

Dosis diagnósticas para vigilar la resistencia a insecticidas de los vectores de malaria en Colombia

Diagnostic doses for monitoring insecticide resistance of malaria vectors in Colombia

IDALYD FONSECA-GONZÁLEZ^{1,2}, ROCÍO CÁRDENAS², WILBER GÓMEZ³, LILIANA SANTACOLOMA^{4,5}, HELENA BROCHERO^{4,5}, CLARA OCAMPO⁶, MIRIAM SALAZAR⁶, JANET MCALLISTER⁷, WILLIAM BROGDON⁸ y MARTHA QUIÑONES^{2,9}

Resumen: El control de los mosquitos vectores de malaria se realiza principalmente con aplicaciones de insecticidas ya sea en las paredes internas de las viviendas o en toldillos. Por lo anterior, la vigilancia de la resistencia a insecticidas en estas especies es fundamental para la definición de planes y estrategias de control de malaria. El propósito de este estudio fue determinar las dosis diagnósticas de varios insecticidas de uso en salud pública para los principales vectores de malaria en Colombia: *Anopheles darlingi*, *A. albimanus* y *A. nuneztovari*, utilizando la metodología de las botellas impregnadas desarrollada por los Centros para la Prevención y Control de Enfermedades. Se seleccionaron poblaciones naturales de las tres especies sometidas a baja o nula presión con insecticidas con las cuales se realizaron bioensayos para determinar las líneas base de susceptibilidad. Se establecieron las dosis diagnósticas (concentración del insecticida y tiempo diagnóstico) o curvas de saturación, para los insecticidas lambda-cialotrina, deltametrina, fenitrotión, malatión y DDT para los tres vectores; ciflutrina, permetrina y propoxur para *A. albimanus* y *A. darlingi*; y etofenprox y bendiocarb para *A. darlingi*. Las dosis diagnósticas determinadas en estas poblaciones permitirán evaluar el estado de la resistencia a insecticidas de los principales vectores de malaria a lo largo de su distribución en Colombia, fortaleciendo el sistema de vigilancia de la resistencia y facilitando la toma de decisiones para un uso más adecuado de los insecticidas en el control de malaria en el país.

Palabras clave: Control vectorial. *Anopheles albimanus*. *Anopheles darlingi*. *Anopheles nuneztovari*. Bioensayos en malaria.

Abstract: The control of mosquito vectors of malaria is largely based on insecticide applications, either on the inside walls of dwellings or on treated nets. For that reason, the surveillance of insecticide resistance in these species is essential for the definition of plans and strategies of malaria control. The purpose of this study was to determine the diagnostic doses of several insecticides used in public health for the main vectors of malaria in Colombia: *Anopheles darlingi*, *A. albimanus* and *A. nuneztovari*, using the methodology of impregnated bottles developed by the Centers for Disease Control and Prevention. Natural populations of the three species, submitted to low or no insecticide pressure, were selected with which bioassays were conducted to determine baseline susceptibility. Diagnostic doses (insecticide concentration and diagnostic time), or saturation curves, were established for the insecticides lambda-cyhalothrin, deltamethrin, fenitrothion, malathion and DDT for the three vectors; cyfluthrin, permethrin and propoxur for *A. albimanus* and *A. darlingi*, and etofenprox and bendiocarb for *A. darlingi*. The diagnostic doses determined in these susceptible populations will allow an evaluation of the status of insecticide resistance of the main malaria vectors across their distribution in Colombia, strengthening the resistance surveillance system and facilitating decision making for a more appropriate use of insecticides to control malaria in the country.

Key words: Vector control. *Anopheles albimanus*. *Anopheles darlingi*. *Anopheles nuneztovari*. Bioassays in malaria.

Introducción

La malaria continúa siendo la enfermedad transmitida por insectos que causa los mayores índices de morbi-mortalidad en Colombia (Sivigila 2007). Para su control en el país se adoptaron las estrategias del programa “Hacer Retroceder la Malaria en el Mundo” propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS 1994). Los cuatro principios técnicos de la estrategia mundial son: el diagnóstico temprano y tra-

tamiento inmediato de la enfermedad; la aplicación de medidas de protección y prevención; el desarrollo de la capacidad para predecir y contener epidemias, y el fortalecimiento de la capacidad local en investigación básica y aplicada para permitir y promover la evaluación regular de la situación de la malaria (OMS 1994). La utilización de insecticidas, bien sea en rociamientos intradomiciliarios o en toldillos, es la medida de control utilizada con mayor frecuencia para interrumpir la transmisión de la enfermedad durante brotes y epidemias y

¹ Grupo Biología y Control de Enfermedades Infecciosas, Universidad de Antioquia, Calle 62 No. 52 - 59 Lab. 620, Medellín, Colombia. idalyd.fonseca@siu.udea.edu.co. Autor para correspondencia.

² Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET, Universidad de Antioquia, Calle 62 No. 52 - 59, Medellín, Colombia.

³ Dirección Seccional de Salud de Antioquia, Calle 42B No. 52-106, Medellín, Colombia.

⁴ Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Avenida calle 26 No. 51 - 20, Bogotá, Colombia.

⁵ Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 No. 45 - 03, Bogotá, Colombia.

⁶ Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas - CIDEIM, Carrera 125 No. 19 - 225, Cali, Colombia.

⁷ Centers for Disease Control and Prevention, Fort Collins, USA.

⁸ Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA.

⁹ Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 No. 45 - 03, Bogotá, Colombia.

como acción preventiva en las áreas de transmisión (Najera y Zaim 2002). La OMS informa que para la región de las Américas se utilizaron aproximadamente 230.000 kilos de ingrediente activo de insecticidas para el control de malaria entre los años 2000 y 2002, de los cuales el 57% corresponde a piretroides, el 41% a organofosforados y el restante 2% a carbamatos y organoclorados (Zaim y Jambulingam 2004).

Esta utilización de insecticidas genera una presión de selección en las poblaciones de mosquitos que podría causar resistencia a los ingredientes activos de uso en salud pública (WHO 1975). La situación se agrava en áreas endémicas para la enfermedad donde la agricultura presenta un desarrollo importante, ya que los vectores que habitan estos ecosistemas tienen una presión de selección aún mayor por los insecticidas utilizados para plagas en sistemas de cultivos (Guillet 2006; Verschueren 2006).

De las 45 especies de anofelinos registradas para Colombia, *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820, *A. darlingi* Root, 1926 y *A. nuneztovari* Gabaldon, 1940, son reconocidas como los principales vectores de malaria y principales objetivos de los programas de control vectorial. Estas especies se encuentran distribuidas así: *A. albimanus* sobre las Costas Pacífica y Atlántica, *A. nuneztovari* en el Oriente y Valles Interandinos y *A. darlingi* en los Llanos Orientales, Urabá y Valles Interandinos (Olano *et al.* 2001).

En Colombia, los insecticidas químicos se usan para el control de malaria desde 1959. El Servicio de Erradicación de la Malaria y la Dirección de Campañas Directas del Ministerio de Salud realizaron periódicamente la vigilancia de la resistencia al organoclorado DDT utilizando la metodología de la OMS. Esta vigilancia permitió encontrar poblaciones naturales de *A. darlingi* de Quibdó, Chocó (Suárez *et al.* 1990) y de *A. albimanus* en los municipios de El Carmen (Bolívar), Codazzi, Robles y Valledupar (Cesar) (Quiñones *et al.* 1987) resistentes a DDT. A partir de 1992 y debido a la prohibición del uso de este organoclorado se han venido usando principalmente insecticidas piretroides y organofosforados en los programas de control de malaria, sin mantener vigilancia sobre su impacto en la generación de resistencia fisiológica en poblaciones de los vectores. Entre las razones para esto se puede mencionar la descentralización del programa, lo que trajo consigo dificultades administrativas y para la consecución de los materiales requeridos para la realización de los bioensayos de la OMS (tubos y papeles impregnados) (WHO 1981), los cuales deben ser importados.

Con el propósito de reactivar la vigilancia de la resistencia de los vectores de malaria en el país se desarrolló entre 2005 y 2007 el proyecto: "Evaluación del estado actual de la resistencia a insecticidas en los principales vectores de malaria, dengue y fiebre amarilla urbana en Colombia e iniciación de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a Insecticidas en Colombia". Para ello, se realizó una alianza interinstitucional entre el Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales de la Universidad de Antioquia (PECET), el Centro de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), el Instituto Nacional de Salud (INS) y la Universidad Nacional de Colombia (UNAL), con el apoyo de las Secretarías de Salud Departamentales y la financiación de COLCIENCIAS. El proyecto incluyó la utilización de la metodología de la OMS y la metodología de las botellas de vidrio impregnadas propuesta por el Centro de Prevención y Control de Enfermedades de Estados Unidos (Centers for Disease Control and Prevention - CDC).

El propósito de este estudio fue determinar las dosis diagnósticas para los diferentes grupos de insecticidas en poblaciones colombianas de las especies de *Anopheles* adultos, basados en la correlación tiempo vs. mortalidad propuesto por el CDC (Brogdon y McAllister 1998). El establecimiento de las líneas base con poblaciones susceptibles permitirá detectar los niveles de resistencia en poblaciones de regiones con transmisión y por tanto sometidas a presión con insecticidas. Esto busca generar herramientas que permitan el uso racional de los insecticidas y toma de decisiones basadas en información local sobre el estado de susceptibilidad o resistencia de los vectores a determinados insecticidas. Se presentan en este estudio las dosis diagnósticas por el método de la botella del CDC, a varios insecticidas, para los tres vectores primarios de malaria en Colombia; lo anterior permitirá disponer de una metodología alternativa para vigilar la resistencia a insecticidas en los diferentes departamentos del país.

Materiales y Métodos

Áreas de estudio y poblaciones de mosquitos evaluadas.

Las líneas base de susceptibilidad para los bioensayos con botellas en las especies de *Anopheles* se determinaron utilizando poblaciones silvestres con historia de poca aplicación de insecticidas. Los bioensayos se realizaron directamente en campo con especímenes recolectados con atrayente humano o en abrigos animales (Service 1976), en las siguientes regiones del país:

A. albimanus fue recolectado en zona ganadera del área rural del municipio de Santa Rosa de Lima (Bolívar), ubicado en la Costa Norte Colombiana (10°20'24"N, 75°24'38.91"W) con altitud de 52 msnm. Esta zona registra altas densidades de *A. albimanus* pero una baja incidencia de malaria por lo cual no se usan insecticidas.

A. darlingi recolectado en la localidad Malanoche, municipio de Nechí, región del bajo Cauca de Antioquia (8°05'47"N, 74°46'33"W) con altitud de 31 msnm. En esta región no se realizan fumigaciones ni ningún tipo de control químico desde hace más de 12 años.

A. nuneztovari Gabaldón, 1940 fue recolectado en la localidad de Caño Victoria, municipio de Tibú, Norte de Santander (8°34'52.02"N, 72°40'42"W) con altitud de 56 msnm. Esta localidad presenta la mayor densidad de la especie vector y los niveles más bajos de intervención química con insecticidas

Insecticidas evaluados. Se utilizaron soluciones de insecticidas grado estándar diluidos en etanol absoluto grado reactivo. Los principios activos evaluados fueron: piretroides (lambdacialotrina, deltametrina, permetrina, ciflutrina), organofosforados (malatión, fenitrotión, temefos, pirimifos metil), carbamatos (propraxur, bendiocarb), organoclorado DDT y el seudopiretroide etofenprox. Todos los insecticidas grado técnico fueron obtenidos de Chem Service® (West Chester, PA).

Bioensayos. Antes de evaluar las líneas base de susceptibilidad para *Anopheles* spp. con las poblaciones naturales seleccionadas, se determinó el estado de susceptibilidad de estas poblaciones utilizando la metodología estandarizada de la OMS con papeles impregnados (WHO 1981). Las dosis diagnósticas utilizadas en los bioensayos de papeles impregnados con insecticidas fueron las provistas por la OMS (OMS,

Penang, Malaysia): DDT (4%), malatión (5,0%), fenitrotión (1%), propoxur (0,1%), bendiocarb (1%), lambdacialotrina (0,05%), deltametrina (0,05%), permetrina (0,75%), ciflutrina (0,15%) y etofenprox (0,5%). Según los criterios de la OMS, una población se considera susceptible cuando se obtienen porcentajes de mortalidad superiores al 98%. Una vez se confirmó la susceptibilidad de cada población mediante bioensayos OMS, se utilizaron mosquitos de la misma población para definir las dosis diagnósticas utilizando la metodología de botellas impregnadas propuesta por el CDC.

Los bioensayos CDC fueron realizados en botellas de vidrio transparentes, autoclavables de 250 ml, previamente lavadas y esterilizadas. Cada botella fue impregnada colocando un ml de la solución de la dosis del insecticida y exponiendo la totalidad de la superficie interna de la botella a la solución, incluyendo el interior de la tapa. Esto se logró realizando movimientos de rotación hasta cerciorarse que el producto se hubiera distribuido uniformemente dentro de la botella. Las botellas se dejaron secar durante tres horas antes de iniciar las pruebas, teniendo la precaución de cubrirlas con papel oscuro para proteger el insecticida de la degradación por efecto de la luz (Brogdon y McAllister 1998).

Cada población se evaluó con al menos tres dosis de cada insecticida, las cuales se prepararon en µg de ingrediente activo. Las soluciones de insecticidas con cada dosis a evaluar se prepararon a partir de las soluciones stock dentro de las 24 horas previas a la realización de la prueba. Las soluciones stock permanecieron protegidas de la luz, refrigeradas a 4°C y se manipularon por un único operario. Cada prueba consistió en la exposición de 15 a 20 hembras adultas en cada botella, para un total de cuatro botellas impregnadas y una botella control, la cual solo se impregnó con etanol absoluto. Cada 15 min. se registró el número de mosquitos vivos y muertos en la botella. Este proceso se realizó durante 1,5 – 2 horas o hasta que todos los mosquitos estuvieron muertos. El criterio de mortalidad se definió como los mosquitos con dificultades para volar, incapaces de mantenerse parados sobre la superficie de la botella o que estuviesen caídos en ésta, es decir que demostraran síntomas de intoxicación.

Determinación taxonómica de especies. Debido a que en una misma localidad habitan en forma simpátrica diferentes especies de *Anopheles*, fue necesario determinar taxonómica-

mente los ejemplares utilizados en las pruebas. Una vez concluido cada bioensayo, los mosquitos se individualizaron en viales de 1,5 ml, debidamente rotulados con la información correspondiente al sitio, insecticida, réplica y fecha. La determinación taxonómica se realizó mediante la comparación morfológica de caracteres usando las claves disponibles (Faran y Linthicum 1981; Linthicum 1988). La determinación taxonómica de *A. nuneztovari* se confirmó mediante técnicas de biología molecular PCR-RFLP (Ruiz *et al.* 2005).

Análisis de resultados. Se usó la fórmula modificada de Abbott para corregir la mortalidad observada de las pruebas de bioensayos cuando las mortalidades en el control se encontraban entre 5-20%. Los porcentajes de mortalidad en relación con el tiempo se graficaron para cada concentración, clase de insecticida y especie. La línea de saturación o dosis diagnóstica se definió como la menor concentración de insecticida que causó el 100% de mortalidad en el menor tiempo para cada insecticida. La dosis diagnóstica (DD) para cada insecticida correspondió a la menor dosis con la cual se obtuvo el 100% de mortalidad de la cepa de referencia en el menor tiempo (Brogdon y McAllister 1998).

Resultados

Los bioensayos de la OMS permitieron confirmar la susceptibilidad de las poblaciones naturales evaluadas, las cuales mostraron mortalidades superiores al 98% (Tabla 1). Aunque inicialmente se había propuesto la evaluación de 11 insecticidas en cada especie, esto no fue posible debido a las dificultades de recolectar el número de ejemplares necesario para la estandarización. Las recolecciones estuvieron afectadas por las altas precipitaciones y la variación en las densidades de las especies. Por lo anterior fue necesario priorizar los insecticidas a evaluar, particularmente con la especie *A. nuneztovari*. Las líneas base de susceptibilidad y las dosis diagnósticas (concentración y tiempo) para cada insecticida en cada una de las especies usando los bioensayos con botellas se muestran en las figuras 1 a 3.

Línea-base de susceptibilidad y dosis diagnósticas para *A. albimanus*. En *A. albimanus* fue posible determinar las DD para ocho insecticidas: cuatro piretroides, dos organo-

Tabla 1. Porcentajes promedio de mortalidad de poblaciones colombianas de *A. albimanus*, *A. darlingi* y *A. nuneztovari* usando la metodología de la OMS.

Insecticida* \ Especie	<i>A. albimanus</i>	<i>A. darlingi</i>	<i>A. nuneztovari</i>
Lambdacialotrina (0,05%)	100	100	99
Deltametrina (0,05%)	99	100	100
Ciflutrina (0,15%)	98	100	N.D**
Permetrina (0,75%)	100	100	N.D**
Etofenprox (0,5%)	98	N.D**	N.D**
DDT (4%)	98	100	99
Malation (5%)	100	100	100
Fenitrotion (1%)	100	100	100
Propoxur (0,1%)	100	100	N.D**
Bendiocarb (0,1%)	N.D**	100	N.D**

* Ingrediente activo y dosis estándar impregnada en los papeles de la OMS, **N.D: No determinado.

fosforados, un carbamato y DDT (Fig. 1). En relación con los piretroides, la menor dosis fue determinada para permetrina mientras lambda-cialotrina y deltametrina tuvieron dosis semejantes pero con diferencias en los tiempos de exposición. Lo anterior se observó también en los organofosforados malatión y fenitrotion para los cuales se determinó una DD de 50 µg pero el tiempo de exposición fue 15 min. mayor para fenitrotion. Para DDT se evaluaron cuatro concentraciones iniciando con 200 µg hasta determinar la concentración de 50 µg en 30 min. como la DD. En el caso del carbamato propoxur fue necesario evaluar ocho concentraciones iniciando en 30 µg hasta 1 µg; esta última concentración fue determinada como la DD en 15 min. de exposición.

Línea-base de susceptibilidad y dosis diagnósticas para *A. darlingi*. En esta especie fue posible determinar las DD para diez insecticidas, cinco piretroides, dos organofosforados, dos carbamatos y DDT (Fig. 2). Las DD y tiempos de exposición determinados para los piretroides lambda-cialotrina y deltametrina fueron 12,5 µg en 30 min.; ciflutrina y etofenprox presentaron DD y tiempos semejantes correspondientes a 6,25 µg en 30 min.; permetrina presentó la mayor DD de todos los piretroides (21,5 µg), en contraste con la evaluación en *A. albimanus* donde la DD fue de 1 µg. Malatión y fenitrotion presentaron dosis y tiempos diagnósticos semejantes. Propoxur y bendiocarb presentan tiempos de exposición semejantes pero la DD para propoxur fue el doble

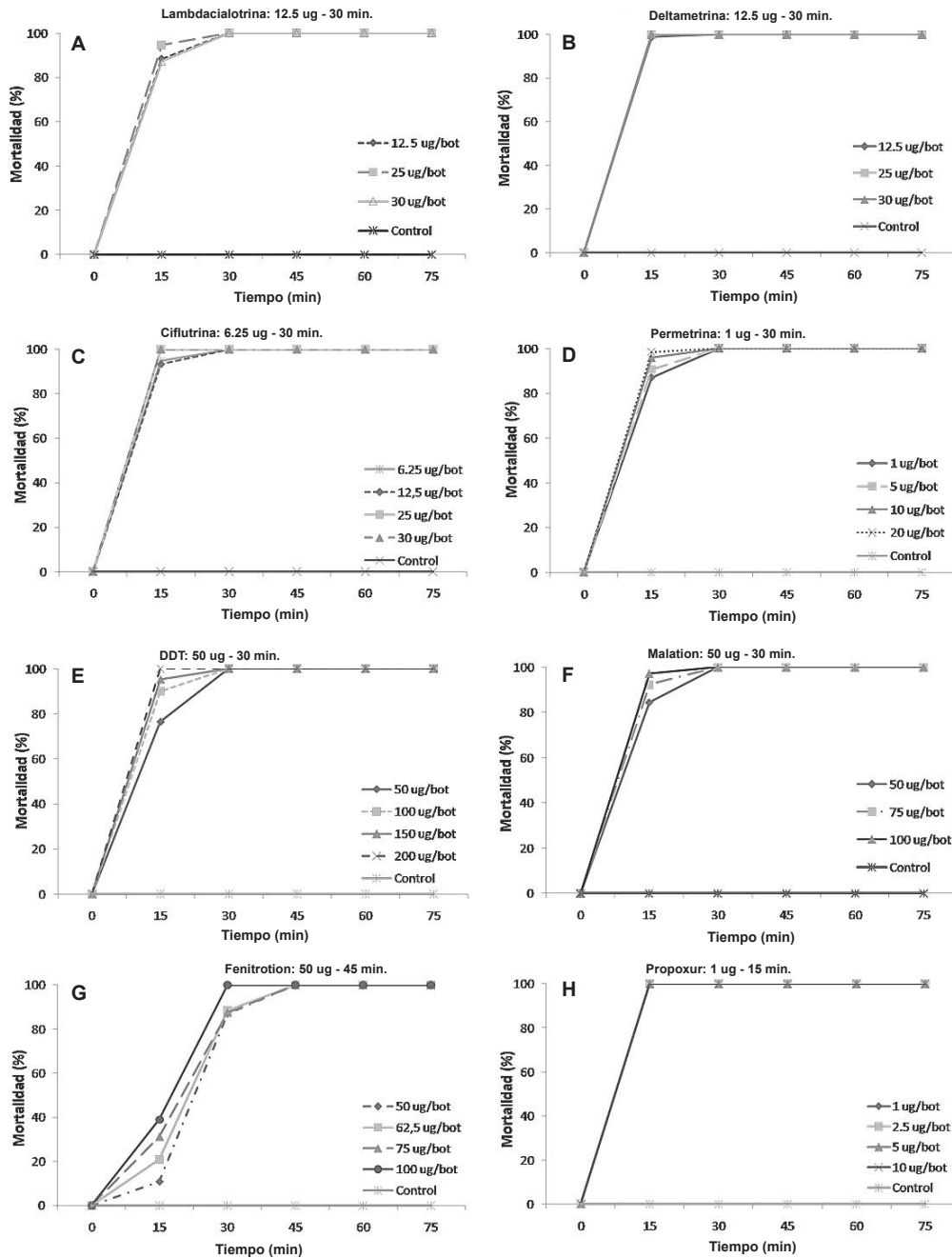


Figura 1. Línea base de susceptibilidad y dosis diagnósticas para *A. albimanus* obtenidas con la población de Santa Rosa de Lima, Bolívar. Curvas obtenidas con las dosis evaluadas y dosis (concentración y tiempo) escogidas para la evaluación en campo. A-D. Piretroides. E. Organoclorado. F-G. Organofosforados. H. Carbamato.

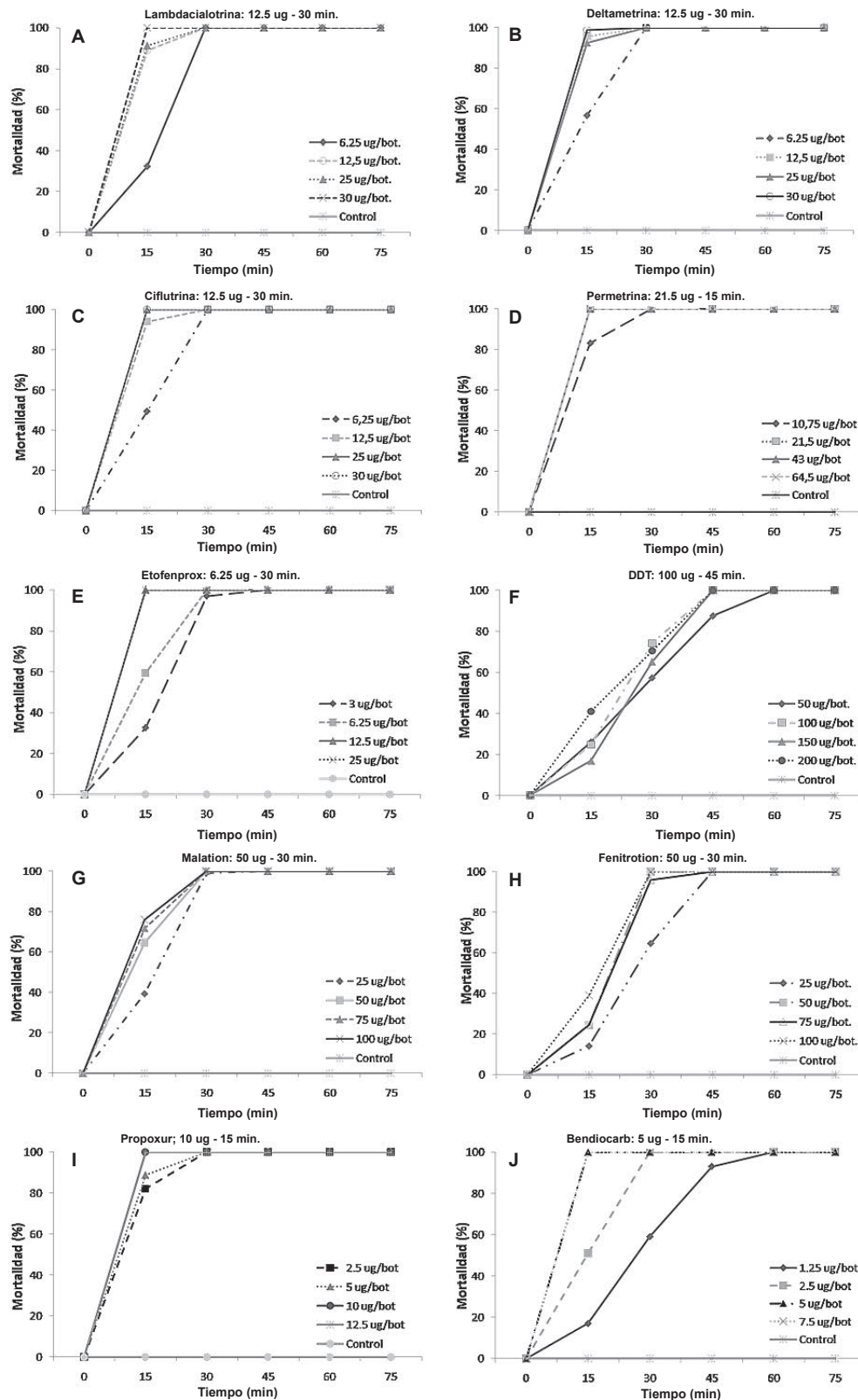


Figura 2. Líneas base de susceptibilidad y dosis diagnósticas para *A. darlingi* obtenidas con la población de Nechí, Antioquia. Curvas obtenidas con las dosis evaluadas y dosis (concentración y tiempo) escogidas para la evaluación en campo. A-D. Piretroides. E. Seudopiretroide. F. Organoclorado. G-H. Organofosforados. I-J. Carbamatos.

de la determinada para bendiocarb. La DD para DDT en *A. darlingi* correspondió al doble de la DD encontrada para *A. albimanus* con un tiempo diagnóstico también mayor para *A. darlingi*.

Línea-base de susceptibilidad y dosis diagnósticas para *A. nuneztovari*. La determinación de las DD en *A. nuneztovari* solo fue posible para cinco insecticidas. Si bien Caño Victoria fue la población natural con menor registro de uso de

insecticidas y a su vez donde se encontró la más alta densidad de esta especie, el número de mosquitos recolectados solo fue suficiente para construir la línea-base de susceptibilidad a lambdacialotrina, deltametrina, fenitrotion, malatión y DDT. Estas restricciones fueron ocasionadas principalmente por la alta diversidad de especies anofelinas encontradas en la zona de estudio. Con excepción de la DD encontrada para DDT, la cual fue semejante a la determinada en *A. albimanus*, esta especie presentó las menores DD de los tres vectores de malaria evaluados (Fig. 3).

Discusión

En este trabajo se definieron las dosis diagnósticas para realizar la vigilancia de la susceptibilidad de las especies *A. albimanus*, *A. darlingi* y *A. nuneztovari*, principales vectores de malaria en Colombia, utilizando el método de botellas impregnadas. Esta metodología surge como una opción alternativa a la metodología de papeles impregnados de la OMS, la cual requiere la importación de los implementos necesarios, con dificultades para su compra, además de la rápida expiración de los papeles. Esto ha dificultado el uso de esta

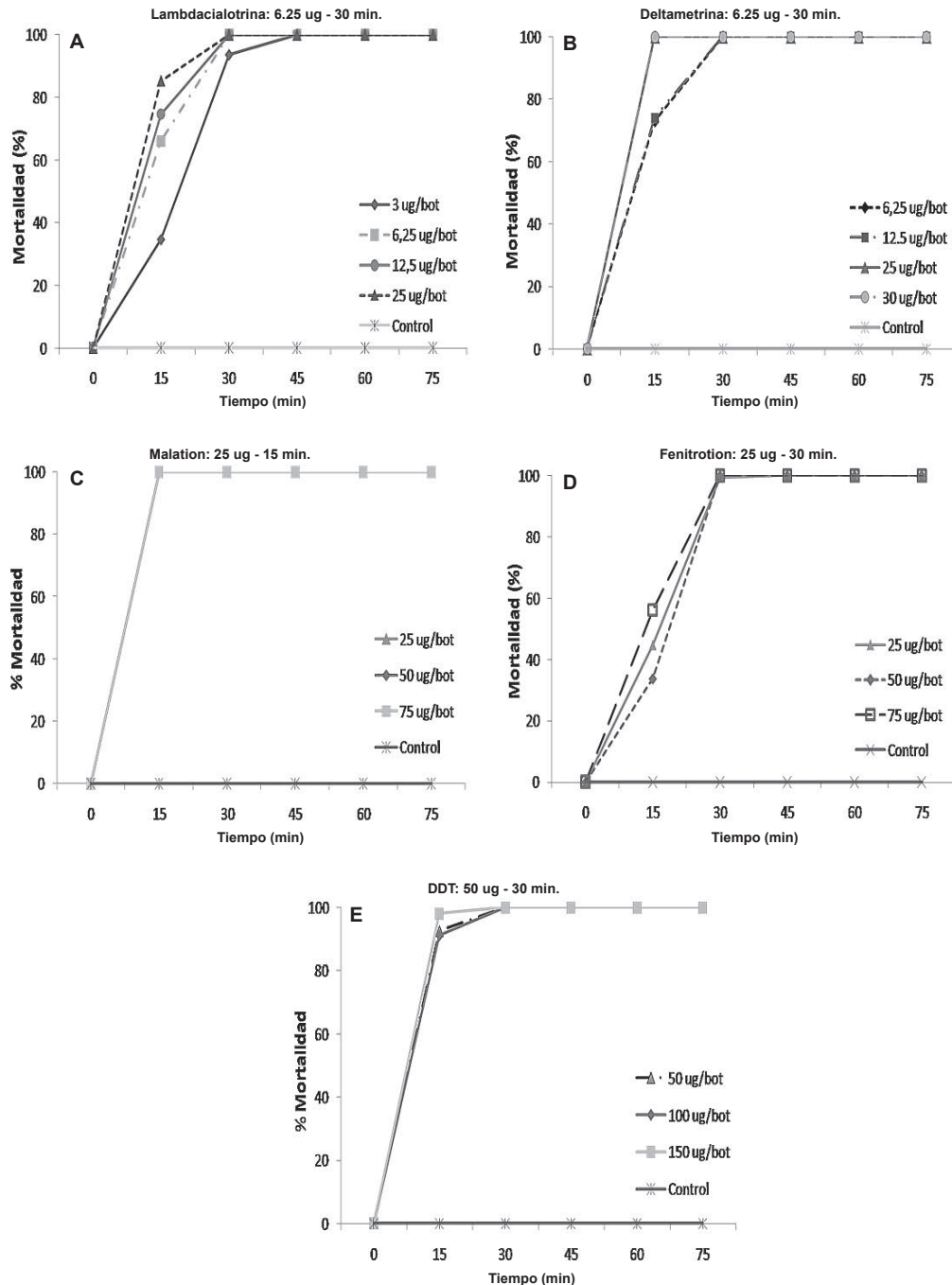


Figura 3. Líneas base de susceptibilidad y dosis diagnósticas para *A. nuneztovari* obtenidas con la población de Caño Victoria, municipio de Tibú, Norte de Santander. Curvas obtenidas con las dosis evaluadas y dosis (concentración y tiempo) escogidas para la evaluación en campo. **A-B.** Piretroides. **C-D.** Organoclorados. **D-E.** Organofosforado.

metodología para el mantenimiento de la vigilancia de la resistencia de los vectores de malaria en el país. Algunas de las principales ventajas del uso de las botellas impregnadas son su sencilla preparación en el laboratorio, la evaluación simultánea de varias dosis e insecticidas, la obtención de resultados en un tiempo no mayor a las 3 horas y la utilización de botellas de vidrio de fácil adquisición a nivel local. La metodología está diseñada para incorporar sinergistas los cuales orientan sobre el posible mecanismo de resistencia presente (Brogdon y McAllister 1998). A su vez, es poco probable obtener falsos resultados de resistencia pues todo el interior de la botella, incluyendo la tapa, se encuentra impregnado con el insecticida. Todas estas características reducen los costos de los bioensayos, facilitando su implementación en programas de vigilancia rutinaria de la resistencia. No obstante, es obligatorio almacenar, transportar y rotular correctamente las soluciones de trabajo, hacer un lavado estricto de las botellas para permitir múltiples usos y es fundamental entrenarse en la interpretación de los resultados, especialmente en los criterios de mortalidad.

Se registran hasta la fecha dosis diagnósticas para *A. albimanus* de Guatemala, usando bioensayos CDC para evaluar la susceptibilidad a permetrina (43 µg/botella), malatión (100 µg/botella) y DDT (50 µg/botella) (Brogdon *et al.* 1999). La evaluación de poblaciones de *A. albimanus* de Guatemala procedentes de sitios de muestreo aislados pocos km, demostró variaciones en la presencia de resistencia, el nivel de resistencia y mecanismo responsable de la misma (Brogdon *et al.* 1999). Las dosis obtenidas en este trabajo evaluando permetrina y malatión en *A. albimanus* de Colombia fueron 43 y dos veces menores que las dosis usadas en la población de Guatemala para estos mismos insecticidas respectivamente. Estos datos confirman la necesidad de establecer las dosis diagnósticas en poblaciones de vectores locales, debido a que representan diferencias en la selección por la aplicación histórica de los insecticidas en cada sitio, junto con las variaciones genéticas propias de cada especie. Actualmente no hay dosis diagnósticas reportadas para los otros insecticidas evaluados ni para *A. darlingi* o *A. nuneztovari*, siendo nuestros resultados los primeros en determinarlas.

La utilidad de estas dosis diagnósticas en la determinación de los niveles de resistencia a insecticidas fue evaluada recientemente con poblaciones naturales de *A. darlingi* de los departamentos de Antioquia, Chocó y Putumayo. Este estudio demostró concordancia entre las metodologías de la OMS y del CDC, las cuales detectaron resistencia a DDT y lambda-cialotrina en la población recolectada en la localidad de Amé-Beté (Chocó); estos resultados son una alerta temprana para las autoridades de salud dado el amplio uso que tienen actualmente los piretroides para el control de malaria en este departamento (Fonseca-González *et al.* 2009).

Las dosis diagnósticas del presente estudio demuestran que cada principio activo actúa de manera particular en cada una de las especies de anofelinos y evidencian que la resistencia fisiológica a los insecticidas constituye un fenómeno definido espacio-temporalmente que depende directamente de la presión por una clase específica de insecticida, del tipo de intervención, la bionomía del vector, la dinámica de la población y el estadio de vida blanco del control (Guillet 2006). Además, Colombia registra varias especies vectores auxiliares de malaria como *A. rangeli* Galbadon, Cova-García & Lopez, 1940 y *A. oswaldoi* (Peryassú, 1922) en Putumayo (Quiñones *et al.* 2006), *A. punctimacula* Dyar & Knab, 1906

y *A. pseudopunctipennis* Theobald, 1901 (Olano *et al.* 2001), los cuales contribuyen a mantener las endemias de la enfermedad y en algunos casos, pueden actuar como vectores primarios dependiendo de la estacionalidad de las poblaciones. Es necesario definir las dosis diagnósticas o las líneas base de susceptibilidad para cada especie y cada insecticida, partiendo de la cuidadosa selección de poblaciones con baja presión de selección, tanto de insecticidas de uso en salud pública como de insecticidas de uso agrícola.

La detección temprana de poblaciones resistentes y la vigilancia permanente de los niveles de resistencia usando las dosis diagnósticas determinadas en este estudio permitirá la selección correcta de los insecticidas a utilizar en las diferentes regiones, contribuyendo al establecimiento de programas sostenibles de prevención y control de malaria con impacto a nivel epidemiológico visible a través de la disminución de casos.

Este trabajo fue parte de un esfuerzo conjunto entre las autoridades locales y nacionales de salud y grupos de investigación para promover la vigilancia de la resistencia a insecticidas de los vectores primarios de malaria en Colombia. A partir de la transferencia de tecnología basada en la capacitación a personal encargado de los programas de enfermedades transmitidas por vectores, la definición de protocolos estandarizados, dotación de materiales y reactivos, y la definición de las líneas base de susceptibilidad para diferentes clases de insecticidas usados para el control de malaria, este estudio permitió la creación de la red nacional de vigilancia de la resistencia a insecticidas para los vectores de malaria, que actualmente lidera el Instituto Nacional de Salud a través de la Red de Entomología.

Agradecimientos

A Luis Alberto Cortés, biólogo del Laboratorio Departamental de Bolívar y a los técnicos de saneamiento ambiental del municipio de Santa Rosa (Bolívar), por la colaboración en las colecciones de *A. albimanus*. Al subgrupo de control de vectores del Instituto Departamental de Salud de Norte de Santander por las recolecciones de *A. nuneztovari*. A la Red Amazónica de Vigilancia de la Resistencia de Antimaláricos - RAVREDA de la OPS/OMS, por hacer posible la participación de algunos autores en talleres y reuniones de discusión de una iniciativa similar para los países amazónicos. Este trabajo fue financiado por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología "Francisco José de Caldas" - COLCIENCIAS, proyecto No. 22290416444.

Literatura citada

- BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C. 1998. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time-mortality determinations in glass bottles. *Journal of the American Mosquito Control Association* 14 (2): 159-164.
- BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C.; CORWIN, A. M.; CORDON-ROSALES, C. 1999. Independent selection of multiple mechanisms for pyrethroid resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Economic Entomology* 92 (2): 298-302.
- FARAN, M.; LINTHICUM, K. J. 1981. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* 13: 1-81.
- FONSECA-GONZÁLEZ, I.; QUIÑONES, M.I.; MCALLISTER, J.; BROGDON, W. G. 2009. Mixed-function oxidases and

- esterases associated with cross-resistance between DDT and lambda-cyhalothrin in *Anopheles darlingi* Root, 1926 populations from Colombia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 104 (1): 18-26.
- GUILLET, P. 2006. Pyrethroid resistance in malaria vectors: Operational implications in Africa. Public Health, Bayer Environmental Science Journal 18: 16-23.
- LINTHICUM, K. J. 1988. A revision of the Argyritarsis Section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. Mosquito Systematics 20: 98-271.
- NAJERA, J. A.; ZAIM, M. 2002. Malaria vector control. Decision making criteria and procedures for judicious use of insecticides. World Health Organization. WHO/CDS/WHOPES/2002.5 Rev.1. 106 p.
- OLANO, V. A.; BROCHERO, H. L.; SAÉNZ, R.; QUIÑONES, M. L.; MOLINA, J. 2001. Mapas preliminares de la distribución de especies de *Anopheles* vectores de malaria en Colombia. Biomedica 21: 402-408.
- OMS. 1994. Una estrategia mundial para combatir el paludismo. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 44 p.
- QUIÑONES, M. L.; SUÁREZ, M. F.; FLEMING, G. A. 1987. Estado de la susceptibilidad al DDT de los principales vectores de la malaria en Colombia y su implicación epidemiológica. Biomedica 7: 81-86.
- QUIÑONES, M. L.; RUIZ, F.; CALLE, D.; HARBACH, R. E.; ERAZO, H. F.; LINTON, Y. M. 2006. Incrimination of *Anopheles (Nyssorhynchus) rangeli* and *An. (Nys.) oswaldoi* as natural vectors of *Plasmodium vivax* in Southern Colombia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 101 (6): 617-623.
- RUIZ, F.; QUIÑONES, M. L.; ERAZO, H. F.; CALLE, D. A.; ALZATE, J. F.; LINTON, Y. M. 2005. Molecular differentiation of *Anopheles (Nyssorhynchus) benarrochi* and *An. (N.) oswaldoi* in Southern Colombia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 100 (2): 155-160.
- SERVICE, M. W. 1976. Mosquito ecology - Field sampling methods. Applied Science Publishers Ltd., London. 583 p.
- SIVIGILA. 2007. Protocolo de Malaria. Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud. Malaria-2007_sivigila_INS, Bogotá. 21 p.
- SUÁREZ, M. F.; QUIÑONES, M. L.; PALACIOS, J. D.; CARRILLO, A. 1990. First record of DDT resistance in *Anopheles darlingi*. Journal of the American Mosquito Control Association 6: 72-74.
- VERSCHUEREN, C. 2006. Why effective insecticide resistance management is important? In Public Health Journal, Bayer Environmental Science 18: 5-7.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1975. Manual on practical entomology in Malaria. Part II. Methods and Techniques. Geneva. 87 p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1981. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. Technical Report Series No 737. Geneva. 87 p.
- ZAIM, M.; JAMBULINGAM, P. 2004. Global insecticide use for vector-borne disease control. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2004.9. 88 p.

Recibido: 4-may-2009 • Aceptado: 29-ene-2010