

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia

Lic. Juan A. Bisset<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se hizo una revisión de las estrategias efectivas para el control de la resistencia, las perspectivas, las tácticas. Se planteó que estas tácticas no son excluyentes pues algunos de sus elementos se pueden usar para formular un programa de control de la resistencia a largo plazo y que la estrategia debe estar sustentada en un conocimiento profundo de las implicaciones en la resistencia que cada insecticida candidato tiene y de la biología y ecología de las especies involucradas, y esta estrategia debe de hacer uso de todas las medidas de combate no químicas que estén disponibles.

**DeCS:** RESISTENCIA A INSECTICIDA; INSECTICIDAS DE CARBAMATO; INSECTICIDAS ORGANOCORADOS; INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS DENGUE/prevención & control; VIRUS DEL DENGUE; AEDES.

### INTRODUCCIÓN

La fiebre del dengue y fiebre hemorrágica del dengue/síndrome del *shock* de dengue (DHF/DSS), es causada por 4 serotipos de virus de dengue. Los virus del dengue son transmitidos por mosquitos del género *Aedes*. El principal vector en América Latina es el *Aedes aegypti*, aunque también desempeñan un importante papel el *Ae. albopictus* y *Ae. mediovittatus*. En la actualidad no existe quimioterapéutica o vacuna disponible para esta enfermedad y la única forma de controlarla es mediante la erradicación o reducción a niveles extremadamente bajos del vector. Esta finalidad ha sido perseguida en América Latina desde 1881 cuando Carlos J. Finlay estableció la teoría de que la fiebre amarilla era transmitida por el *Ae. aegypti*. Brasil erradicó el *Ae. aegypti* durante los años de 1940 por la destrucción de los criaderos y exportando sus programas a países vecinos.<sup>1-43</sup> Entre 1948 y 1952 se introdujo el rociado con DDT y para 1962, 22 países habían logrado la erradicación. Sin embargo, el incremento de la resistencia al DDT y otros insecticidas y las dificultades políticas y organizativas causaron la

interrupción en el control del *Aedes aegypti*, reinvasando la mayoría de los países que habían logrado erradicar este mosquito. En 1985, la 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 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.

Dentro del gran número de especies de mosquitos resistentes a la acción de los insecticidas está el género *Aedes*. En 1960 se reportaron los primeros casos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos en *Aedes aegypti*, Fox en 1961 reportó una cepa en Puerto Rico resistente 10x a malation y diazinon. La capacidad de resistir a malation se asoció a la detoxificación mediada por enzimas de actividad específica: carboxilesterasas. El incremento de los niveles de resistencia a temefos está, presuntamente, asociado con este mecanismo, solo que las enzimas detoxificadoras son fosfatasa. El posible papel de

<sup>1</sup> Doctor en Ciencias Biológicas. Investigador Auxiliar

las enzimas específicas en el proceso de detoxificación de insecticidas, en *Aedes aegypti*, fue observado en larvas de la especie.<sup>10</sup>

Estos estudios sugieren la presencia de enzimas detoxificadoras específicas, que cumplen un papel importante como mecanismo de resistencia a organofosforados.

Otro grupo de insecticidas, piretroides, que representan un gran potencial en el control de adultos de *Aedes aegypti*, también sufren los efectos del desarrollo de mecanismos de resistencia por los vectores. Estos compuestos presentan grandes problemas con la resistencia cruzada que existe con el organoclorado DDT.<sup>28, 33, 35</sup>

#### AEDES AEGYPTI: CARACTERÍSTICAS

*Aedes aegypti* es el principal vector de dengue en Cuba, y el principal objetivo de los programas de control de vectores. Se encuentra usualmente entre las latitudes de 35° al sur y 35° al norte, pero ha sido encontrado hasta una latitud de 45° al norte. Su distribución es limitada por la temperatura, contenida dentro de un invierno isotérmico de 10 °C y a una altitud de menos de 1 000 m, sin embargo ha sido reportado por encima de 2 000 m en la India y Colombia (A. Bruce Knudsen 1983). *Ae. aegypti* es oriundo de África, pero se ha encontrado en el Caribe por más de 350 años (A. Bruce Knudsen, 1983).

*Ae. aegypti* fue probablemente introducido del viejo mundo a bordo de barcos que cruzaban el Atlántico como parte del mercado de esclavos. Entonces se diseminó a través de la región por el mercado entre las islas (A. Bruce Knudsen, 1983).

En el Caribe *Ae. aegypti* es casi una especie doméstica, se encuentra en áreas urbanas, usualmente a 100 m de la habitación humana (OPS 1994). Al contrario, esta especie en África cría independiente del hombre en áreas forestales así como utilizando hábitat doméstico (A. Bruce Knudsen, 1983). El hábitat preferido de este mosquito en el Caribe es el depósito con agua relativamente limpia, con poca contaminación, pobre material orgánico y sales.

En el Caribe y en Cuba los depósitos artificiales son los más importantes por su disponibilidad, gran cantidad y por su proximidad al domicilio humano (A. Bruce Knudsen, 1983).

Recientemente en el laboratorio del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK)<sup>37</sup> fueron estandarizados los métodos bioquímicos para la detección de los mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti*: GST, esterasas y acetilcolinesterasa.

#### CLASIFICACIÓN DE LOS INSECTICIDAS

En la actualidad las principales clases de insecticidas utilizados para el control de vectores son: organoclorados (OCs), ciclodienos, organofosforados (OFs), carbamatos y piretroides, aunque comienzan a utilizarse en gran escala los insecticidas microbianos y los reguladores del crecimiento, al poder reducir sus costos de producción y mejorar sus formulaciones. Estos insecticidas pueden penetrar en el cuerpo del insecto por una de las siguientes vías:

1. Envenenamiento por contacto: el insecticida penetra a través de la cutícula del insecto hasta alcanzar el sitio activo, ejemplo: OPs (malation), OCs (DDT), piretroides (permetrina) o carbamatos (propoxur), o análogos de las hormonas juveniles (metopreno) e inhibidores del crecimiento de la quitina (diflubenzurón).
2. Envenenamiento oral: el insecticida es ingerido y absorbido a través del intestino, ejemplo: insecticidas bacteriológicos, como *Bacillus thuringiensis israelensis*, el cual actúa liberando una endotoxina que destruye las células de la pared del intestino medio.
3. Fumigaciones: el insecticida penetra al cuerpo del insecto a través de los espiráculos del sistema respiratorio. Un grupo de insecticidas además de penetrar por contacto lo realizan también por esta vía, ejemplo: diclorvos.

#### MODO DE ACCIÓN DE LOS INSECTICIDAS

##### *Insecticidas organofosforados y carbamatos*

El modo primario de acción de los insecticidas organofosforados y carbamatos es inhibiendo la acetilcolinesterasa (Ache) en las uniones sinápticas por fosforilación o carbamilación, cerca o en su centro activo. Actúan como análogos de la

acetilcolina (ACh); son inhibidores inespecíficos de la Ache. Los organofosforados forman enlaces covalentes muy estables con la enzima fosforilada. La liberación de esta enzima todavía puede ocurrir pero la reacción es mucho más lenta que con la ACh. Por lo tanto, la Ache no puede reaccionar eficientemente con la ACh liberada, el transmisor no se restablece y la función del nervio se altera.<sup>36</sup>

O'Brien y otros establecieron que el sitio de unión de la Ache para organofosforados y carbamatos es diferente del sitio de unión para su sustrato intrínseco: ACh. En relación con esta hipótesis se propuso que el sitio de unión de la Ache para organofosforados y carbamatos es hidrofóbico más que aniónico.<sup>32</sup>

### *Insecticidas piretroides*

El modo de acción preciso de los piretroides al nivel molecular continúa siendo estudiado. Estos actúan en la membrana nerviosa, interfiriendo en cambios conformacionales de las proteínas en la interfase lípido-proteína, provocando un retardo en el cierre de los canales de sodio después que el impulso ha pasado.<sup>1-53</sup> Basados en estudios electrofisiológicos en invertebrados<sup>26, 27, 31</sup> señalan que el mecanismo de acción de los piretroides está asociado con el canal de sodio de la membrana nerviosa. Los piretroides tipo 1 causan descargas repetitivas en las fibras nerviosas como un resultado de la prolongación de la corriente de sodio. Este efecto no resulta en una gran despolarización de la membrana y hasta ahora no se ha notado un bloqueo de la conducción del impulso nervioso.

La disminución de la fase de repolarización del potencial de acción, bajo el efecto del piretroide, puede originar la aparición de una actividad eléctrica repetitiva. Los piretroides tipo 2 causan una despolarización de la membrana nerviosa y bloquean la conducción del impulso por causa de una corriente de sodio extremadamente prolongada.<sup>29</sup>

Los piretroides se fijan sobre el canal de sodio cuando la puerta está en posición abierta, pero no la mantienen abierta definitivamente, provocan una cinética lenta sobre el cierre del canal de sodio, por lo tanto inducen una prolongación de apertura del canal, lo que corresponde a una prórroga de la fase de despolarización del potencial de acción.<sup>22</sup>

Aunque los hallazgos en estos estudios sugieren que efectos en el canal de sodio están comúnmente asociados con el mecanismo de acción de los piretroides, varias hipótesis adicionales son reconocidas. Se propone que la actividad de los piretroides tipo 2 está asociada con la unión en el complejo del receptor al GABA (ácido gamma amino butírico) y que los compuestos tipo 1 actúan en un sitio diferente del sistema nervioso. Una hipótesis adicional, considerando el modo de acción de los piretroides, incluye efectos en los sistemas Ca-MgATPasa.<sup>11, 12</sup> y efectos en receptores nicotínicos a la Ache.<sup>15, 40</sup>

La actividad letal de los piretroides involucra la acción en las neuronas centrales y periféricas, mientras el efecto *knockdown* es probablemente producido por intoxicación periférica. Esto implica el estudio de su modo de acción porque no está claro cual sitio de acción (central o periférico) es el más importante como causante del efecto letal.<sup>53</sup>

### Presentación de los piretroides

Se le presentará atención especial a los piretroides, por ser actualmente los insecticidas recomendados para el control de *Aedes aegypti* en ambiente urbano, por su baja toxicidad al hombre y animales de sangre caliente.

Los insecticidas piretroides comerciales incluyen hoy día las bien conocidas piretrinas naturales y su "primera generación" de análogos sintéticos como la aletrina y la resmetrina (los cuales tienden a descomponerse en presencia de la luz solar) y un amplio rango de análogos fotoestables de su "segunda generación" como la permetrina y la cipermetrina.

Los piretroides son todos ésteres carboxílicos y tanto su parte alcohólica como su parte ácida pueden tener varios isómeros, pero no todos muestran los mismos niveles de actividad biológica.

Generalmente los piretroides poseen no más de 3 centros quirales, localizados en los carbonos 1 y 3 del anillo de ciclopropano y en el carbono alfa de la mitad alcohólica.

Los cambios neurofisiológicos resultantes dependen de la temperatura, de la estructura del compuesto aplicado y del elemento nervioso (neuronas sensoriales, células neurosecretoras y

terminaciones nerviosas que son particularmente sensitivas a estos efectos).

En todos los casos, sin embargo, está claro que la estructura estereoquímica de la molécula piretroide es muy importante para la acción neurotóxica.

Este grupo de insecticidas tiene características en común con el DDT, incluido un coeficiente negativo de temperatura, el *knockdown* y la actividad *killing*, resultado de la acción contra los canales de sodio del sistema nervioso central y periférico.<sup>53</sup>

De acuerdo con la ausencia o a la presencia del grupo ciano en la parte alcohólica, los insecticidas piretroides son clasificados como tipo 1 y tipo 2.<sup>9</sup> Cada uno de estos 2 tipos tienen un modo de acción neurofisiológico diferente y un sitio blanco diferente.

Los piretroides tipo 1 actúan sobre todo en los nervios periféricos, mientras que los que pertenecen al tipo 2 poseen fundamentalmente acciones al nivel central.<sup>29</sup>

Los insectos tienen muchas rutas enzimáticas para metabolizar y detoxificar piretroides, primero mediante degradación hidrolítica y oxidativa. Los 3 tipos fundamentales de productos metabólicos resultantes son: metabolitos en los cuales el enlace éster está aún intacto y metabolitos a partir de la parte ácida y de la parte alcohólica, los cuales resultan del clivaje del enlace éster. Las esterasas y las oxidasas de función mixta son las enzimas más importantes involucradas en el metabolismo de los piretroides.

El ataque de las oxidasas de función mixta es generalmente más extensivo para los isómeros *cis* que para los *trans*, mientras que la sustitución alfa-ciano de los piretroides 3-fenoxibencilos tiende a potenciar su estabilidad frente al ataque oxidativo.<sup>38</sup>

Como la potencia insecticida de los piretroides está limitada mediante detoxificación por oxidasas de función múltiple, inhibidores de estas enzimas pueden sinergizar su actividad.

La excreción es el paso final en la eliminación de efectos tóxicos de los piretroides. En general los metabolitos que retienen un enlace éster intacto son conjugados antes de la excreción, mientras las partes alcohólicas y ácidas son predominantemente excretados sin conjugación. Metabolitos fenólicos y alcohólicos son con preferencia excretados como glucósidos, mientras que las partes ácidas

carboxílicas pueden ser eliminadas en una variedad de formas de acuerdo con la especie de insecto de que se trate, incluidos los glucósidos o aminoácidos conjugados.<sup>38, 42</sup>

## CONCEPTO DE RESISTENCIA

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

## RESISTENCIA CRUZADA Y RESISTENCIA MÚLTIPLE

En términos actuales hay que hablar de resistencia cruzada para definir el mecanismo por el cual un gen simple confiere resistencia a un número de químicos del mismo grupo, tal es el caso de las fosfotriesterasas que brindan resistencia a varios organofosforados, o a diferentes grupos, como el gen *kdr* que confiere resistencia al DDT y a los piretroides (WHO, 1957). La justificación práctica obvia de los estudios de resistencia cruzada es la necesidad de seleccionar un insecticida alternativo cuando la resistencia se desarrolla.

Se atribuye el término de resistencia múltiple cuando 2 mecanismos de resistencia o más están operando en el mismo insecto. Cuando 2 mecanismos de resistencia actúan sobre un mismo insecticida, el nivel de resistencia es a menudo mucho mayor que la adición simple de los niveles de resistencia conferidos por ambos mecanismos de forma independiente. El término de resistencia múltiple no necesariamente involucra el término de resistencia cruzada, porque un insecto puede ser resistente a 2 insecticidas o más, y cada resistencia puede ser atribuida a diferentes mecanismos.

## PROPENSIÓN A LA RESISTENCIA

Esta bien establecido que la resistencia no evoluciona a la misma velocidad en todas las

especies o poblaciones. La resistencia se puede desarrollar rápido en algunas poblaciones y lentamente en otras. La selección con insecticidas en laboratorio bajo condiciones ambientales similares, sobre todo en la mosca casera y en mosquitos, ha demostrado variación en la propensión hacia la resistencia. La resistencia evoluciona más rápido y a más alto nivel hacia el piretroide permetrina y más lento hacia el complejo de toxinas de *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI).<sup>19</sup>

Bajo las prácticas comunes de uso de insecticidas, la resistencia al agente seleccionador se espera que se eleve a niveles muy altos. Las estrategias de control de la resistencia que ahora se buscan podrían permitir el uso efectivo de nuevos compuestos por períodos de tiempo más prolongados, y quizás de manera indefinida. Aquí se define el control de la resistencia como la contención de la frecuencia de genes de resistencia por debajo de un límite aceptable. Esto se podría lograr al escoger estratégicamente al insecticida, la dosis, el modo de aplicación, y la frecuencia de uso.

El conocimiento que se requiere para diseñar estrategias de la resistencia es de 2 tipos: el primero se refiere a los mecanismos de resistencia en cada individuo, y el otro a la dinámica de la resistencia en poblaciones.

#### FACTORES OPERACIONALES EN LA RESISTENCIA

Los factores operacionales de la resistencia son aquellos relacionados con la aplicación de plaguicidas y están bajo control humano. Los más obvios son aquellos que tienen que ver con el tiempo, la dosis y la formulación de los plaguicidas que se usan. Pero, en cierta forma, la dominancia efectiva, los refugios, la inmigración, pueden también estar bajo cierto control si las condiciones de la aplicación se hacen más o menos favorables a estas. Por ejemplo, como se indicó antes, los refugios se pueden crear intencionalmente para evitar que una parte de la población sea tratada.

El tiempo en que se usen los insecticidas puede ser muy importante. Para que un equilibrio inestable exista tienen que haber muy pocos supervivientes RR después del tratamiento inicial. Esto ocurrirá si la frecuencia del alelo R es baja, y también

cuando el tamaño total de la población sea pequeño. Todo lo demás siendo igual, es deseable tratar a la población antes de que la frecuencia de individuos RR sea muy alta.

La dosis del plaguicida es un factor determinante importante de la dominancia. En relación con esto existe la formulación y la tasa de disipación del plaguicida en el medio ambiente. Después de la aplicación inicial, la concentración del plaguicida efectivamente decae, por causa de la degradación, dilución, y demás. Si esto ocurre rápido, entonces se puede pensar que la población recibe una dosis muy alta,  $DI$ , o no recibe nada. La disipación de un plaguicida persistente ocurre de manera lenta, sin embargo, y por algún tiempo existe una dosis efectiva pequeña,  $Ds$ , que puede ser muy favorable para el desarrollo de la resistencia. Un plaguicida persistente también puede matar a inmigrantes susceptibles y de esta manera evitar una inmigración efectiva.

La simulación por computadora ha indicado que la época y el umbral económico de aplicación hacen poca diferencia en ausencia de inmigración. Esto ocurre porque la selección es tan intensa que los coeficientes de selección son virtualmente los mismos en todas esas circunstancias.

Por supuesto que la selección del insecticida a usar es muy importante. En general hay un cierto grado de resistencia cruzada con otros plaguicidas de la misma clase. Dependiendo del mecanismo de resistencia, también puede presentarse la resistencia cruzada entre plaguicidas de diferente clase. Es especialmente notable la resistencia cruzada que hay entre el DDT y los piretroides por causa de la expresión del gen conocido como *kdr*, y entre carbamatos y organofosforados por la selección de la “acetilcolinesterasa insensible”.<sup>1</sup>

#### MECANISMOS DE RESISTENCIA A INSECTICIDAS

Según Miller (1988) se clasifican en 4 categorías:

1. Resistencia por comportamiento: el insecto no entra en contacto con el depósito del insecticida.
2. Resistencia a la penetración: donde la composición del exoesqueleto llega a ser modificada inhibiendo la penetración del insecticida.

3. Sitio insensible: el sitio químico de acción para el insecticida se modifica reduciendo la sensibilidad a la forma activa del insecticida.
4. Resistencia metabólica: la vía metabólica del insecto llega a ser modificada detoxificándose el insecticida o negando el metabolismo del compuesto aplicado en su forma tóxica. La forma más importante de resistencia metabólica incluye la multifunción oxidasa, las glutathion s-transferasas y las esterasas.

En los insectos los mecanismos más importantes son el sitio insensible y la resistencia metabólica. La resistencia fisiológica puede ser vista como resultado de una interacción de estos factores e incluye penetración disminuida, secuestro y excreción.

#### *Resistencia a la penetración*

También se conoce como mecanismo físico de resistencia y contempla muchos casos de penetración reducida que causan resistencia en los insectos.

La velocidad de penetración depende de las características moleculares del insecticida y de las propiedades del tegumento del insecto, las cuales varían considerablemente entre los estadios de vida y de una especie a otra. Una penetración demorada provee un mayor tiempo para la detoxificación de una dosis tomada.<sup>6</sup>

En *Heliothis virescens* la resistencia al DDT se debió a una lenta penetración del insecticida. En este caso la cutícula contenía muchas proteínas y lípidos y un grado de esclerotización mayor que en los insectos susceptibles.<sup>48</sup>

*Sawicki y Farnham* (1968) encontraron que el gen pen responsable de la resistencia al DDT en moscas domésticas, influye en la penetración del insecticida e incrementa el contenido total de lípidos. Este aumento puede provocar que la liberación de los compuestos lípidos-solubles en el cuerpo del insecto sea lenta, lo que permite un mayor tiempo para que ocurra la detoxificación de los insecticidas.

Aumentos en la excreción del insecticida también pueden reducir el efecto tóxico. Un

número de insectos dañinos a la agricultura es capaz de alimentarse de comidas tóxicas, naturales o tratadas, debido al aumento de los movimientos intestinales. Se plantea que la excreción acelerada de material no metabolizable, no se conoce que sea un mecanismo de resistencia importante contra los insecticidas sintéticos.<sup>6</sup>

#### *Penetración de los piretroides*

Luego de haber atravesado la barrera del tegumento del insecto, el insecticida puede penetrar, para ser llevado a todas las partes del organismo, en solución, enlazado con proteínas, o disuelto en partículas de lípidos.<sup>53</sup>

La penetración depende de:

- Propiedades físico-químicas del insecticida.
- Formulación del insecticida.
- Polaridad del insecticida.
- Naturaleza del solvente.

Existen 2 teorías acerca de cómo los insecticidas penetran la cutícula del insecto. La más común es que los no electrolitos penetran por la vía de los canales con poros que existen en la capa de cera o atravesando las membranas intersegmentales y son translocados luego por la hemolinfa. La otra teoría afirma que un insecticida típicamente aplicado difunde lateralmente a través del tegumento hacia la tráquea y entonces entra al órgano blanco. Quizás, en la práctica, el modo de entrada es más complejo que su difusión lateral o el transporte simple en la hemolinfa. La penetración cuticular de los piretroides puede ocurrir por los canales anastomozados formados en la capa de cera dentro de la cutícula, o a través de regiones cuticulares no esclerotizadas como las áreas intersegmentales, o por la vía del revestimiento traqueal lipofílico, lo cual es más fácilmente accesible desde los espiráculos.<sup>53</sup>

#### *Sitio insensible o sitio blanco alterado*

La resistencia se atribuye también a un mecanismo en el cual los sitios blancos se alteran

y esto hace que disminuyan la sensibilidad al ataque del tóxico. Un ejemplo de esto es el de la enzima Ache y la reducida sensibilidad en el sitio de acción.

#### *Reducida sensibilidad de la acetilcolinesterasa*

En general, una Ache modificada es menos eficiente al hidrolizar su sustrato que una enzima normal. La alteración en los sitios activos causa una disminución en la reactividad con el inhibidor.

Los estudios de inhibición sugieren que el acceso a los centros catalíticos de la enzima modificada es restringido por un cambio en su conformación.<sup>41,49</sup> *Smissaert* y otros plantearon que en muchos casos, el cambio de conformación se debe a la asociación de un residuo de aminoácido al centro catalítico de la enzima.

La resistencia a insecticidas, atribuida a una insensibilidad de la Ache es encontrada en un número de especies de *Anopheles* y *Culex*.<sup>1-5, 7, 47</sup> En general, este mecanismo produce un amplio espectro de resistencia a la mayoría de los OPs y carbamatos, aunque es más pronunciada a los carbamatos y este mecanismo no se ha reportado en *Aedes aegypti*.

#### *Reducida sensibilidad en el sistema nervioso*

Se presenta fundamentalmente en DDT y piretroides. En general el fenómeno de la resistencia se da cuando los nervios son menos sensibles.

Un ejemplo del mecanismo de sitio insensible en la resistencia por *knockdown* (kdr), es la inducida por selección con DDT, que confiere resistencia cruzada a los piretroides y viceversa.

Según *Shono* (1985) la resistencia tipo kdr se debe a la presencia del gen kdr, el cual posee varias características:

- Causa baja sensibilidad hacia el DDT y hacia los piretroides.
- Confiere resistencia a todos los piretroides conocidos hasta ahora.
- Aun solo, puede proveer alta resistencia especialmente cuando el alelo super-kdr está involucrado.
- Este gen es recesivo.

Un estudio preciso de este mecanismo de resistencia está obstaculizado por la carencia de un instrumento de diagnóstico para determinar kdr directamente.<sup>29</sup> No obstante, desde 1991, se realizan importantes esfuerzos para poder acceder al estudio de los mecanismos involucrados en este tipo de resistencia.<sup>14, 23, 24</sup>

#### RESISTENCIA METABÓLICA

Estudios recientes de detoxificación en insectos revelan que la versatilidad en la adaptación de los insectos a su medio es provista por el fenómeno de inducción. Este es un proceso en el cual un estímulo químico promueve la actividad del sistema de detoxificación mediante la producción de enzimas adicionales.

Un total de 12 especies de insectos responden a inductores mediante la producción de niveles incrementados de enzimas como las oxidasas microsomales, deshidroclorinasas, fosfo-transferasas, carboxilesterasas, epoxidohidratasa y sulfotransferasas.

Los 3 sistemas de detoxificación más importantes que constituyen la resistencia metabólica en insectos son: las oxidasas microsomales, la glutathion s-transferasa, de importancia en el metabolismo de insecticidas organofosforados, y las carboxilesterasas, las cuales degradan carbamatos, organofosforados y piretroides.<sup>45</sup>

El insecticida sufre dentro del organismo del insecto una serie de reacciones mediante las cuales adquiere grupos funcionales que le permiten en una segunda fase, conjugarse con sustancias endógenas y dar como resultado compuestos más polares de menor solubilidad en lípidos y como consecuencia más fácilmente excretables. No siempre es necesario que el insecticida se transforme mediante reacciones de la primera fase, porque en su estructura puede poseer grupos funcionales que le permitan experimentar directamente las reacciones de la segunda fase.<sup>44</sup>

#### *Sistema de oxidación microsomal*

##### Oxidasas de función múltiple:

Las oxidasas de función múltiple del retículo endoplasmático liso se encuentran en la fracción

microsomal de las células, son no específicas y catalizan la reacción siguiente:



Entre las reacciones de la primera fase aparecen como fundamentales las oxidaciones microsomales que requieren del oxígeno molecular y de la coenzima NADPH. Está comprobado que este sistema hidroxilante contiene, además del NADPH, una flavoproteína (NADPH-citocromo c reductasa), una ferroproteína y un citocromo especializado: el citocromo P-450.<sup>44</sup>

El citocromo P-450 está implicado como el factor principal en muchos casos de resistencia metabólica a carbamatos y también detoxifican insecticidas organofosforados, piretroides y DDT entre otros.<sup>9</sup>

Los metabolitos polares producidos por el citocromo P450 son más tóxicos a veces que los compuestos que les dieron origen. Hidroxilaciones de carbonos, nitrógeno y oxígeno, y desalquilaciones, resultan en productos detoxificados. Las epoxidaciones casi siempre y desulfuraciones oxidativas de organotiofosforados, siempre producen metabolitos más tóxicos.<sup>21</sup>

Plapp y otros (1976) determinaron que en cepas resistentes de mosca doméstica con altos niveles de oxidasas, existió más citocromo P-450 que en cepas susceptibles, esto sugiere que el citocromo P-450 el cual está presente en todos los individuos, localizado en tejidos estratégicos como es el cuerpo graso, está involucrado en la resistencia a insecticidas. Por su localización es un posible reservorio para el desarrollo potencial de la resistencia en cada insecto.

#### Glutation s-transferasa

Tienen gran importancia en la detoxificación metabólica en todos los animales y son conocidas por estar involucradas en la resistencia de los insectos a los insecticidas organofosforados. Se clasifican de acuerdo con la reacción que catalizan como alquil, aril y epoxittransferasas.<sup>45</sup>

Las transferasas del glutatión son importantes en la detoxificación de organofosforados y proveen la forma más importante de resistencia metabólica al DDT a través de la dehidroclorinación al DDE.<sup>6,25</sup>

#### Carboxilesterasas

Estas esterasas poseen capacidad para metabolizar los insecticidas, las cuales por su nombre podría esperarse que hidrolizaran solo los ésteres carboxílicos, así como los piretroides sintéticos y naturales. Sin embargo, el grupo requiere una clasificación más amplia porque los ésteres fosfatos y carbamatos son también atacados.

Como la mayoría de los insecticidas de hoy día son ésteres, estas enzimas son extremadamente importantes como agentes defensivos. En el caso de los mosquitos (*Culex quinquefasciatus*) resistentes a organofosforados, la enzima en cuestión se clasifica como una carboxilesterasa.<sup>45</sup>

#### Esterasas

Según Raymond y otros (1987), las esterasas se clasifican en dependencia de la habilidad de hidrolizar los sustratos en 2 tipos: A (hidrolizan preferentemente el 1-naftilacetato) y B (hidrolizan preferentemente el 2-naftilacetato). Ellas pueden estar presentes individualmente en los mosquitos como es el caso de *Cx. quinquefasciatus* de California o juntas como en *Cx. quinquefasciatus* del este de África.<sup>34, 46</sup>

Callaghan y otros (1991) mostraron la correlación existente entre la elevada actividad de esterasas A y B y la resistencia a insecticidas organofosforados. A similares conclusiones otros autores arribaron previamente.<sup>13,46,47</sup>

### DESCRIPCIÓN DE LOS MÉTODOS BIOQUÍMICOS ESTANDARIZADOS PARA LA DETECCIÓN DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA EN *Aedes Aegypti*

#### PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- Colocar cada larva o adulto individualmente en cada pocillo de la placa de microtitulación.
- Adicionar 50 mL de *buffer* fosfato 0,01M, pH 7,5.
- Macerar los mosquitos en la placa, y completar a un volumen de 200 mL con el *buffer* fosfato.



200 mL del homogenato pueden ser utilizados para múltiples propósitos:

- Esterasas (40 mL)L.
- GST (20 mL).
- Proteínas totales.
- Ache (20 mL).
- Electroforesis (10 mL).
- Otros.

#### ESTERASAS

Se adicionan 20 mL del homogenato de cada larva o adulto en la placa de microtitulación.

1. Se adicionan 200 mL del sustrato a-naftilacetato 70 mM (con una dilución de 1:3 de *buffer* fosfato 0,1 M, pH 7,5).
2. Se deja transcurrir la reacción por un período de 10 min.
3. Se adicionan 40 mL de *Fast-blue*.
4. Leer la densidad óptica a 570 nm

#### GLUTATION S-TRANSFERASA (GST)

1. 20 mL del homogenato de cada larva o adulto son localizados en la placa de microtitulación.
2. Adicionar 200 mL de la mezcla (250 mL de 3,4 CDNB[50 mM] + 5 mL de glutation)
3. Se deja transcurrir la reacción por 3 min.
4. Se lee la DO a 340 nm.

#### PROTEÍNAS TOTALES

1. 10 mL del homogenato de cada larva o adulto son localizados en la placa de microtitulación.
2. 200 mL de la mezcla 5A:1B (BCA).
3. Se deja transcurrir la reacción durante 30 min a 37 °C.
4. Leer la DO a 540 nm.

#### ACETILCOLINESTERASA

1. Colocar 100 mL de *buffer* fosfato 0,01 M, pH 7,5, el cual contiene 1 % de tritón X-100 en cada pocillo de 2 placas de microtitulación.

2. Adicionar 20 mL de DTNB (ácido 5-5' ditiobis2 nitrobenzoico, 0,07 M a ambas placas).
3. Adicionar 20 mL de acetiltiocolina yodada (AChI) 0,06 M a ambas placas.
4. Adicionar 10 mL de propoxur 0,025 M a la placa donde se determinará la actividad de Ache inhibida.
5. Adicionar 20 mL de cada homogenato a ambas placas.
6. Dejar transcurrir la reacción durante 30 min.
7. Leer los resultados de DO a 405 nm (F2).

Para determinar si la acetilcolinesterasa está actuando como mecanismo de resistencia: % de la actividad Ache= actividad de la Ache normal / actividad de la Ache Inhibida X 100

Para acetilcolinesterasa los individuos susceptibles serán los que tengan valores menores que 0,7 %.

#### ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA

Solución A: acrilamida 30 %.

- 90 g de acrilamida.
- 2,4 g de bis acrilamida.

Mezclar ambas con 300 mL de agua destilada.

Solución B:

- 25 g de sacarosa.
- 250 mL de *buffer* del gel.

¿Cómo preparar el *buffer* del gel?

- 12,11 g de Tris.
- 0,93 g de EDTA.
- 2,47 g de ácido bórico.

Mezclarlos con 250 mL de agua destilada.

Solución C:

- 0,1 g de persulfato de amonio en 25 mL de agua destilada.

*Buffer* de corrida pH=8,0.

- 60,55 g de Tris.

- 3,98 g de EDTA.
- 21,21 g de ácido bórico.

Mezclarlos con 5 L de agua destilada y ajustar el pH a 8,0 con ácido bórico saturado.

El gel de corrida, para *Aedes aegypti* se prepara: 6,66 mL de solución A: 4,32 mL de agua destilada, 5 mL de solución B, 5 mL de solución C y 20 mL de TEMED.

#### IMPORTANCIA DE LOS ENSAYOS BIOQUÍMICOS

Hoy día no se disponen de ensayos de campo para todos los mecanismos. Los ensayos descritos arriba, específicos para *Aedes aegypti*, permiten detectar la presencia de estos mecanismos de resistencia en insectos individuales, frescos o congelados, en laboratorios bien equipados. Sin embargo, para obtener una definición precisa y definitiva del gen *kdr*, todavía se necesita material vivo, personal y equipo altamente especializado. La tendencia actual es, a través de estudios de Biología Molecular, desarrollar métodos más sofisticados y simplificados para detectar estos mecanismos de resistencia.

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

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

#### COMBINACIONES DE MECANISMOS DE RESISTENCIA

De acuerdo con un estimado conservador, en 1980, al menos 89 de 428 especies resistentes contenían poblaciones con resistencia múltiple.<sup>18</sup> La resistencia múltiple ocurre cuando una población de insectos tiene más de un mecanismo de defensa

contra una clase de insecticida, por ejemplo, un sitio blanco insensible combinado con un factor de resistencia metabólica. Algunas poblaciones poseen, en efecto, resistencia cruzada para otras clases de insecticidas a los cuales pueden no haber sido nunca expuestas, si esos insecticidas tienen el mismo modo de acción o son detoxificados por la misma enzima que el insecticida de selección. La resistencia mediante sitio blanco alterado a insecticidas organofosforados está frecuentemente acompañada por resistencia cruzada a otros organofosforados y a otros carbamatos.

La resistencia al DDT está correlacionada con la resistencia a los piretroides debido al mecanismo *kdr*.<sup>6, 28</sup>

La resistencia a organofosforados por causa de una actividad incrementada de carboxilesterasas puede producir resistencia cruzada a los piretroides sintéticos, también detoxificados mediante una carboxilesterasa en muchos insectos.<sup>42</sup> Por otro lado una alta actividad del citocromo P-450 puede permitir una sensibilidad incrementada (resistencia cruzada negativa) a organofosforados, como el paration, que sufre activación metabólica mediante oxidación catalizada por este sistema.<sup>6</sup>

#### FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA

*Georghiou y Taylor (1976)* categorizaron varios factores que influyen en la selección y en el tiempo de desarrollo de la resistencia a insecticidas en poblaciones de campo, como:

##### A. Factores genéticos.

1. Frecuencia de alelos R.
2. Número de alelos R.
3. Dominancia de alelos R.
4. Penetración, expresividad e interacción entre alelos R.
5. Selección pasada por otros productos químicos.
6. Grado de integración del genoma R con los factores de disposición (idoneidad, oportunidad).

##### B. Factores biológicos.

1. Renovación de la generación.

2. Progenie por generación.
3. Monogamia, poligamia y partenogénesis.
4. Aislamiento y migración.

### C. Factores operacionales.

1. Químicos.
  - a) Naturaleza química del plaguicida.
  - b) Frecuencia y aplicación.
  - c) Relación con sustancias químicas usadas anteriormente.
  - d) Persistencia de residuos de formulación.
2. Aplicaciones.
  - a) Umbral de aplicación.
  - b) Etapas de vida selecta.
  - c) Modo de aplicación.
  - d) Selección de espacio limitado.
  - e) Selección alterna.

Quedan fuera de alcance los factores genéticos y biológicos, pues son intrínsecos a la propia especie, lo cual no indica que dejen de ser importantes.

Es necesario destacar que los insecticidas son generalmente no mutagénicos y por lo tanto no es probable que los tratamientos químicos incrementen la frecuencia de mutaciones espontáneas que brinden mecanismos de resistencia.<sup>53</sup>

### FACTORES GENÉTICOS DE LA RESISTENCIA

Los evolucionistas con frecuencia asumen que los organismos tienen la capacidad de desarrollar casi cualquier tipo de resistencia. De aquí se derivan muchos de los argumentos de la “optimización” y del “programa adaptacionista”. Esta aseveración no es del todo aplicable al desarrollo de la resistencia a insecticidas. Obviamente, algunas poblaciones no tienen la capacidad para conjuntar los alelos de resistencia necesarios, a pesar de que pareciera una ventaja obvia hacerlo. El barrenador del tallo del maíz es una especie que no pudo lograrlo. El desarrollo lento de la resistencia a compuestos arsenicales en insectos y a fungicidas cúpricos en fitopatógenos constituyen otros ejemplos. Se ha especulado que las especies de herbívoros, los cuales han desarrollado con frecuencia la capacidad de enfrentarse a los alcaloides vegetales, están en cierto sentido

preadaptados para hacer frente a los problemas que representan las sustancias químicas peligrosas de su medio ambiente.

Cuando los alelos que confieren resistencia están presentes en la población, la frecuencia a la que se encuentran puede ser un factor muy importante. Existen muchas razones para pensar esto. Por supuesto, si la frecuencia inicial es alta, la resistencia ya tiene una plataforma para despegar. Puede ocurrir, sin embargo, el efecto de Allee, si la densidad de población se reduce a un nivel suficientemente bajo, entonces el tamaño de la población es muy pequeño para sostener un crecimiento positivo, quizá por la incapacidad de encontrar a la pareja. Más importante, la presión de selección y la proporción de inmigración pueden imponer un equilibrio inestable en la frecuencia de genes, debajo de la cual los individuos con alelos resistentes tienen una capacidad biótica reducida y arriba de la cual esta capacidad se incrementa. En este caso la frecuencia inicial de genes de resistencia es especialmente importante.

En la práctica, la importancia de muchos de los factores de la resistencia parece que está relacionada con este equilibrio inestable, en un caso simple este equilibrio depende mucho de la frecuencia inicial de genes, dominancia, e inmigración. Estos factores a su vez dependen de otros. Imagínese una población con un alelo de resistente, R, a una frecuencia baja. Los individuos homocigotos RR, pueden existir solo si la población es muy grande, pero estarían en una cantidad muy pequeña. Si la resistencia es recesiva o se puede hacer recesiva mediante la aplicación de una dosis de insecticida muy alta, entonces después de la aplicación de un insecticida todos los individuos susceptibles homocigotos (SS) y los heterocigotos (RS) serán eliminados, solo unos cuantos RR sobrevivirán. Si ahora ocurre una inmigración de un grupo de individuos principalmente susceptibles, entonces los poquitos RR que hay copularán con los inmigrantes homocigotos SS, y la descendencia de la siguiente generación estará compuesta principalmente de individuos SS y RS. Estos pueden ser eliminados en la siguiente aplicación de insecticida, manteniendo así la población bajo control. Es posible estudiar estos resultados matemáticamente y describir de manera precisa cuándo se podría observar esto.<sup>13</sup>

## FACTORES BIOLÓGICOS / ECOLÓGICOS EN LA RESISTENCIA

La ecología y el ciclo de vida pueden alterar de manera dramática la respuesta a la selección que conduce a la resistencia. Más obvio por supuesto es que, mientras mayor sea el número de generaciones por año, más rápida será la evolución de la resistencia. En el ácaro de los frutales, *Panonychus ulmi*, el cual presenta hasta 10 generaciones por año, ha desarrollado resistencia a muchos grupos de insecticidas. Por el contrario, el ácaro *Bryobia rubrioculus*, el cual presenta solo 2 generaciones por año, aún no se ha documentado que sea resistente.<sup>18</sup>

Los enfoques para el control de la resistencia se pueden agrupar en 3 categorías:

1. Control por moderación.
2. Control por saturación.
3. Control por ataque múltiple.

### *Control por moderación*

En el control por moderación se reconoce que los genes de susceptibilidad son un recurso valioso y por lo tanto importante de preservarlo por medio de la limitación de la presión de selección química que se aplica. Las medidas agrupadas en esta categoría incluyen dosis bajas, aplicaciones poco frecuentes, uso de insecticidas no persistentes y conservación de los refugios de genes susceptibles. Se considera que estas medidas son conservativas, y en la mayoría de los casos, deben ser complementadas con medidas de combate no químicas como el uso de variedades resistentes, control de la época de plantación y cosecha, así como el uso del control biológico, etc. Mientras el control por moderación reúne o intenta reunir los estándares ambientales y es menos destructivo a los agentes de control biológico, en algunos casos podría no ser la mejor solución, sobre todo cuando el cultivo a proteger tiene un alto valor, cuando se intenta suprimir a los insectos vectores de enfermedades en humanos, o erradicar plagas recientemente introducidas. En estos casos, el control por saturación o por múltiple ataque podría ser más adecuado.

## CONTROL POR SATURACIÓN

El término “saturación” no implica la saturación del medio ambiente con plaguicidas. Lo que se intenta hacer es saturar las defensas de los insectos por medio del uso de dosis suficientemente altas para anular la resistencia. Este enfoque es más adecuado durante los primeros estados de la selección, cuando los genes de resistencia son raros, pues si existen están en una condición heterocigota. Las formulaciones que pueden liberar altas dosis en los organismos plaga son los microencapsulados, los atrayentes (como ocurre en la erradicación de la mosca de mediterráneo [*Ceratitis capitata* Wied. Diptera: Tephritidae]), y las trampas cebadas (como las que se usan en el control de la mosca tsetse [*Glossina* spp. Diptera: Glossinidae]); las cuales provocan que el insecto adquiera una dosis de insecticida que es letal para los heterocigotos.

Otras maneras de suprimir las defensas de los insectos consisten en usar sinérgicos. El butóxido de piperonilo (PB) se ha usado por muchos años como sinérgico de las piretrinas en atomizadores caseros, y más reciente en piretroides para el control de plagas agrícolas (ejemplos; *Helicoverpa armigera* Hubner, Lepidoptera: Noctuidae; *Leptinotarsa decemlineata* Say Coleoptera: Chrysomelidae). El butóxido de piperonilo suprime el sistema de oxidasas de función mixta, el cual está involucrado en el metabolismo de los piretroides. El PB suprime de manera eficiente las ventajas selectivas de este mecanismo de resistencia. Este enfoque no puede usarse cuando existan rutas de desintoxicación alternas (ejemplo, cuando el mecanismo de resistencia a piretroides conocido como resistencia al derribo [kdr] esté presente).

Cada uno de estos enfoques puede ser útil bajo condiciones específicas. La estrategia que se basa en la moderación sería apropiada en ambientes forestales. La táctica de saturación podría ser adecuada en invernaderos, silos, y en aspersiones con atrayentes, etcétera.

### *Control por ataque múltiple*

La estrategia del ataque múltiple se basa en la premisa de que el control se puede lograr a través

de la acción de varios agentes de control independientes, incluidos los insecticidas, donde cada uno ejerce una presión de selección a un nivel tan bajo que no ocasione el desarrollo de resistencia. Este enfoque incluye la aplicación de químicos en mezcla y en rotaciones.<sup>18,19</sup> El uso de mezclas de insecticidas asume que los mecanismos de resistencia a cada miembro de la mezcla son diferentes y que inicialmente existen a una frecuencia tan baja que excluye la posibilidad de que ocurran juntos en un solo individuo de una población dada. Por lo tanto, el insecto que sobrevive a un insecticida en la mezcla es muerto por el otro insecticida.

La rotación de insecticida se basa en la información que indica que durante los primeros estados de la selección, los individuos resistentes poseen una capacidad biótica más baja (costo de la resistencia) que la de los individuos susceptibles. Esta capacidad biótica reducida provoca un decremento gradual en la frecuencia de individuos resistentes, cuando el agente de selección es eliminado, o reemplazado por un insecticida que no es afectado por resistencia cruzada.

La posibilidad de usar 2 insecticidas en rotación, mezcla o en secuencia para el control de la resistencia, se ha examinado en varios laboratorios por medio de experimentos en jaula. Tal como se espera, el uso de varios insecticidas en diferentes especies de insectos ha conllevado a conclusiones divergentes. Es obvio que el éxito de cada enfoque dependerá de muchos factores, por ejemplo en el uso de insecticidas se debe tomar en cuenta su modo de acción, los mecanismos potenciales de resistencia que seleccionan, antes de exponer la población objetivo a la presión de selección, y a la presencia de diferencias significativas en capacidad biótica entre individuos susceptibles y resistentes.

## **CONTROL DEL DESARROLLO DE LA RESISTENCIA A PLAGUICIDAS**

Hoy día, la cantidad de plaguicidas con modo de acción novedoso que aparece en el mercado es casi nula. Para fines prácticos se puede aseverar que la época de los plaguicidas organosintéticos ha llegado a su fin. Ante esta situación, la estrategia

química de control de plagas se ha enfocado a lo siguiente: a) desarrollo de herramientas de combate de plagas derivadas de la biotecnología, b) desarrollo de formulaciones que permitan un uso más efectivo de los plaguicidas ya existentes y c) desarrollo y uso de estrategias de control de resistencia que permitan emplear de manera más eficiente a los plaguicidas por períodos más prolongados.

La resistencia a los plaguicidas es tan preocupante que la industria agroquímica, que había estado renuente a aceptarlo, ha empezado a apoyar programas de control de la resistencia a plaguicidas en varias partes del mundo.

Las razones del cambio en la percepción de la importancia de la resistencia por parte de la agroindustria son varias.

*Primero:* el costo de descubrimiento de una molécula nueva con propiedades plaguicidas es exorbitante. Actualmente la industria tiene que invertir, en promedio, más de 50 000 000 de dólares antes de poder liberar al mercado a un plaguicida nuevo.

*Segundo:* se tienen que evaluar más de 20 000 sustancias para poder obtener una con los estándares que se le atribuyen a un plaguicida moderno: eficiencia, eficacia, bajo costo, y baja toxicidad para el ser humano y animales de sangre caliente, entre otros.

*Tercero:* el ser humano es cada vez más consciente de los peligros reales y potenciales que representa el uso de plaguicidas organosintéticos. Este fenómeno ha ejercido una presión enorme sobre los gobiernos respectivos para que impongan restricciones más severas en la autorización de plaguicidas. Esta preocupación, muchas veces justificada, ha conllevado a incrementar sustancialmente el costo de registro de nuevos plaguicidas y al abandono de otros más que son efectivos, pero que no reúnen los estándares ambientales actuales.

Estas razones han propiciado que la agroindustria esté más preocupada que nunca por mantener sus productos en el mercado el mayor tiempo posible. En los países desarrollados como los EE. UU., Australia, Alemania e Inglaterra, las compañías de plaguicidas están desempeñando un papel muy importante en el control de la resistencia a los plaguicidas.

Más de 60 años de investigación sobre el fenómeno de la resistencia ha generado un volumen considerable de información extremadamente valiosa, para entender cómo los artrópodos, en especial los insectos y los ácaros, han desarrollado una habilidad extraordinaria para vivir y reproducirse en ambientes altamente contaminados por plaguicidas. A pesar de este avance, no hay un consenso unánime en la comunidad científica, respecto a la mejor manera de influir en el proceso darwiniano de la evolución de la resistencia. Por tal motivo, es común encontrar en la literatura aparentes contradicciones. Por ejemplo, algunos científicos afirman que, para retrasar el desarrollo de resistencia, el uso de mezclas de insecticidas es superior al uso secuencial o rotacional de estos. Otras autoridades en la materia sostienen lo contrario.

Para controlar de forma adecuada la resistencia a plaguicidas no basta con seguir los lineamientos que se explican en el presente documento, pero su seguimiento redundará en un control de plagas efectivo por un tiempo sustancialmente más largo, comparado con la actual manera ortodoxa de matar a las plagas. Es conveniente puntualizar que es muy posible que varias de las recomendaciones que aquí se presentan no se puedan aplicar en una situación determinada. Por lo tanto, hay que determinar qué recomendaciones son factibles de aplicar tal como se presentan, y cuáles requieren de ciertas modificaciones y cuáles son inadecuadas.

#### 1. Evite el uso de formulaciones de alta persistencia ambiental.

Las formulaciones de plaguicidas que persisten por un tiempo prolongado en el medio ambiente tienen, en general, no solo un mayor potencial de contaminación sino que también seleccionan a la población objetivo por un tiempo mayor del estrictamente requerido. Esto conlleva a que los genes de resistencia se concentren en un tiempo más corto. A la larga, el uso de estos productos resulta contraproducente porque la resistencia se desarrolla más rápido.

#### 2. Use los plaguicidas a las dosis mínimas efectivas.

Existe una correlación positiva entre la dosis de un plaguicida y el porcentaje de mortalidad que

ocasiona. Si usted aplica una dosis baja, el porcentaje de mortalidad producido en la población objetivo podría no ser adecuado.

Si la dosis es muy alta, el porcentaje de mortalidad se espera que sea muy alto, mucho más del necesario, pues está aplicando más de lo indispensable. El problema no termina ahí. La sobredosis que usted aplica agrava aún más el problema de la resistencia. En un tiempo relativamente corto, el plaguicida en cuestión podría perder su efectividad y usted quizás se vería obligado a usar un plaguicida más costoso.

#### 3. Deje algunas generaciones sin seleccionar.

Por lo general la resistencia a los plaguicidas baja cuando la población objetivo se deja sin seleccionar por varias generaciones. A pesar de que esto ocurra, en general no es posible dejar, literalmente, sin seleccionar varias generaciones de organismos plaga. Quizá lo más importante es que deje sin seleccionar algunas generaciones con el mismo tipo de plaguicida. En otras palabras, no dependa para el combate de plagas del mismo grupo toxicológico de plaguicidas por períodos largos.

#### 4. Cuando un plaguicida deje de ser efectivo, no aumente la dosis ni el número de aplicaciones.

La resistencia no se debe combatir usando una mayor cantidad de plaguicidas, sino usándolos de manera más racional. Cuando un plaguicida pierde su eficacia porque la población puede sobrevivir a una dosis que en el pasado era mortal, es una indicación de que los genes de resistencia se han concentrado significativamente. La solución más viable es que use un plaguicida que sea efectivo y que no comparta ningún mecanismo de resistencia importante con el plaguicida inefectivo. Obviamente, se tendrá que determinar si la aplicación del plaguicida fracasó por causa de la resistencia o por otros factores como: aplicación defectuosa, condiciones ambientales desfavorables, producto alterado, entre otros. Siguiendo esta recomendación usted evitará que la resistencia alcance proporciones alarmantes.

Varios estudios han demostrado que cuando la resistencia es inestable en ausencia de presión de selección, resulta contraproducente aumentar la

dosis y la frecuencia de las aplicaciones. Si lo hace, aparte de incrementar los problemas de contaminación ambiental usted podría propiciar las condiciones para que la resistencia se vuelva estable. De ocurrir esto, la resistencia que se alcanzará podría no bajar, a pesar de que el plaguicida en cuestión se dejara de usar por muchas generaciones.

5. Use solo plaguicidas autorizados.

En muchos países existen agencias gubernamentales encargadas de determinar qué plaguicidas se pueden autorizar para su uso. Esta situación produce algunas ventajas, como la eliminación de muchas barreras comerciales entre países al usarse los mismos plaguicidas y se desestimula el uso de plaguicidas de alto riesgo para la salud y el medio ambiente. El uso de plaguicidas no autorizados podría traer como consecuencia una contaminación injustificada del medio ambiente y una selección de genes de resistencia innecesaria.

6. Evalúe la efectividad biológica de los plaguicidas autorizados antes de que se usen en su localidad.

La efectividad biológica deberá verificarse antes de recomendar su uso. Esta práctica nos impedirá que se usen plaguicidas que no ejerzan un control satisfactorio, pero que sí contribuyan a seleccionar genes de resistencia.

7. Continúe con plaguicidas que presenten una resistencia cruzada limitada.

La idea de usar compuestos con resistencia cruzada limitada tiene un fundamento simple. Cuando un plaguicida deje de ser útil por problemas de resistencia, la cantidad de productos alternativos afectados por este fenómeno será muy reducida. Así se tendrán más opciones de control.

8. Posteriormente alterne plaguicidas que presenten una resistencia cruzada negativa entre ellos.

En algunos casos se ha observado que cuando la resistencia al producto A se desarrolla, la población incrementa su susceptibilidad al producto B y

viceversa. A este fenómeno se le conoce como resistencia cruzada negativa, aunque no existen muchos plaguicidas que exhiban este tipo de relación. Aparentemente la resistencia a estos 2 productos se retrasa más cuando se usan en forma alternada que cuando se usan en mezcla.

9. Reduzca el uso de plaguicidas con elevada propensión a resistencia a una sola generación de la plaga por temporada.

Es bien sabido que la resistencia a determinados plaguicidas se desarrolla muy lentamente (plaguicidas de bajo impacto), mientras que a otros se desarrolla de manera muy rápida (plaguicidas de alto impacto). Por ejemplo, la resistencia a las delta endotoxinas que produce la bacteria *Bacillus thuringiensis* se desarrolla de manera muy lenta, mientras que la resistencia a los insecticidas piretroides usualmente se desarrolla muy rápido. Si usted desea prolongar la vida útil de los insecticidas piretroides, es recomendable que los aplique a una sola generación de la población plaga por temporada. Si no se conoce mucho sobre la biología de la plaga en cuestión, la recomendación general es de que no aplique un piretroide después de otro piretroide.

10. Recorra al uso de la mayor cantidad de medidas no-químicas de combate de plagas.

El uso armonioso de una variedad de medidas de combate para mantener la densidad de población de organismos por debajo de cierto nivel, cae dentro del campo del control integrado de plagas.

El control integrado de plagas tuvo un enorme desarrollo tanto conceptual como práctico en la década de los años 70. Este sistema de control de plagas toma en cuenta al medio ambiente y a la rentabilidad de las prácticas de combate. La idea básica de esta filosofía es la de reducir el uso de plaguicidas.

La diversificación de los factores de mortalidad que inciden sobre la población objetivo, puede reducir los problemas de plagas y retrasar el desarrollo de la resistencia; razón por la cual se sugiere al profesional involucrado en la protección vegetal, que analice las posibilidades de introducir la mayor cantidad de medidas de combate no

químicas. Si a raíz de esto, la cantidad total de plaguicida a usar se reduce, tenga la certeza de que los problemas de resistencia se reducirán en la misma proporción.

11. Mantenga un registro detallado de las actividades de combate químico.

En el campo, la resistencia se desarrolla invariablemente en respuesta al uso de plaguicidas. Por lo tanto, es responsabilidad del especialista determinar con mucho cuidado el tipo de plaguicida a usar, formulación, umbral de acción, forma de aplicación, etc.; de tal manera que la vida útil de estos compuestos se prolongue lo suficiente para aminorar el problema de la resistencia a largo plazo.

En muchos casos la resistencia pone en estado de crisis el control de plagas y el experto en la materia no cuenta con ningún tipo de información sobre uso de plaguicidas. En consecuencia, el diagnóstico del problema se hace más difícil. Más grave aún, las estrategias de control de la resistencia de hacen más complicadas de diseñar al no poder inferir la correlación que hay entre el uso de plaguicidas y el desarrollo de la resistencia.

### **PROGRAMA DE ERRADICACIÓN DEL AEDES AEGYPTI EN CUBA**

Después de la ocurrencia en Cuba de la epidemia de dengue, fiebre del dengue hemorrágico (FDH), en 1981, se estableció un programa de control nacional para la erradicación del *Aedes aegypti*, y ocurrió otra epidemia en 1997.

El control actual está basado principalmente en la reducción de los criaderos, mediante control físico, aplicación química, legislación, participación de la comunidad en la limpieza ambiental. También se aplica insecticida en ultra bajo volumen (UBV), pero solo se aplica en un radio de 500 m alrededor de los criaderos positivos de *Aedes aegypti*. La vigilancia es llevada a cabo a través de inspecciones por parte de los responsables, registrando el número de criaderos potenciales y criaderos positivos. Las trampas de larvas son también extensivamente usadas. El programa de control se evalúa a cada nivel, incluido el chequeo diario del trabajo de todos los operarios de control. Esto reduce la ocurrencia de errores y la solución rápida a los problemas.

Aunque la erradicación del *Aedes aegypti* es el principal objetivo del programa, esto es improbable de lograr. Sin embargo, la no-diseminación de la epidemia de Santiago de Cuba en 1997 representó un éxito para el programa, que indudablemente salvó muchas vidas y millones de dólares.

### **SUMMARY**

A review of the effective strategies, outlooks and tactics connected with the management of resistance was made. It was explained that these tactics are not excluding, since some of their elements may be used to set up a long-term resistance management program, and that the strategy should be based on a deep knowledge of the implications for each candidate insecticide resistance, and of the ecology and biology of those species involved. It was also stressed that this strategy should comprise all the non-chemical available fighting measures.

**Subject headings:** INSECTICIDE RESISTANCE; INSECTICIDES, CARBAMATE; INSECTICIDES, ORGANOCHLORINE; INSECTICIDES, ORGANOPHOSPHATE; DENGUE/prevention & control; DENGUE VIRUS; AEDES.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Bisset JA, Rodríguez MM, Díaz C, Ortiz E, Marquetti MC, Hemingway J. The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Cuba. Bull Entomol Res 1990;80:245-50.
2. Bourguet D, Prou, M, Raymond, M. Dominance of insecticide resistance presents a plastic response. Genetics 1996a;143:407-16.
3. Bourguet D, Pasteur N, Bisset J, Raymond M. Determination of Ace.1 genotypes in single mosquitoes: toward an ecumenical and biochemical test. Pestic Biochem Physiol 1996b;55:-7.
4. Bourguet D, Raymond M, Fournier D, Malcolm CA, Toutan, JP, Arpagaus M. Existence of two acetylcholinesterases in the mosquito *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). J. Neurochem. 1996c;67:2115-23.
5. Bourgue D, Capela R, Raymond M. An insensitive acetylcholinesterase in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from Portugal. J Econ Entomol 1996d;89:1060-6.
6. Brattsten LB, Holyoke CV, Leeper JR, Raffa KF. Insecticide resistance: challenge to pest management and Basic Research. Science. 1986;2:1255-60.
7. Brogdon W. Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of a single mosquito homogenates. Comp Biochem Physiol 1988;90C:145-50.
8. Callaghan A, Malcolm CA, Hemingway J. Biochemical studies of A and B carboxylesterases from organophosphates resistant strains of an Italian *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Pest Bio Phys 1991; 41:198-206.
9. Casida JE. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. J Agric Food Chem 1970;18:753.



10. Chen YP, Sudderuddin KI. Toxicological studies of insecticides on *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* (L.). Southeast Asia J Trop Med Public Health 1978;9:378-83.
11. Clark JM, Matsumura F. Two different types of inhibitory effects of pyrethroids on nerve Ca- and Ca<sup>2+</sup>-Mg ATP ase in the squid, *Loligo pealei*. Pestic Biochem Physiol 1982;4:232-8.
12. Clark JM, Matsumura F. The action of two classes of pyrethroids on the inhibition of brain Na,<sup>+</sup> Ca and Ca<sup>2+</sup> Mg ATP hydrolyzing activities of the American cockroach. Comp Biochem Physiol 1987;86c:135-145.
13. Curtis CF, Pasteur N. Organophosphate resistance in vector populations of the complex *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae). Bull Entomol Res 1981; 71:153-161.
14. Doyle KE, Knipple DC. PCR based phylogenetic walking: isolation of para-homologous sodium channel gene sequences from seven insect species and arachnid. Insect Biochem 1991;21:689-96.
15. Eldefrawi ME, Sherby SM, Abalis IM, Eldefrawi AT. Interactions of pirethroids and cyclodiene insecticides with nicotinic acetylcholine and GABA receptors. Neurotoxicology 1985;6:47-61.
16. FAO. Pest resistance to pesticide in agriculture. Importance, recognition and countermeasures. Rome:FAO. 1970. 32pp.
17. Fox I, García-Mola I. Multi-resistant *Aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgin Islands. Science 1961;233:646-7.
18. Georghiou GP. Management of resistance in arthropods. In G. P. Georghiou y T. Saito (eds.), Pest resistance to pesticides. NewYork:Plenum: 1983.p. 769-92.
19. \_\_\_\_\_. Overview of insecticide resistance. In M. B. Green, H. M. LeBaron, y W. K. Moberg eds. Managing resistance to agrochemicals. >From fundamental research to practical strategies. Am Chem Soc Symp Ser 1990;421, Washington, DC Pages 18-41.
20. Hemingway JC, Smith KG, Jayawardena PR, Herath J. Field and laboratory detection of the altered acetylcholinesterase resistance genes which confer organophosphate and carbamate resistance in mosquitoes (Diptera: Culicidae). Bull Entomol Res 1986;76:559-65.
21. Hernández O, Bend JR. Metabolic Basis of Detoxication, W. B. Jakoby Bend, J. Caldwell, eds. New York:Academy Press, 1982; pp 207-28.
22. Herve J. El modo de acción de los piretroides y el problema de la resistencia a estos compuestos en: Deltametrina (monografía), ed. Roussel Uclaf, 1983; cap 3, pp67- 107.
23. Knipple DC, Payne L, Soderlund DM. PCR-generated conspecific sodium channel gene probe for the house fly. Arch. Insect Biochem. Physiol. 1991; 16: 45-53.
24. Knipple DC, Doyle KE, Marsella-Herrick PA, Soderlug DM. Tight genetic linkage between the kdr insecticide resistance trait and a voltage-sensitive sodium channel gene in the house fly. Proc Natl Acad Sci 1994;91:2483-7.
25. Lalah JO, Chien CI, Motoyama N, Dauterman WC. Glutathione S-transferases: alpha-naphthyl acetate activity and possible role in insecticide resistance. J Econ Entomol 1995;88:768-70.
26. Laufer J, Phelhate M, Sattelle DB. Actions of pyrethroid insecticides on insect axonal sodium channels. Pestic Sci 1985;16:651-61.
27. Lund AE, Narahashi T. Kinetics of sodium channel modification as the basis for the variation in nerve membrane effects of pyrethroids and DDT analogs. Pestic Biochem Physiol 1983;20:203-16.
28. Malcolm CA. Current status of pyrethroid resistance in Anophelines. Parasitology Today. 1988;4:13-5.
29. Miller TA. Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides. Parasitology Today. 1988;4:8-12.
30. Narahashi T. Nerve membrane sodium channels as the major target site of pyrethroids and DDT. In: Miyamoto, J. Kearney, P. C. (ed) Pesticide chemistry: human welfare and the environment, Oxford:Pergamon Press, 1983;pp 109-14.
31. Narahashi T. Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. Neurotoxicology 1985;6:3-22.
32. O'Brien RD, Tripathi RK, Howell LL. Substrate preferences of wild and a mutant house fly acetylcholinesterase and a comparison with the bovine erythrocyte enzyme. Biochem Biophys Acta 1978;526:29.
33. Omer SM, Georghiou GP, Irving SN. DDT/pyrethroid resistance interrelationships in *Anopheles stephensi*. Mosq News 1980;40:200-9.
34. Pasteur N. Reserche de génétique chez *Culex pipiens* L. Polimorphisme enzymatique, autogénese et resistance aux insecticides organophosphorés. 1977. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Montpellier II, Montpellier, France, 170 pp.
35. Prasittisuk C, Busvine JR. DDT -resistant mosquito strains with cross-resistance to pyrethroids. Pestic Sci 1977; 8:527-33.
36. Reiner E. Spontaneous reactivation of phosphorylated and carbamylated cholinesterases. Bull Entomol Res 1971;44:109-12.
37. Rodríguez MM, Bisset J, Molina D, Lauzan L. Detection of resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from Cuba and Venezuela. J Med Entomol 2001;38:623-8.
38. Ruigt GS, Neyt HC, Vander Zalm JM, Van den Bercken. Increase of sodium current after pyrethroid insecticides in mouse neuroblastoma cells. Brain Res 1987; 29:437:309-22.
39. Sawicki RM, Farnham AW. Genetics of resistance to insecticides in the Ska strain of *Musca domestica*. Location and isolation of the factors of resistance to dieldrin. Entomologica Experientia Applicata 1968;11:133-42.
40. Sherby SM, Eldefrawi AT, Deshpande SS, Albuquerque EX, Eldefrawi ME. Effect of pyrethroids on nicotinic acetylcholine receptor binding and function. Pestic Biochem Physiol 1986;26:107-15.
41. Smissaert HR, Voerman S, Oostenbrugge L, Renooy N. Acetylcholinesterases of organophosphate susceptible and resistant spider mites. J Agric Food Chem 1970; 18:66.
42. Soderlund DM, Sanborn JR, Lee PW. (1983). Proz. Pestic. Biochem. Toxicol. 3.
43. Soper FL. The prospects for *Aedes aegypti* eradication in Asia in the light of its eradication in Brazil. Bull World Health Organ 1967;36 (4):645-7.
44. Sotolongo MG, Vidal AN. Metabolismo y excreción de los compuestos extraños en: Elementos de Toxicología. La Habana:Editorial Pueblo y Educación;1988. p. 11,12.
45. Terriere C L. Induction of detoxication enzymes in insects. Ann Rev Entomol 1984; 29:71-8.
46. Villany F, Hemingway J. The detection and interaction of multiple organophosphorus and carbamate insecticide resistance genes in field populations of *Culex pipiens* from Italy. Pestic Biochem Physiol 1987;27:218-28.
47. Villany F, White GB, Curtis CF, Miles SJ. Inheritance and activity of some esterases associated with organophosphate resistance in mosquitoes of the complex of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Bull Entomol Res 1983;73:153-70.
48. Vinson SB, Law PK. Cuticular composition and DDT resistance in the tobacco bud worn . J Econ Entomol 1971;64:1387.
49. Voss G, Matsumura F. Biochemical studies on modified and normal cholinesterase found in the Leverkusen strains of two spotle spidermite *Tetranychus urticae* Con J Bio 1965;46:63-72.

50. WHO. Seventh report Expert Committee on insecticides WHO Tech Report Ser 1957;125:37.
51. Yasutomi, K. Studies on organophosphate resistance and esterase activity in mosquitoes of *Culex pipiens* group. Jap J Sanit Zool 1970;21:41.
52. Zarahavi M, Tahori AS, Klimer F. Insensitivity of acetylcholinesterase to organophosphate compounds as related to size of esteratic site. Mol Phar 1971;7: 611-9.

53. Zerva, E. Insecticidal activity of pyrethroids in insect of medical importance. Parasit Today 1988;4:53-7.

Recibido: 23 de abril de 2002. Aprobado: 19 de julio de 2002.  
Lic. *Juan A Bisset*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf".  
Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: [ciipk@ipk.sld.cu](mailto:ciipk@ipk.sld.cu)