

Naturaleza y control de la quimiorresistencia en ectoparásitos

Carlos A Errecalde¹, MV Esp; Guillermo F Prieto¹, MV Esp; Carlos F Lüders¹, MV MS; Hugo García Ovando¹, MV.
¹Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria,
 Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta Nacional 36, Km 601 (5800) Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
 cerrecalde@ayv.unrc.edu.ar

(Recibido: 19 agosto, 2003; aceptado: 27 octubre, 2003)

Resumen

En la actualidad, con trascendencia e intensidad variable, la resistencia se extiende a todos los ectoparásitos combatidos y comprende a todos los compuestos químicos disponibles condicionando seriamente la efectividad. Es un fenómeno preadaptativo, heredable, originado de una mutación, por lo tanto su concepción es genética. La habilidad de supervivencia se difunde en una población determinada pues el principio activo excluye los individuos susceptibles, seleccionando en los sobrevivientes genes heredados por generaciones sucesivas. La resistencia se manifiesta por diferentes mecanismos, entre los cuales se destaca la penetración reducida, detoxificación incrementada o menor sensibilidad por el sitio blanco, no obstante ciertas características genéticas y biológicas del parásito que favorecen la expresión, son significativos los factores operacionales, inherentes al manejo del principio activo que favorecen la presión de selección, tales como el empleo de dosis elevadas, administraciones repetidas o de acción residual intrínseca, en consecuencia la prevención de la resistencia no sólo debe contemplar el monitoreo permanente de la susceptibilidad del parásito que se pretende controlar sino también es necesario adoptar medidas tendientes a reducir la presión de selección.

Palabras clave: control, ectoparásitos, insecticidas, resistencia.

Introducción

El uso de fármacos antiparasitarios externos comienza hace varias décadas, se expande en el transcurso de los años 40' luego de la incorporación de los insecticidas orgánicos, representados por los organoclorados DDT y ciclodienos, tal como indica la Tabla 1, reemplazando de inmediato a los compuestos inorgánicos, muy utilizados en el pasado (8). Desde entonces, habitualmente asignados a la aplicación agrícola y siempre que su efectividad y el perfil toxicológico lo permitan, luego de un período de transición los insecticidas son derivados para uso veterinario y control de vectores, producto de la elevada inversión económica que requiere el desarrollo y registro de nuevas sustancias (1, 37, 52).

Los insecticidas orgánicos introducidos progresivamente, actúan sobre una cantidad limitada de blancos, según indica la Tabla 2. En sus comienzos se destaca-

Tabla 1. Desarrollo cronológico de insecticidas.

Año	Principio activo
1690	Nicotina
1820	Piretrum
1940'	Hidrocarburos clorados: DDT y ciclodienos Organofosforados: parathión
1950'	Carbamatos: carbaril Organofosforados: malathión
1960'	Piretroides: resmetrina Formamidinas: clordimeform
1970'	Piretroides: permetrina, cipermetrina, deltametrina, etc. IGR: metoprene, diflubenzuron
1980'	Fenoxicarb, piriproxifen Lactonas macrocíclicas: abamectina, ivermectina, milbemicinas Ciromazina
1990'	Neonicotínicos: imidacloprid Fenilpirazoles: fipronil

Tabla 2. Sitios blanco de los insecticidas utilizados en Medicina Veterinaria.

Sitio blanco	Insecticidas
- Canal de Na ⁺	DDT, piretroides
- Canal de Cl ⁻	Lactonas macrocíclicas
- Acetilcolinesterasa	Organofosforados, carbamatos
- Octopamina	Amitraz
- Receptor GABA	Ciclodienos, fipronil
- Receptor nicotínico	Imidacloprid
- Hormona juvenil (JH)	Metoprene, fenoxicarb, piriproxifen
- Deposición de quitina	Diflubenzuron, lufenuron, fluazuron

ron por su efectividad en la terapéutica antiparasitaria, generando expectativas extremas que postergaron la adopción de métodos alternativos como los mecánicos o biológicos (24, 45). No obstante varias sustancias fueron relegadas, la euforia inicial súbitamente derivó en consecuencias indeseables, como los alarmantes efectos secundarios sobre el ecosistema causados por sustancias estables o poco selectivas, la posibilidad de biomagnificación, y sobre todo, por la expresión de resistencia a los químicos utilizados, en las especies que se pretendían eliminar (15, 23).

Concepto de resistencia

Similar a lo que sucede con otras formas de vida, en los ectoparásitos la resistencia adquirida constituye un mecanismo defensivo del parásito a nivel molecular. Se interpreta como una respuesta biológica evolutiva (12, 16, 43), pues significa la única oportunidad para sobrevivir frente a la presión química desplegada sobre generaciones sucesivas de una determinada especie, confiriéndoles la facultad de tolerar tratamientos que en condiciones normales eliminarían la mayoría de los individuos (38, 40, 53).

En la actualidad, con trascendencia e intensidad variable, la resistencia comprende todos los ectoparásitos combatidos (1, 53): en 1984 y 1992, fue documentada en 447 (43) y más de 500 (32) especies de artrópodos, respectivamente, y abarca todos los compuestos químicos disponibles, inclusive reguladores de crecimiento e insecticidas biológicos (1, 12, 28).

Imperceptible en sus comienzos, la expresión progresiva de cepas resistentes posibilita la emergencia

de enfermedades vectoriales (1, 52, 55), evoluciona hasta condicionar la lucha antiparasitaria (8), resigna el anhelo de erradicar por controlar (24, 28, 44), causa serios daños económicos (12, 43, 55) y deriva en consecuencias prácticas (12, 52): el usuario intenta superar la actuación poco satisfactoria del principio activo con el incremento de la dosis o la frecuencia de aplicación hasta rozar límites tóxicos y luego motiva el reemplazo de grupos químicos (32).

La resistencia es preadaptativa (32), heredable, gestada mediante una mutación (36, 56), por lo tanto su concepción es *genética* (21, 28, 51). Cuando comienza a evolucionar, se estima que la frecuencia de alelos resistentes en una población es del orden de 10^{-2} a 10^{-13} (43). La habilidad de supervivencia se difunde en una población determinada pues el principio activo excluye los individuos susceptibles, seleccionando en los sobrevivientes genes heredados por generaciones sucesivas (20, 28, 31).

Los individuos sobrevivientes, en principio heterocigotos, aunque incluidos homocigotos a medida que progresa la selección, refleja la frecuencia de genes que codifican mecanismos particulares de resistencia y en consecuencia, la expresan en su descendencia (28, 36, 43). Ciertas características genéticas influyen la manifestación, tales como frecuencia inicial y cantidad de alelos resistentes involucrados, dominancia y expresividad (grado de expresión de un carácter controlado por un gen), interacciones con otros loci, selección pretérita por otras sustancias y ventaja o desventaja adaptativa de los individuos resistentes, que presentan la característica de "*fitness*" o costo adaptativo: son menos aptos que los susceptibles cuando el producto químico no se utiliza. Esta particularidad se asocia con reducción en la viabilidad total, fecundidad y competitividad o mayor susceptibilidad a los enemigos naturales, etc. (43).

La presión química puede ser favorecida por factores *operacionales*, inherentes al manejo del principio activo, más significativos que la distribución de alelos (22), tales como la administración de dosis elevadas (12, 24, 50), compuestos químicamente próximos o con similar modo de acción, frecuencia de tratamientos, acción residual intrínseca, y por la formulación farmacéutica, por ejemplo caravanas auriculares, método pour on o bolos que determinan la liberación prolongada del insecticida en el rumen (12, 18, 27). La mayor presión química resultante se

considera irracional: además de la eventual contaminación del ambiente (23, 32), conduce al aumento de residuos en los alimentos, situación que finalmente constituye un obstáculo para el comercio internacional (28, 35, 52).

Asimismo, gravitan características *biológicas* relativas a la especie parasitaria en cuestión, como potencial reproductivo, ciclo evolutivo demasiado breve que entraña pronta sucesión de generaciones, alta movilidad y cantidad de huéspedes (12, 20, 45).

La resistencia difiere -y no debe confundirse- con tolerancia, que consiste en una reacción individual no heredable, mediante la cual un parásito se torna transitoriamente más ó menos sensible a un fármaco, como desenlace de una exposición continua a dosis subletales (32). Cuando se aplican dosis letales sobre una población, la tolerancia es imposible.

Clasificación

Los insectos disponen de un pool genético rico en alternativas que posibilita el desarrollo de resistencia a las diversas herramientas de control químico, de modo que la expresión aunque manejable, es temporalmente ineludible (12, 21, 37). Asimismo, es un proceso dinámico, manifestado en períodos de tiempos muy variables, en especies diferentes y aún dentro de la misma especie sometida a distinta intensidad de aplicación de insecticidas, por lo tanto la expresión no es universal (1, 28, 44).

La resistencia cruzada comprende sustancias del mismo o de distintos grupos químicos, mediante la exposición a otro compuesto que comparte con el primero el modo de acción o el destino metabólico (12, 28, 32), por ejemplo, esterasas involucradas en la resistencia a compuestos organofosforados y también pueden contribuir a la resistencia a los carbamatos y algunos piretroides (1, 40). Cuando participan mecanismos diferentes implicando varias sustancias se denomina múltiple (32, 40, 51), aún cuando el parásito en cuestión tal vez nunca estuvo expuesto e inclusive el fármaco no fue utilizado (12).

Mecanismos de resistencia

Los cambios genéticos que confieren resistencia "fisiológica", representada en la figura 1, se traducen

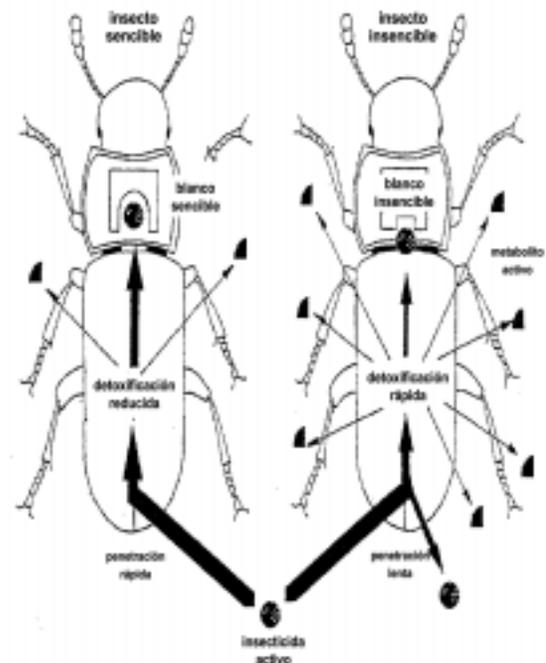


Figura 1. Representación esquemática de los mecanismos de resistencia fisiológica a insecticidas (23).

en modificaciones bioquímicas que redundan en efectos insuficientes del fármaco, relacionados con la toxicocinética del principio activo, tales como penetración reducida o metabolismo incrementado y la toxicodinamia, mediante menor sensibilidad en el sitio blanco, alteraciones que permiten a la población soportar dosis anteriormente letales (31, 41, 44).

Penetración reducida

La disminución en la penetración a través de la cutícula es posible con varios compuestos químicos (11, 40, 44). El proceso está relacionado con el gen *pen*, que retrasa el "efecto volteo" (40), atañe esencialmente a insectos, aunque se comprobó en *B. microplus* (20, 36, 37) y, si bien extendido, es poco destacado, excepto cuando fortalece mecanismos asociados, particularmente en artrópodos (20, 26, 36). En la mosca doméstica el ritmo de penetración decrece entre 2 y 5 veces (40), mientras que en artrópodos la diferencia se estima en un rango de 1.3 a 2 veces (36).

Incremento en la detoxificación

El ectoparásito intensifica el metabolismo del fármaco mediante reacciones de hidrólisis, oxidación,

reducción y conjugación, que difieren en importancia relativa según la especie y el compuesto involucrado (26, 44). Más relevante en dípteros que ácaros (20), este proceso es el más frecuente (40, 44), desempeña un rol significativo en la resistencia a organoclorados, organofosforados, carbamatos (50) y avermectinas (11). El mecanismo también prevalece en los piretroides sintéticos de primera generación, a través de los genes *py-ses* y *py-ex*, mientras que es secundario en aquellos de segunda generación (50). El objetivo es limitar la actividad del fármaco y/o transformar substratos liposolubles en hidrosolubles, promoviendo su excreción, de modo que en el interior del parásito permanece menor cantidad disponible para interactuar en el sitio blanco (13, 23, 40). La detoxificación incrementada se concreta mediante diversos sistemas enzimáticos inespecíficos: oxidasas de función mixta (OFM), hidrolasas (esterasas, carboxiesterasas) y S-transferasas del glutatión (23).

1. Las oxidasas se encuentran presentes en todos los insectos, aunque habitualmente en cantidades insuficientes para contribuir a la resistencia. No obstante, constituyen una reserva y su actividad puede intensificarse por otros insecticidas o xenobióticos en el medio ambiente, elevando la protección hacia el insecto (5, 16, 47). El rol de las OFM se ha correlacionado entre las concentraciones enzimáticas y la susceptibilidad (16, 47, 48), sin embargo la resistencia puede aumentar 1000 veces mientras la actividad de OFM sólo se multiplica entre 2 y 60 veces: en presencia de organofosforados que requieren metabolización previa, la actividad reducida de OFM puede constituir un modo de resistencia (47).

2. Esterasas, encontradas al azar en la población, se identificaron dos sitios, est a y est b (1, 25), subclasificados en *est a1*, *est a2* implicados en la resistencia (24): la comparación del acoplamiento de varios organofosforados a esterasas es hasta 1000 veces superior en cepas resistentes respecto a las susceptibles (24). La clonación de genes que codifican una esterasa en particular permitió comprobar en insectos resistentes un mecanismo de amplificación genética (13, 24, 32), que respecto a individuos susceptibles alcanzan al menos 250 copias del gen específico, que ilustra la cuantía de este proceso como mecanismo de supervivencia (13, 32, 38), inclusive comprobado en mamíferos, por ejemplo es habitual la sobreexpresión de dehidrofolato reductasa en individuos enfermos de cáncer medicados con metotrexato (13).

Elevados niveles de esterasas no relacionados con modificaciones génicas pueden resultar por la expresión incrementada de *est a1*, comprobado en cepas de mosquitos debido a elementos regulatorios desconocidos, reflejado en aumento del ARNm (24, 32). Asimismo, se describe al “secuestro o efecto esponja” del principio activo, como eventual mecanismo de resistencia debido que el fármaco es protegido por procesos físico-químicos, evitando el contacto con el sitio blanco (13, 23, 32).

3. Hidrolasas, esterasas y transferasas, dependientes del glutatión, hidrolasas fosfortriestéricas y las S-transferasas del glutatión (STGs), conforman mecanismos determinantes de resistencia en ciertas especies (5, 23, 24). Se relacionan con el metabolismo de insecticidas organoclorados, en cambio tendrían importancia secundaria en organofosforados (49), aunque participan de la resistencia cruzada y múltiple.

Sensibilidad reducida en los sitios blanco

1. Insensibilidad en el sistema nervioso: este mecanismo implica alteraciones en el canal Na^+ neuronal (2, 3, 56). Se relaciona con el gen *kdr*; knock down resistance (32, 51, 56), que reúne las siguientes características: 1) resistencia cruzada entre DDT y piretroides; 2) no modificación en el ritmo de ingreso o detoxificación; 3) ineficacia de sinergizantes que bloquean vías metabólicas; 4) genéticamente recesivo (3, 23, 44) y 5) reducción de la sensibilidad en preparados de tejido nervioso (3).

Identificado en insectos y reconocido en artrópodos (2, 50), por su carácter recesivo el gen *kdr* sólo brinda protección limitada a heterocigotos, por lo tanto la selección es lenta (41, 50). La afinidad del fármaco por el receptor esta inalterada, sin embargo la cantidad acoplada al receptor es inferior, aunque también se describe menor densidad (2, 3, 56) e inclusive inexistencia de receptores funcionales (54). Por medios desconocidos, el gen puede expresarse con mayor actividad, denominado super *kdr* (2, 34, 50), que en la mosca doméstica determina resistencia 500-600 veces superior hacia deltametrina (24, 50, 56).

El gen *kdr* no se extiende a organofosforados o carbamatos (3) pero confiere resistencia universal a sustancias que modifican canales de Na^+ (2, 3, 56): compromete a DDT y análogos, a todos los piretroides tipos I y II (3, 34, 56), aún difieren en el sitio y modo

neurofisiológico de acción, detalle trascendente en el desarrollo de nuevos piretroides (2, 3, 56). Con estos fármacos se postulan dos mecanismos de insensibilidad: el primero es asociado con canales sódicos y el segundo con alteración en la fosforilación de proteínas y regulación del calcio intracelular, ambos implicados en la liberación de neurotransmisores (39, 56). La resistencia por insensibilidad también comprende a ciclodienos, en relación con modificaciones en el receptor gabaérgico (3), inclusive se demostró resistencia cruzada entre ciclodienos y fipronil (4, 24), fármacos que comparten el modo de acción al interactuar con el ionóforo asociado al GABA (23, 24).

2. Menor actividad de acetilcolinesterasa: este mecanismo se relaciona con modificaciones en la enzima, en presencia de los compuestos inhibidores, organofosforados y carbamatos (20, 36, 37). Compromete numerosos artrópodos (20, 40) y habitualmente es determinado por mutaciones simples que abarcan entre uno y tres aminoácidos (12, 19, 25). Sin embargo, en el gen *Ace* se identificaron cinco puntos de mutación (33). En mamíferos e insectos sometidos a intensa presión selectiva, se comprobó la elaboración de isoenzimas diferentes a la acetilcolinesterasa, menos susceptibles a la inhibición por organofosforados o carbamatos (51).

Resistencia “no fisiológica”

Se reconoce una modalidad menos habitual, denominada resistencia comportamental o no fisiológica, no vinculada con el ingreso o la acumulación química, sino referida a modificaciones en la conducta del insecto o parásito inducida en el momento que toma relación con el químico (23, 32, 51). El mecanismo se demostró en insectos (20, 36, 40) y garrapatas (20), pero es poco relevante en los artrópodos (20, 31, 37). Se relaciona con la administración de compuestos irritantes o repelentes, como los piretroides (20, 40) insinuando la participación de estructuras sensoriales del insecto (23), que determinan inmovilidad o incremento en la movilidad, impulsando el desplazamiento hacia territorios del animal libres de insecticidas, tal como se comprobó con la mosca *Haematobia irritans* tras la aplicación de piretroides sintéticos (12, 18, 23).

Profilaxis y control

El siglo XXI impone mercados agropecuarios cada vez más especializados, regionales y competitivos, en

momentos en que varios países enfrentan profundas crisis socioeconómicas. En este contexto, apremia la necesidad de involucrar a todos los actores, gobiernos, industria farmacéutica, organizaciones privadas e internacionales en la elaboración de un programa de apoyo al conocimiento e intercambio de información del control parasitario en general y del manejo de la resistencia en particular (35, 52, 55).

La complejidad de la resistencia requiere el esfuerzo conjunto de ganaderos, industrias químicas, profesionales e investigadores, que deben generar políticas coordinadas y ejecutadas por los entes responsables del control y el Estado (1, 35, 52), que estimulen la aplicación de estrategias globales menos químico dependientes, fundadas en resultados provenientes de la investigación aplicada y especialmente de la validación local de nuevas tácticas que consideren al antiparasitario como una herramienta más de un programa de control (35).

En el ámbito regional y nacional es conveniente contar con profesionales especializados que manejen los fundamentos del control parasitario y de la resistencia, mientras el Estado debe regular el uso de antiparasitarios (12, 35), no sólo en cuanto al registro de sustancias luego de comprobar la efectividad e inocuidad en animales, la salud pública y el medio ambiente, sino también realizar controles de calidad, con el propósito de evitar adulteraciones, comercialización de drogas por debajo del estándar, aplicación en animales de compuestos de uso agrícola, preparaciones “artesanales” o asociaciones de dudosa estabilidad e inocuidad (35), dado que la tecnología química se ha desarrollado más rápido que las estructuras requeridas para un control adecuado.

La industria farmacéutica incorporó novedosos métodos de aplicación: pour on, spot on, caravanas auriculares, etc, tendientes a simplificar tratamientos e impedir la reinfestación parasitaria, aunque el abuso de estas alternativas facilitó la expresión de resistencia (29). Es claro que si la tecnología no química disponible no reemplaza íntegramente a los fármacos, el desafío más importante es el desarrollo de nuevas sustancias con acciones en sitios blancos alternativos, aunque la realidad es comprometida: el progreso de la resistencia coexiste con el lento desarrollo de nuevas fármacos para superar el problema (23, 28, 32), puesto que la industria farmacéutica decreció el ritmo de desarrollo de nuevos principios activos, por lo tanto no existe la

posibilidad de reemplazo inmediato con nuevas sustancias con diferentes modos de acción (7, 12, 23), que además, no invalidan la resistencia metabólica (43).

Cuando la resistencia se expresa en una población, no existe recurso alguno que permita regresar a la sensibilidad original (37). No obstante, cuando una sustancia no es utilizada por un determinado tiempo, el restablecimiento de la susceptibilidad puede concretarse por el costo adaptativo, a un ritmo condicionado por varios factores: especie parasitaria, producto químico, mecanismo de resistencia e inclusive, la inmigración de individuos susceptibles provenientes de áreas no tratadas puede contribuir a "diluir" la resistencia (43).

Asumiendo que la resistencia adquirida no es una enfermedad sino una respuesta inevitable de naturaleza polifactorial (12, 21, 37), habitual en el campo agrícola, veterinario y de salud pública (52), es prudente considerar acciones estratégicas mediante la interacción con factores operacionales, tendientes a retrasar o prevenir su manifestación y por ende, ampliar la vida útil de los antiparasitarios (12, 28, 45). Estas acciones deben ser suficientemente flexibles según cada situación, puesto que los recursos disponibles son limitados (1, 12, 52). Las estrategias recomendadas consisten en:

Monitoreo de la susceptibilidad

Es fundamental revisar en forma periódica la quimiosusceptibilidad, con el propósito de detectar prematuramente cepas resistentes, en particular cuando se emprenden campañas de lucha (1, 28, 46). El control de la susceptibilidad es la mejor defensa: la detección temprana permite planificar la estrategia, por ejemplo, aplicar de inmediato un insecticida alternativo sobre la población mutante y desactivar la selección y difusión (7, 32, 46), si bien existen modelos predictivos de la evolución de la resistencia en una población, su aplicación es delicada por la dificultad práctica para estimar frecuencias génicas en condiciones de campo (24).

Ante la manifestación de resistencia, es necesario examinar la naturaleza del mecanismo involucrado. Esta información es crucial para seleccionar un principio activo (38) y provee pautas para el manejo racional de la resistencia (23). Es conveniente establecer la sensibilidad aún cuando se fracasa, para dilucidar las causas (1) aunque, obviamente es imposible predecir un mecanismo cuando aún la resistencia no

se expresó e incluso anticipar la resistencia a un principio activo (28). Asimismo, es preciso obrar con cautela, puesto que la susceptibilidad frente a una cepa determinada obtenida en un país e incluso regional, no es una condición extrapolable (28).

La detección, clasificación y determinación de la estabilidad de la resistencia en condiciones de campo e inclusive su vigilancia, se debe realizar mediante métodos normalizados, desarrollados para establecer la resistencia a los antiparasitarios clásicos (1, 5, 35). La técnica más utilizada es la de dosis-respuesta (1, 7) que consiste en valorar la supervivencia del 20% o más de la población expuesta *in vitro*, mediante la exposición del parásito a superficies tratadas o por la aplicación tópica de cantidades conocidas de la sustancia valorada en el tórax del parásito (5, 6), con el propósito de establecer la concentración de la droga elegida que elimina el 50% de la población (CL_{50}) en cuestión frente a la CL_{50} de la misma droga respecto a una cepa patrón, de sensibilidad reconocida. El cociente obtenido expresa el grado de susceptibilidad respecto a la cepa patrón, que si resulta superior a 1 se indica «factor de resistencia» (21, 40).

Los ensayos biológicos son correlativos con el nivel de resistencia (1), si bien existe variabilidad natural (6, 42), suelen complementarse con ensayos bioquímicos que aunque certeros (1, 5, 46), brindan información sobre una cantidad limitada de individuos (1). Consisten en determinaciones enzimáticas realizadas con triturados de parásitos que permiten la cuantificación enzimática de los procesos metabólicos (5, 31), por lo tanto son útiles especialmente cuando fue establecida la enzima metabólica responsable de la resistencia (5), en cambio carecen de beneficios cuando el motivo es insensibilidad en el blanco (1).

Indudablemente, las técnicas moleculares que permiten la identificación de los alelos involucrados representan un avance significativo (5, 24, 32). Las líneas actuales de investigación tienen el propósito de desarrollar técnicas para detectar cambios en el ADN de parásitos que codifiquen cambios en el sitio blanco. Estas técnicas, que reemplazarán a las actuales en un lapso de 10 años, ofrecen varias ventajas: procesado rápido, no requieren parásitos vivos, la muestra problema puede congelarse, conservar en alcohol o seca, se puede emplear en cualquier estadio del ciclo evolutivo y no demandan cepas susceptibles de referencia (7).

Manejo del principio activo

Los antiparasitarios externos son recursos no renovables, por lo que extender su “vida útil” conservando la susceptibilidad es una necesidad impostergable para el ganadero, estado y la industria farmacéutica (28, 35, 52). Por ejemplo, en Argentina la utilidad de los ixodicidas se extiende de 12 a 15 años y siempre hubo nuevas sustancias para suceder al grupo químico «agotado» por la selección de garrapatas resistentes (7).

En consecuencia, surge la necesidad imperiosa de «preservar» los principios activos, particularmente por la posibilidad de inducir resistencia cruzada (7). Ante la manifestación de resistencia a un compuesto determinado (Ej.: cipermetrina), es indispensable excluir todo el grupo piretroides y utilizar químicos diferentes, de modo de impedir la resistencia cruzada (12, 18, 31).

Las sustancias con acción residual breve seleccionan lentamente individuos resistentes (20), mientras que la extensa residualidad intrínseca favorece la selección de cepas resistentes (12, 20, 28) por lo tanto, sólo se recomiendan para control de parásitos por períodos cortos de tiempo (31).

Rotación de principios activos

Una alternativa para postergar el desarrollo de resistencia es la rotación de compuestos antiparasitarios, siempre que no exhiban resistencia cruzada (12, 38, 44), evitando el uso de sustancias del mismo grupo: cuando dos principios activos (A y B) se utilizan en forma secuencial, el nivel de resistencia al compuesto A disminuirá mientras se aplica el compuesto B (12, 28). Al finalizar la estación, es oportuno utilizar un insecticida alternativo, con diferente modo de acción (31).

La alternativa de rotación de químicos asume válido el costo adaptativo (43). Si bien al interrumpir la aplicación se reduce la frecuencia de genes resistentes no es posible la reversión completa de una población resistente a una susceptible, aunque subyace la posibilidad de resistencia cruzada «negativa» (12), por ejemplo, en *H. irritans* resistente a piretroides por mayor metabolismo oxidativo, éste mecanismo incrementa la susceptibilidad a diazinon, al generar mayor cantidad de diozoxón, metabolito activo de diazinon (9).

Asociación de compuestos

El uso simultáneo de grupos químicos con diferente modo de acción se sustenta en que el mecanismo de resistencia diferirá entre los compuestos y que uno de ellos presentará determinada frecuencia, de modo que es poco probable la expresión simultánea de ambos mecanismos en el mismo ejemplar (12, 38, 44).

El potencial de las asociaciones requiere: 1) no debe preexistir resistencia a los componentes de la asociación (28), 2) los insecticidas deben ser compatibles en la mezcla y poseer persistencia similar (12, 28, 31) y, 3) cada componente de la mezcla debe actuar por mecanismos diferentes y además, diferir en el mecanismo de resistencia (28, 31, 56).

Cuando el mecanismo de resistencia corresponde a mayor biotransformación, es correcto el empleo simultáneo de sinergistas que inhiben sistemas enzimáticos específicos (16, 28, 41). El inhibidor de OFM, piperonil butóxido (PBO), se utiliza extensamente con piretroides (29, 36, 50), carbaril (23, 37), algunos fosforados (23, 41) y *d*-limonene (11), en tanto es antagonista de formamidinas y de los organofosforados que requieren activación (37). El PBO ofrece dificultades en la formulación farmacéutica: la relación acarida / PBO debe ser 10:1 y además es inestable a la luz ultravioleta, en consecuencia es poco útil en aplicaciones al aire libre (37).

El empleo de inhibidores enzimáticos incrementa la potencia de los principios activos y por ende, la eficacia antiparasitaria, reduce la toxicidad al huésped y el impacto ecológico al emplear dosis inferiores y además, posibilita detectar la resistencia metabólica (26), aunque obviamente, los sinergistas no suprimen la resistencia por insensibilidad en el sitio blanco (50) y la eficacia está sujeta al sistema de detoxificación involucrado: el PBO es útil sólo cuando prevalecen las vías oxidativas (16, 41).

Los fosforados y piretroides son sinérgicos en presencia de hidrolasas o esterasas. Los piretroides sinergizan a los organofosforados clorfenvinphos y ethión (20, 28, 37). Aparentemente éstos, incrementan la potencia y prolongan la actividad de los piretroides (27, 36, 53). La combinación piretroides y formamidinas es sinérgica frente a *H. irritans*, aunque amitraz es menos efectivo (30).

Modo de aplicación

Es recomendable optimizar algún método de administración, de modo de espaciar los tratamientos en el tiempo (12, 27, 28), realizando aplicaciones puntuales, evitando la administración continua de manera tal se permita la reproducción y repoblación, sin ejercer una presión química demasiado intensa, compatible económicamente (7, 28, 44). Obviamente, el umbral económico difiere con el parásito involucrado y la categoría animal (28). Por ejemplo, el empleo de autoaplicadores mediante sacos impregnados con polvos insecticidas o el método spray permiten mantener la población de moscas en un nivel tolerable (28, 31). La efectividad individual del compuesto utilizado debe ser máxima, aplicando tratamientos puntuales en el pico de parasitismo (28), procurando optimizar algún método de aplicación, de modo de espaciar los tratamientos (31, 37) evitando la exposición continua que supone un riesgo potencial ya que implica un contacto prolongado (12). Asimismo, la aplicación debe limitarse a los categorías animales más expuestas al parásito, sólo en casos debidamente justificados y en los períodos de mayor incidencia parasitaria (28, 31).

No es recomendable el empleo de caravanas auriculares impregnadas con insecticidas el pico de parasitismo (31). Con las caravanas, la pendiente de concentración decrece con el tiempo y provee concentraciones sub-óptimas, que pueden favorecer la selección de heterocigotos (28, 37). En cambio, los niveles generados por los bolos orales y la aplicación subcutánea son más uniformes y selectivos, aunque plantean el problema de la resistencia (28).

Manejo de la dosis

Es conveniente evitar la sobredosificación (44), si bien en determinadas circunstancias se aconseja aplicar altas o bajas dosis del principio activo para restringir la expresión de resistencia (28). En presencia de niveles bajos, el incremento transitorio de la concentración del principio activo brinda un efectivo método de control (37).

Cuando los genes implicados son poco habituales las dosis bajas posiblemente no eliminen por completo la población susceptible, lo que perpetuará la susceptibilidad de la población, en cambio las dosis elevadas se deberían emplear sólo para eliminar ejemplares resistentes heterocigotos, en tratamientos de corto plazo

(28). Si bien se aconseja evitar la subdosificación (20, 31), este argumento es polémico, de todos modos la estrategia que se debe implementar depende de la naturaleza de la resistencia (37).

Control integrado

Es conveniente que la estrategia global contemple el control integrado de parásitos con el propósito de contrarrestar los efectos producidos por la resistencia a los antiparasitarios manteniendo niveles aceptables de producción, mediante la combinación de alternativas físico-químicas con el manejo (35, 43, 44).

Si bien el empleo mínimo de drogas en dosis efectivas y en épocas claves es una premisa fundamental en el control integrado (36, 38), de ningún modo excluye medidas orientadas a reducir la dependencia química, fundamentadas en el conocimiento legítimo del parásito o insecto problema (28), tales como colocar trampas para dípteros (36) o introducir cruza de ganado resistente a garrapatas (7) o eventualmente, suministrar en forma simultánea fármacos adulticidas con insecticidas de tercera generación, con el propósito de impedir la reinfestación; por ejemplo, diflubenzurón al 10% aplicado en bolos ruminales de liberación lenta reduce la emergencia de adultos de *H. irritans* en la materia fecal de bovinos durante 10 semanas (17). Estos fármacos se incorporaron como alternativos frente a los insecticidas tradicionales, bajo el supuesto que no desarrollarían resistencia. Esta presunción carece de sustento (14), puesto que fue documentada por mayor detoxificación y penetración reducida (25), inclusive se diagnosticó resistencia cruzada entre diflubenzurón y ciromazina, posiblemente por alteraciones en el sitio de acción, advirtiendo la necesidad de preservar estos recursos (26). Es necesario recordar que tras la introducción de piretroides también se postuló la no manifestación de resistencia debido a la acción inmediata (1).

Consideraciones finales

Es trascendente que sustituciones mínimas en genes que codifican receptores de los principales sitios blancos de los químicos: *para* en canales de Na^+ , *Rdl* en GABA, y *Ace* en acetilcolinesterasa, lo que revela procedimientos de conservación extrema (8, 19) e insinúan que la problemática aún puede ser adquirir suma complejidad. Inclusive, se alude a la recombinación intragénica entre alelos preexistentes como mecanismo adaptativo rápido

en cepas sometidas a intensa presión de selección, con derivaciones prácticas impredecibles pues incrementa notablemente el número y la frecuencia de alelos resistentes (33).

En este contexto, es tangible la importancia de los factores operacionales -los únicos susceptibles de modificar (8)- como determinantes de la presión de selección y la necesidad de accionar con premura y cautela cuando la resistencia se expresa, de manera tal que no se agrave la situación, por ejemplo, la saturación de los mecanismos metabólicos «defensivos» usuales, determina una selección tal que prevalece el mecanismo de insensibilidad, considerablemente más eficiente.

Es posible que el mejor interpretación de la fisiología de los ectoparásitos aporte sitios blancos

alternativos y permita explotarlos con nuevos fármacos, provistos de mayor selectividad (55), que deben adecuarse a las normas preventivas de la resistencia, avalados con estudios farmacocinéticos para evitar nuevamente una presión de selección intensa. De todos modos, el desarrollo de fármacos es complejo, lento y oneroso, sólo algunas sustancias logran transitar con éxito el extenso camino desde los ensayos iniciales en el laboratorio hasta los estudios clínicos y la utilización general: el destino de cada nuevo agente esta fuertemente sujeto, no sólo a su eficacia sino también a su inocuidad, por lo tanto se desprende que es imprescindible optimizar la efectividad de los tratamientos en cada oportunidad, sin afectar el medio ambiente (28, 44, 55), además, la incorporación de nuevos blancos, si bien es saludable, de modo alguno invalida la resistencia por detoxificación (43),

Summary

Nature and control of ectoparasite chemoresistance

At the present time, with variable importance and intensity, the resistance extends to all the fought ectoparasites and includes all chemical compounds available, conditioning seriously its effectiveness. It is an preadaptive, inheritable phenomenon, originated from a mutation, with a genetic conception. The survival ability spreads in a certain population because the active principle excludes the susceptible individuals, selecting in the surviving ones, genes inherited by successive generations. The resistance is pronounced by different mechanism; between them, the reduced penetration stands out, increased detoxification or smaller sensitivity by the target site, despite certain genetic and biological characteristics of the parasite that favors the expression, the operational and inherent factors are significant to the handling of the active principle which favors the selection pressure, such as the use of elevated doses, repeated administrations or of intrinsic residual action, consequently the prevention of the resistance must contemplate permanent monitoring of the susceptibility of the parasite to be controlled, and, if necessary, measuring to reduce the selection pressure.

Key words: *control, ectoparasites, insecticide, resistance.*

Referencias

1. Brogdon G, McAllister J. Insecticide resistance and vector control. *Emerg Infec Dis*, 1998; 4 (4): 605-613.
2. Bloomquist J. Toxicology, mode of action and target site mediated resistance to insecticides acting on chloride channels. *Comp Biochem Physiol*, 1993; 106 C (2): 301-314.
3. Bloomquist J. Neuroreceptor mechanisms in pyrethroid mode of action and resistance. *Rev Pest Toxicol*, 1993; 2: 185-230.
4. Bloomquist J. Ion channels as targets for insecticides. *Annu Rev Entomol*, 1996; 41: 163-190.
5. Brown T, Brogdon T. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann Rev Entomol*, 1987; 32: 145-162.
6. Burg J, Cilek J, Knapp F. Variability of glass and filter paper insecticide-treated surfaces used to determine horn fly (Diptera: Muscidae) insecticide resistance. *J Econ Entomol*, 1995; 88 (3): 654-658.
7. Caracostantogolo J. Resistencia a garrapaticidas. Reunión de Especialistas en Parasitología Veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. Tandil, Argentina, 2002; 22-24 mayo.

8. Casida J, Quistad G. Golden age of insecticide research: past, present or future? *Annu Rev Entomol*, 1998; 43: 1-16.
9. Cilek J, Dahlan D, Knapp F. Possible mechanism of diazinon negative cross-resistance in pyrethroid-resistant horn flies (Diptera: Muscidae). *J Econ Entomol*, 1995; 88 (3): 520-524.
10. Clark J, Scott J, Campos F, Bloomquist J. Resistance to avermectins: extent, mechanisms and management implications. *Ann Rev Entomol*, 1994; 40: 1-30.
11. Coats J, Karr L, Drewes C. Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids. En *Naturally Occurring Pest Bioregulators*, Hedin P (ed), ACS, Washington, 1991. 305-316
12. Denholm I, Rowland M. Tactics for managing pesticide resistance in arthropods: theory and practice. *Ann Rev Entomol*, 1992; 37:91-112.
13. Devonshire A, Field L. Gene amplification and insecticide resistance. *Annu Rev Entomol*, 1991; 36:1-23.
14. Dhadialla T, Carlson G, Le D. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu Rev Entomol*, 1998; 43: 545-569.
15. Elliott M, Janes F, Potter C. The future of pyrethroids in insect control. *Ann Res Entomol*, 1978; 21: 443-469.
16. Feyereisen R. Insect P450 enzymes. *Ann Rev Entomol*, 1999; 44: 507-533.
17. Flores S, Anziani O, Guglielmone A, Kunz S, Volpogni M. Bolos ruminales conteniendo diflubenzuron para el control de la *Haematobia irritans* en vacas lecheras. *Proc VII Cong Arg Cs Vet*, Buenos Aires, Argentina, 1994; 8-11 noviembre: 323.
18. Franc M. La lutte chimique contre les mouches responsables de nuisances chez le bétail. *Les Entretiens de Bourgelat. Ecole Vet Lyon*, 1986; 223-235.
19. Ffrench-Constant R, Pittendrigh B, Vaughan A, Anthony N. Why are there so few resistance-associated mutations in insecticide target genes? *Phil Trans R Soc Lond*, 1998; B 353: 1685-1693.
20. Gevrey J. Resistance aux insecticides et acaricides. *Rev Méd Vét*, 1988; 139 (1): 27-33.
21. Grillo Torrado J. El problema de resistencia a los acaricidas en los programas de control de garrapata. *Bol OPS*, 1976; 81 (3): 246-251.
22. Groettters F, Tabashnik B. Roles of selection intensity, mayor genes, and minor genes in evolution of insecticide resistance. *J Econ Entomol*, 2000; 96 (6): 1580-1587.
23. Haubruge E, Amichot M. Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnol Agronm Environ*, 1998; 2 (3): 161-174.
24. Hemingway J, Ranson H. Insecticide resistance in vectors of human disease. *Ann Vet Entomol*, 2000; 45: 371-391.
25. Ishaaya I. Insect resistance to benzoylphenylureas and other insect growth regulators. *Symp Molecular mechanism of insecticide resistance*, Mullin C, Scott J (ed), ACS, 1992; 231-246.
26. Ishaaya I. Insect detoxifying enzymes: their importance in pesticide synergism and resistance. *Arch Insect Biochem Physiol*, 1993; 22: 263-276
27. Jonsson N, Mayer D, Green P. Possible risk factors on Queensland dairy farms for acaricide resistance in cattle ticks (*Boophilus microplus*). *Vet Parasitol*, 2000; 88: 79-82.
28. Kunz S, Kemp D. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 1994; 13 (4): 1249-1286.
29. Levot G. Resistance and the control of lice on humans and production animals. *Int J Parasitol*, 2000; 30: 291-297.
30. Liu M, Plapp F. Formamidines as synergist of cypermethrin in susceptible and pyrethroid resistant house flies (Diptera: Muscidae). *J Econ Entomol*, 1990; 63 (6): 2181-2186.
31. Losson B. Traitements insecticides et acaricides: progrès récents et mise au point sur la problématique des résistances. *Ann Méd Vét*, 1997; 141: 71-75.
32. Mullin CA, Scott JF. Molecular mechanisms of insecticide resistance. *ACS Symposium Series, Fourth Chemical Cong of North America Chemical Society, NY, USA*, 1992; august 25-30.
33. Mutero A, Pralavorio M, Bride J-M, Fournier D. Resistance-associated point mutations in insecticide-insensitive acetylcholinesterase. *Proc Natl Acad Sc*, 1994; 91: 5922-5926.
34. Narahashi T. Neuroreceptor ions channel as the basis for drug action: past, present, and future. *J Pharm Exp & Therap*, 2000; 294 (1): 1-26.
35. Nari A, Eddi C. Control integrado de las parasitosis. *Reunión de Especialistas en Parasitología Veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. Tandil, Argentina*, 2002; 22-24 mayo.

36. Nolan J. Mechanisms of resistance to chemical in arthropod parasites of veterinary importance. *Vet Parasitol*, 1985; 18: 155-166.
37. Nolan J, Schnitzerling H. Drug resistance in arthropod parasites. En *Chemotherapy of Parasitic Diseases*, Campbell W, Rew R, Plenum Publ Corp, NY, 1986. 603-620.
38. Nolan J. New approaches in the development and management of drugs used in ectoparasite control. *Vet Parasitol*, 1987; 25: 135-145.
39. Osborne M, Pepper D, Hein P, Clark J. Site-insensitive mechanisms in knockdown-resistant strains of house fly larva, *Musca domestica*. 207th Nat Meeting ACS, San Diego, California, 1994; 13-17 march.
40. Picollo M. Mecanismos bioquímicos y fisiológicos de resistencia. *Memorias Taller Resistencia a insecticidas: un problema ecotoxicológico*. La Pampa, Argentina, 1992; 11-12 de junio: 6-20.
41. Plapp F. On the molecular biology of insecticide resistance. En *Biochemical Toxicology of Insecticides*, O'Brien R, Yamamoto I, Academic Press, NY, 1970. 179-192.
42. Robertson J, Preisler H, Ng S, Hickie L, Gelernter W. Natural variation: a complications factors in bioassays with chemical and microbial pesticides. *J Econ Entomol*, 1995; 88 (1): 1-10.
43. Roush R, McKenzie J. Ecological genetics of insecticide resistance. *Ann Rev Entomol*, 1987; 32: 361-380.
44. Roush R. Occurrence, genetics and management of insecticide resistance. *Parasitology Today*, 1993; 9 (5): 174-179.
45. Rust M. Insecticide resistance in fleas. *Proc Int Symp Ectoparasites Pest*, Lexington, Univ KY Press, 1993; 18-26.
46. Sawicki R. Definition, detection and documentation of insecticide resistance. En *Combating resistance to xenobiotics: biological and chemical approaches*, Ford M, Holloman D, Khambay B, Sawicki R (ed), Ellis Horwood, Chichester, England, 1987. 105-117.
47. Scott JG. Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Ins Biochem & Mol Biol*, 1999; 29: 757-777.
48. Scott JG, Whitt Z. Cytochromes P450 of insects: the tip of the iceberg? *Pest Manag Sci*, 2001; 57: 958-967.
49. Sheehan D, Meade G, Foley V, Dowd C. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J*, 2001; 360: 1-16.
50. Shono T. Pyrethroid resistance: importance of the *kdr*-type mechanism. *J Pestic Sci*, 1985; 10: 141-146.
51. Taylor C. Genetics and evolution of resistance to insecticides. *Biol J Linnean Soc*, 1986; 27: 103-112.
52. Thullner F. Impact of pesticide resistance and network for global pesticide resistance management based on a regional structure. *World Anim Rev*, 1997; 89: 41-47.
53. Wharton R, Norris K. Control of parasitic arthropods. *Vet Parasitol*, 1980; 6: 135-164.
54. Wilson T, Ashok M. Insecticide resistance from absence of target-site gene product. *Proc Natl Acad Sci*, 1998; 24 (95): 14040-14044.
55. Zaim M, Guillet P. Alternative insecticides: an urgent need. *Trend in Parasitology*, 2002; 18 (4): 161-163.
56. Zlotkin E. The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides. *Annu Rev Entomol*, 1999; 44: 429-455.