viruses-03-01739.pdf>
27. Chadee DD, Ward RA, Novak RJ 1998. Natural habitats of *Aedes aegypti* in the Caribbean - a review. *J Am Mosq Control Assoc* 14: 5-11.
28. Mattingly PF 1957. Genetical aspects of the *Aedes aegypti* problem: I - Taxonomy and bionomics. *Ann Trop Med Parasitol* 51: 392-408.
29. Cloudsley-Thompson JL 1976. *Insects and history*, St Martins Press, New York, 242 pp.
30. Failloux AB, Vazeille-Falcoz M, Mousson L, Rodhain F. Genetic control of vectorial competence in *Aedes* mosquitoes. *Bull Soc Pathol Exot.* 1999 Sep-Oct;92(4):266-73
31. Curtis CF. An overview of mosquito biology, behaviour and importance. *Ciba Found Symp.* 1996;200:3-7.
32. Georghiou GP. Insecticide resistance with special reference to mosquitoes. *Proc Pap Annu Conf Calif Mosq Control Assoc.* 1965 Jun 24;33:34-40.
33. McConnell KJ, Gubler DJ. Guidelines on the cost-effectiveness of larval control programs to reduce dengue transmission in Puerto Rico. *Rev Panam Salud Publica.* 2003;14(1):9-16
34. Miguel Angel Vaca-Marín, M.C., M. En C., Mario Henry Rodríguez-López, M.C., M. En C., David N. Bown, Ph. D., Ricardo Ríos, Ing. S. Aplicación Intradomiciliar De Malatión Y Deltametrina En Bajo Volumen Para El Control De *Anopheles* Sp. *Salud Pública Méx* 1991; Vol. 33(5):482-49.
35. Badii, M.H., J. Landeros, E. Cerna y J. L. Abreu. Ecología e historia del dengue en las Américas. *Daena: International Journal of Good Conscience.* 2(2) : 248-273. Abril 2007 – Septiembre 2007
36. Fonseca, I. y L. M. Quiñones Resistencia a insecticidas en mosquitos (Diptera: Culicidae): mecanismos, detección y vigilancia en salud pública. Artículo de revisión. *Rev. Colomb.* 2005, 31(2): 107-115

37. Organización Mundial de la Salud. Plan Mundial para el manejo de la resistencia a insecticidas en los vectores de malaria. Resumen Ejecutivo. OMS, 2012. Número de referencia OMS: WHO/HTM/GMP/2012.5
38. Aponte HA, Patricia Penilla R, Dzul Manzanilla F, Che Mendoza A, López AD, Solís F, Manrique-Saide P, Ranson H, Lenhart A, McCall PJ, Rodríguez AD. 2013. The pyrethroid resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* from the Guerrero state, Mexico. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107: 226–234.
39. Brogdon WG, McAllister JC, Vulule J. 1997. Heme peroxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 13 (3):233–237.
40. Flores A, Albeldaño-Vásquez W, Fernández-Salas I, Badii M, Loaiza-Becerra H, Ponce-García G, Lozano-Fuentes S, Brogdon W, Black W, Beaty B. 2005. Elevated α -esterase levels associated with permethrin tolerance in *Aedes aegypti* (L.) from Baja California, México. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 82: 66-78.
41. Flores A, Grajales J, Fernández-Salas I, Ponce G, Loaiza M, Lozano
42. S, Brogdon WG, Black IV W, Beaty B. 2006. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L) from Quintana Roo, southern Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association* 22:672-677.
43. Ingrid Galster. Las moscas pieza de la resistencia?. *Ideas y Valores* Agosto. 76-77. Bogotá 1988.
44. Fox I, García-Mola I. Multi-resistant *Aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgin islands. *Science* 1961;233:646
45. Jorge Mario Cadavid, Marta Londoño, Shirley Milán, Hillary Yepes Rita Almanza, Guillermo L. Rúa-Urbe. Susceptibilidad al insecticida malation en *Aedes aegypti* de Medellín, Colombia. *Revista Salud Pública de Medellín*. Volumen 5, Enero - Junio de 2011. Disponible en: <https://www.medellin.gov.co/irj/go/km/docs/wpccontent/Sites/Subportal%20del%20Ciudadano/Salud/Secciones/Plantillas%20Genéricas/Documentos/2012/Revista%20Salud/Revista%20Vol.%205%20Nº%201/8.%20Susceptibilidad%20al%20insecticida.pdf>
46. Hemingway J, Ranson H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annu Rev Entomol*. 2000;45:371-91.
47. Leyanna George, Audrey Lenhart, Joao Toledo, Adhara Lazaro, Wai Wai Han, Raman Velayudhan, Silvia Runge Ranzinger, Olaf Horstick Community-Effectiveness of Temephos for Dengue Vector Control: A Systematic Literature Review. Available from: https://www.researchgate.net/publication/281834588_Community-

Effectiveness_of_Temephos_for_Dengue_Vector_Control_A_Systematic_Literature_Review
[accessed Sep 2, 2015].

48. William G. Brogdon, PhD. Instrucciones para la Evaluación de la Resistencia a Insecticida en Vectores mediante del Ensayo Biológico de la Botella de los CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2009. 28 pp.
49. DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014. Para la Vigilancia Epidemiológica, Promoción, Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores. Disponible en:
http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/NOM_032_SSA2_2014.pdf
50. Organización Mundial de la Salud. Manejo ambiental para el control de vectores. OMS 2015. Disponible en: http://www.who.int/water_sanitation_health/resources/envmanagement/es/
51. Chareonviriyaphap T, Bangs MJ, Suwonkerd W, Kongmee M, Corbel V, Ngoen-Klan R. Review of insecticide resistance and behavioral avoidance of vectors of human diseases in Thailand. *Parasit Vectors*. 2013 Sep 25;6:280. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3850650/pdf/1756-3305-6-280.pdf>.
52. Secretaría de Salud. Guía para la instalación y mantenimiento de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. 2015. Disponible en: <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/dengue.html>
53. Consoli, R. & R. Lourenço de Oliveira. 1994. Principais mosquitos de importancia sanitária no Brasil. Edit. Fiocruz. Rio de Janeiro. Brasil.
54. Gustavo Ponce, Irám P. Rodriguez_Sanchez, Selene Garcia, Derek Jimenez, Saúl Lozano, Adriana E. Flores. First report of kdr mutation (L1014F) in *Culex quinquefasciatus* of México. *Insect Science*. *In press*.
55. Karla Saavedra-Rodriguez, Meaghan Beaty, Saul Lozano-Fuentes, Steven Denham, Julian Garcia-Rejon, Guadalupe Reyes-Solis, Carlos Machain-Williams, Maria Alba Loron-Pino, Adriana Flores-Suarez, Gustavo Ponce-Garcia, Barry Beaty, Lars Eisen, and William C. Black I. *Local Evolution of Pyrethroid Resistance Offsets Gene Flow Among Aedes aegypti Collections in Yucatan State, Mexico*. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 92(1), 2015, pp. 201. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/272176517_Local_Evolution_of_Pyrethroid_Resistance_Offsets_Gene_Flow_Among_Aedes_aegypti_Collections_in_Yucatan_State_Mexico#full-text
[accessed sep 2, 2015].

56. Garcia GP, Flores AE, Fernandez-Salas I, Saavedra-Rodríguez K, Reyes-Solis G, Lozano-Fuentes S, Bond JG, Casas-Martínez M, Ramsey JM, Garcia-Rejon J, Dominguez-Galera M, Ranson H, Hemingway J, Eisen L, Black WC IV, 2009. Recent rapid rise of a permethrin knock down resistance allele in *Aedes aegypti* in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 3: e531. *Local Evolution of Pyrethroid Resistance Offsets Gene Flow Among Aedes aegypti Collections in Yucatan State, Mexico*. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/272176517_Local_Evolution_of_Pyrethroid_Resistance_Offsets_Gene_Flow_Among_Aedes_aegypti_Collections_in_Yucatan_State_Mexico#full-text [accessed Sep 2, 2015].
57. Saavedra-Rodríguez K, Suarez AF, Salas IF, Strode C, Ranson H, Hemingway J, Black WC IV, 2012. Transcription of detoxification genes after permethrin selection in the mosquito
58. *Aedes aegypti* Insect Mol Biol 21:61–77 *Local Evolution of Pyrethroid Resistance Offsets Gene Flow Among Aedes aegypti Collections in Yucatan State, Mexico*. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/272176517_Local_Evolution_of_Pyrethroid_Resistance_Offsets_Gene_Flow_Among_Aedes_aegypti_Collections_in_Yucatan_State_Mexico#full-text [accessed Sep, 2015].
59. Beatriz Lopez · Gustavo Ponce · Jessica A Gonzalez · Selene M Gutierrez · Olga K Villanueva · Gabriela Gonzalez · Cristina Bobadilla · Iram P Rodriguez · William C Black · Adriana E Flores. Susceptibility to Chlorpyrifos in Pyrethroid-Resistant Populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) From Mexico. *Journal of Medical Entomology* 05/2014; 51(3):644-9.
60. Adriana E Flores · Gustavo Ponce · Brenda G Silva · Selene M Gutierrez · Cristina Bobadilla · Beatriz Lopez · Roberto Mercado · William C Black. Wide Spread Cross Resistance to Pyrethroids in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) From Veracruz State Mexico. *Journal of Economic Entomology* 04/2013; 106(2):959-69.
61. H. Angélica Aponte, R. Patricia Penilla , Felipe Dzul-Manzanilla, Azael Che-Mendoza, Alma D. López, Francisco Solis, Pablo Manrique-Saide, Hilary Ranson, Audrey Lenhart, Philip J. McCall, Américo D. Rodríguez .The pyrethroid resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* from the Guerrero state, Mexico. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Volume 107, Issue 2, October 2013, Pages 226–234

ANEXO 2. FORMATO DE EVALUACION DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS (ADULTICIDAS) UTILIZADOS EN EL PROGRAMA DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA EN SERVICIO



EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS (ADULTICIDAS) UTILIZADOS EN EL PROGRAMA DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTOR.

Número de Prueba: _____ Fecha: (día/mes/año): _____
UNIDAD DONDE SE REALIZA LA PRUEBA: _____ RESPONSABLE DE LA UNIDAD: _____

Información del Área:

País México Estado _____ Municipio _____
Localidad _____

Información de la Muestra:

Especie Probada Aedes aegypti

Sexo Hembras

Método de obtención (especifique): _____ Edad (días) : _____

Estado Fisiológico: Con Sangre _____ Solución Azucarada _____

Información sobre Insecticidas:

Insecticida Probado _____

Botellas impregnadas por _____ Fecha Impregnación de Botella _____

Datos de Expiración de Botella de insecticida _____ (1-2 días)

Condiciones de Almacenaje: Temperatura del Cuarto _____ °C

Condiciones de la Prueba:

	Temperatura C°	Humedad Relativa %
Periodo de Exposición Inicial		
Periodo de Observación Después de 8 Horas		
Periodo de Observación Después de 24 Horas		

Numero de Mosquitos Derribados Después de la Exposición por Minutos:

	Botella 1		Botella 2		Botella 3		Botella 4		Control	
	Vivos	Derribados	Vivos	Derribados	Vivos	Derribados	Vivos	Derribados	Vivos	Derribados
INICIO										
10'										
20'										
30'										
40'										
50'										
60'										
120'										

Numero de Mosquitos Muertos en el Fin del Periodo de Observación:

	Botella 1	Botella 2	Botella 3	Botella 4	Control
Después 24 Horas					