

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*

Lic. Juan A. Bisset,<sup>1</sup> Lic. María M. Rodríguez,<sup>2</sup> Lic. Darjaniva Molina,<sup>3</sup> Lic. Cristina Díaz<sup>4</sup> y Téc. Lázaro A. Soca<sup>5</sup>

### RESUMEN

Fueron evaluadas 5 cepas de *Aedes aegypti* L., 1 de Cuba y 4 de Venezuela, para determinar sus niveles de resistencia a insecticidas organofosforados (temefos, clorpirifos y pirimifos metil). En las cepas venezolanas se encontró resistencia a temefos, solo en la cepa APURE. En las cepas de TACHIRA y MIRANDA se observaron moderados valores de resistencia ( $FR_{50}$  entre 5 y 10 x) para clorpirifos, y altos niveles de resistencia ( $FR >10x$ ) fueron obtenidos para este insecticida en la cepa de ARAGUA. Todas las cepas venezolanas mostraron elevados niveles de resistencia a pirimifos metil. La cepa cubana, colectada en SANTIAGO de CUBA, mostró moderados niveles de resistencia a temefos y pirimifos metil, y altos niveles para clorpirifos. Los resultados de las pruebas bioquímicas demostraron la presencia de los mecanismos de esterases y glutation-s-transferasa, a elevada frecuencia en casi todas las cepas. Mediante electroforesis en gel de poliacrilamida se observó una banda fuertemente teñida en todas las cepas, con un valor de Rf de 0,779, que se nombró esterasa A4, y no se observó en la cepa de referencia susceptible a insecticidas. El significado de esta esterasa en la resistencia a insecticidas organofosforados está aún por demostrar. La resistencia a estos insecticidas en *Ae. aegypti* es un problema serio para las operaciones de control de esta especie, por lo que se sugirieron estrategias de control integradas que permitan evitar o retardar la aparición de esta en Cuba y Venezuela.

DeCs: AEDES/enzimología; ESTERASAS/análisis; INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS.

Dentro del gran número de especies de mosquitos resistentes a la acción de los insecticidas el género *Aedes* desempeña un papel importante en la transmisión de enfermedades virales. Comúnmente la fiebre amarilla, el dengue y la fiebre del dengue hemorrágico (FDH) son enfermedades víricas, transmitidas por *Aedes aegypti* L., que causan grandes impactos en la salud pública.

En 1960 se reportaron los primeros casos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos en *Ae. aegypti*, Fox<sup>1</sup> reportó una cepa en Puerto Rico resistente 10x a malation y diazinon. La capacidad de resistir al malation se asoció

con la destoxicación 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 destoxicadoras son fosfatasas. El posible papel de las enzimas específicas en el proceso de destoxicación de insecticidas, en *Ae. aegypti*, fue observado en larvas de la especie.<sup>2</sup> Estos estudios sugieren la presencia de enzimas destoxicadoras específicas, que cumplen un importante papel en el mecanismo de resistencia a organofosforados.

<sup>1</sup> Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar.

<sup>2</sup> Licenciada en Bioquímica. Investigadora Auxiliar.

<sup>3</sup> Licenciada en Biología.

<sup>4</sup> Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

<sup>5</sup> Técnico en Farmacia Industrial.

En Cuba ocurrió un brote de dengue en el municipio de Santiago de Cuba en el año 1997, y en Venezuela, en los estados de Aragua, Miranda y Apure se reportó alta incidencia de dengue y prevalencia del vector entre los años 1997 y 1998.<sup>3</sup> En el presente estudio se colectó *Aedes aegypti* de estas localidades, y se evaluó el estado de la resistencia a insecticidas organofosforados que están en uso o se piensan utilizar en el futuro, así como sus posibles mecanismos de resistencia.

## MÉTODOS

Para el trabajo se utilizaron 5 cepas de *Aedes aegypti*: ROCKEFELLER, cepa de referencia susceptible que fue suministrada por el laboratorio del Centro de Control de Enfermedades (CDC) de San Juan de Puerto Rico; las cepas APURE, ARAGUA, MIRANDA Y TACHIRA, colectadas en Venezuela en los estados del mismo nombre y SANTIAGO DE CUBA, cepa de campo colectada en el municipio Santiago de Cuba, durante el último brote de dengue en Cuba en el año 1997. Las colonias fueron establecidas y mantenidas en el insectario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK) con temperatura de 25 °C y 65 % de humedad relativa.

Se emplearon los insecticidas siguientes:

### (A) Organofosforados:

- Temefos: 93,3 % de pureza, suministrado por *American Cyanamid Co., Princeton, New Jersey*.
- Clorpirifos: 94 % de pureza, suministrado por *Dow Chemical Co., Midian, Michigan*.
- Pirimifos metil: 99,8 % de pureza, suministrado por ZENECA, Salud Pública.

### (C) Sinergistas:

- DEF: S, S, S-tributilfosforotioato: 99 % de pureza, suministrado por *Mobay, Kansas City, Kansas*.
- Piperonil butóxido (PB): ( $\alpha$ -[2-butoxi-etoxi] etoxi-4,5-metilenodioxo-2-propiltolueno); 96,8 % de pureza, suministrado por *McLaughlin Gormley King Co., Minneapolis, Minnesota*.

Los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud

(OMS).<sup>4</sup> Se emplearon 5 réplicas de cada concentración del insecticida (20 larvas por réplica) y se registró entre 2 y 98 % de mortalidad. Todas las soluciones se ajustaron a un volumen final de 1 mL con acetona. Esta concentración de acetona no causó mortalidad en los controles.

La acción de los sinergistas se determinó con la exposición de las larvas a concentraciones subletales de DEF (0,4 mL de 0,01 %) y del PB (0,8 mL de 0,001 %) durante 4 h previas a la adición de los insecticidas. La lectura de las mortalidades se realizó a las 24 h. Se analizaron los resultados mediante el programa probit log de Raymond.<sup>5</sup>

Las pruebas bioquímicas se realizaron en larvas de cuarto estadio temprano. Las actividades de esterasas y glutatión-s-transferasa se determinaron individualmente en larvas según el método de *Peiris and Hemingway*.<sup>6</sup> Se determinó la frecuencia génica según la fórmula de equilibrio de Hardy-Weinberg.

Se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida (10 %). Se determinó la actividad enzimática de las esterasas y se seleccionaron las muestras con mayor actividad. Se aplicaron 20  $\mu$ L de la mezcla (10  $\mu$ L de muestra + 10  $\mu$ L del indicador xileno cianol) en el gel y se realizó la corrida a 150 V, durante 45 min. Para la tinción de las bandas de esterasas, se sumergieron los geles en 50 mL de *buffer* fosfato (0,1 mol), que contenía 4 mL de cada uno de los sustratos inespecíficos de las esterasas ( $\alpha$  y  $\beta$ -naftilacetato). Después se añadieron 0,5 g del colorante *fast blue* RR, disuelto antes en agua destilada y SDS (sodio duodecil sulfato) 5 %.

## RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los valores de las concentraciones letales 50 ( $CL_{50}$ ) y el factor de resistencia correspondiente ( $FR_{50}$ ), se muestra además la pendiente de la línea de regresión probit-log para 3 insecticidas organofosforados (temefos, clorpirifos y pirimifos metil), en las 4 cepas venezolanas (APURE, ARAGUA, MIRANDA Y TACHIRA), la cepa cubana (SANTIAGO DE CUBA) y la cepa susceptible de referencia de *Aedes aegypti* (ROCKEFELLER). Como se muestra en esta tabla, las cepas de Venezuela

resultaron susceptibles al insecticida organofosforado temefos ( $FR < 5$ ), excepto la cepa APURE, que resultó 11,1 x resistente a este insecticida. Sin embargo resultaron resistentes ( $FR > 10$ ) a pirimifos metil la cepa ARAGUA, que mostró el valor más elevado de resistencia (27,6 x) y resultó ser la cepa con mayor FR a clorpirifos (21,83 x), y la cepa de MIRANDA y TACHIRA mostraron niveles moderados para este insecticida, 5,67 y 8,29 x, respectivamente. Sin embargo para la cepa de SANTIAGO DE CUBA se obtuvieron moderados niveles de resistencia a temefos (5,59 x) y pirimifos metil (8,03 x), y altos valores de resistencia se evidenciaron para clorpirifos (16,011 x).

Los ensayos realizados con el sinergista DEF, demostraron que la resistencia observada a clorpirifos estuvo mediada por el mecanismo de esterasas, esto quedó evidenciado por los altos valores de *factor de sinergismo* (FS) en todas las

cepas, con excepción de la cepa APURE (FS 3,9), que no presentó resistencia a este insecticida. Los valores de FS al utilizar DEF + clorpirifos oscilaron entre 10,2 en MIRANDA hasta 306,1 en ARAGUA. Los valores bajos del factor de sinergismo con DEF para pirimifos metil, demostraron que la resistencia a este insecticida no está mediada por el mecanismo de esterasas. Con respecto al efecto del DEF con el insecticida temefos, quedó demostrado que la moderada resistencia detectada en SANTIAGO DE CUBA y la alta resistencia detectada en APURE, estuvo mediada por la alta actividad de esterasas, con valores de FS de 6,45 y 19,7, respectivamente (tabla 2).

Los resultados del FS obtenidos con el sinergista PB, indicaron que las enzimas multifunción oxidasas (MFO) no desempeñaron un papel importante en la resistencia detectada a clorpirifos, temefos y pirimifos metil (tabla 3).

**TABLA 1.** Niveles de resistencia a los insecticidas organofosforados: clorpirifos, temefos y pirimifos metil en 5 cepas de *Aedes aegypti*

	Temefos	Pirimifos metil	Clorpirifos
SANTIAGO DE CUBA $CL_{50}^a$	0,0713 (0,0601-0,0763)	0,0641 (0,060-0,0683)	0,114 (0,103-0,140)
$b^b$	7,2 ( $\pm$ 0,71)	6,5 ( $\pm$ 0,59)	6,7 ( $\pm$ 1,42)
$FR_{50}^c$	5,9	8,1	16,2
APURE $CL_{50}^a$	0,149 (0,0116-0,0180)	0,140 (0,127-0,157)	0,0212 (0,0184-0,0239)
$b^b$	2,2 ( $\pm$ 0,22)	5,1 ( $\pm$ 0,51)	2,9 ( $\pm$ 0,23)
$FR_{50}^c$	11,1	17,8	3,1
ARAGUA $CL_{50}^a$	0,0468 (0,0424-0,0514)	0,224 (0,193-0,256)	0,150 (0,121-0,201)
$b^b$	5,2 ( $\pm$ 0,69)	3,9 ( $\pm$ 0,40)	1,8 ( $\pm$ 0,25)
$FR_{50}^c$	3,9	27,6	22,1
MIRANDA $CL_{50}^a$	0,0559 (0,0510-0,0619)	0,170 (0,0716-0,229)	0,0387 (0,0321-0,0468)
$b^b$	4,5 ( $\pm$ 0,56)	3,6 ( $\pm$ 0,91)	2,3 ( $\pm$ 0,29)
$FR_{50}^c$	4,7	21,5	5,7
TACHIRA $CL_{50}^a$	0,0310 (0,028-0,033)	0,097 (0,071-0,11)	0,057 (0,051-0,062)
$b^b$	2,55 ( $\pm$ 0,63)	5,086 ( $\pm$ 0,71)	2,43 ( $\pm$ 0,53)
$FR_{50}^c$	2,58	12,28	8,38
ROCKEFELLER $CL_{50}^a$	0,0127 (0,0116-0,0144)	0,00701 (0,00698-0,00912)	0,00687 (0,00619-0,0075)
$b^b$	6,3 ( $\pm$ 0,73)	3,6 ( $\pm$ 0,52)	5,1 ( $\pm$ 0,82)

<sup>a</sup>  $CL_{50}$  en mg/L, 95 % IC están entre paréntesis.

<sup>b</sup> Pendiente. La desviación estándar ( $\pm$ DE) está entre paréntesis.

<sup>c</sup> Factor de resistencia (FR):  $CL_{50}$  cepa a evaluar/ $CL_{50}$  de la cepa susceptible de referencia. Número de larvas evaluadas: 500 por insecticidas.

**TABLA 2.** Valores de las CL<sub>50</sub> y factor de sinergismo (FS) para insecticidas organofosforados, con la utilización del sinergista DEF, en 5 cepas de *Aedes aegypti*

	Temefos	Pirimifos metil	Clorpirifos
SANTIAGO DE CUBA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0112 (0,0103-0,0130)	0,0981 (0,0914-0,109)	0,00678 (0,00638-0,00718)
b <sup>b</sup>	7,7 (± 1,40)	6,6 (± 1,68)	7,4 (± 0,74)
FS <sup>c</sup>	6,45	0,65	16,2
APURE LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,00764 (0,00708-0,00824)	0,052 (0,0490-0,0560)	0,00538 (0,00496-0,00571)
b <sup>b</sup>	5,43 (± 0,70)	9,9 (± 1,53)	7,5 (± 0,92)
FS <sup>c</sup>	19,7	2,7	3,9
ARAGUA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,00918 (0,00808-0,0108)	0,0522 (0,0454-0,0591)	0,00049 (0,00038-0,00064)
b <sup>b</sup>	4,6 (± 0,68)	3,2 (± 0,45)	1,6 (± 0,25)
FS <sup>c</sup>	5,1	4,3	306,1
MIRANDA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,00524 (0,00476-0,00563)	0,0268 (0,0227-0,0310)	0,00378 (0,00311-0,00490)
b <sup>b</sup>	7,1 (± 0,91)	3,8 (± 0,32)	2,02 (± 0,26)
FS <sup>c</sup>	10,7	6,3	10,2
TACHIRA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0064 (0,0059-0,0068)	0,049 (0,041-0,052)	0,0039 (0,0032-0,0041)
b <sup>b</sup>	8,2 (± 0,93)	5,38 (± 0,81)	5,085
FS <sup>c</sup>	4,84	1,98	14,6
ROCK LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0121 (0,0102-0,0161)	0,0121 (0,011-0,014)	0,00401 (0,004-32-00,565)
b <sup>b</sup>	4,6 (± 0,98)	6,4 (± 0,64)	4,4 (± 0,44)
FS <sup>c</sup>	1,0	0,64	1,5

<sup>a</sup> CL<sub>50</sub> en mg/L: 95 % IC están entre paréntesis.

<sup>b</sup> Pendiente de la recta probit-log. La desviación estándar (±DE) está entre paréntesis.

<sup>c</sup> Factor de sinergismo (FS): CL<sub>50</sub> del insecticida solo/CL<sub>50</sub> del insecticida + sinergista.

Número de larvas evaluadas: 500 por insecticidas.

**TABLA 3.** Valores de las CL<sub>50</sub> y factor de sinergismo (FS), para 3 insecticidas organofosforados, con la utilización del sinergista PB, en *Aedes aegypti*

	Temefos	Pirimifos metil	Clorpirifos
SANTIAGO DE CUBA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0885 (0,0838-0,0943)	0,181 (0,157-0,205)	0,0861 (0,0786-0,0949)
b <sup>b</sup>	7,9 (± 1,11)	4,6 (± 0,42)	4,2 (± 0,49)
FS <sup>c</sup>	0,8	0,35	1,3
APURE LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0377 (0,0337-0,0416)	0,0758 (0,0606-0,0839)	0,0296 (0,0262-0,0329)
b <sup>b</sup>	3,9 (± 0,34)	4,9 (± 1,26)	3,9 (± 0,38)
FS <sup>c</sup>	3,9	2,7	0,7
ARAGUA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0420 (0,0379-0,0461)	0,151 (0,138-0,167)	0,0457 (0,0402-0,0508)
b <sup>b</sup>	5,4 (± 0,71)	5,4 (± 0,46)	3,9 (± 0,48)
FS <sup>c</sup>	1,1	1,5	3,3
MIRANDA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0423 (0,0373-0,0478)	0,0779 (0,0716-0,0849)	0,0358 (0,0311-0,0406)
b <sup>b</sup>	3,2 (± 0,32)	4,7 (± 0,63)	2,6 (± 0,24)
FS <sup>c</sup>	1,3	2,2	1,1
TACHIRA LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,039 (0,031-0,043)	0,15 (0,11-0,17)	0,072 (0,068-0,073)
b <sup>b</sup>	6,88 (± 0,61)	7,46 (± 0,73)	2,36 (± 0,33)
FS <sup>c</sup>	0,795	0,65	0,79
ROCK LC <sub>50</sub> <sup>a</sup>	0,0223 (0,0191-0,0252)	0,0269 (0,024-0,029)	0,0156 (0,013-0,018)
b <sup>b</sup>	3,1 (± 0,24)	4,2 (± 0,36)	3,2 (± 0,27)
FS <sup>c</sup>	0,6	0,29	0,43

<sup>a</sup> CL<sub>50</sub> en mg/L: 95 % IC están entre paréntesis.

<sup>b</sup> Pendiente de la recta probit-log. La desviación estándar (± DE) está entre paréntesis.

<sup>c</sup> Factor de sinergismo (FS): CL<sub>50</sub> del insecticida solo/CL<sub>50</sub> del insecticida + sinergista

Número de larvas evaluadas: 500 por insecticidas.

**TABLA 4.** Valores de frecuencia para el mecanismo de resistencia mediado por esterasas elevadas y glutatión-s-transferasa (GST), observadas en *Aedes aegypti* de 5 localidades

Mecanismos	ROCKEFELLER (n)	APURE (n)	ARAGUA (n)	MIRANDA (n)	TACHIRA (n)	SANTIAGO DE CUBA (n)
Esterasa <sup>a</sup>	0 (350)	1,0 (285)	0,42 (300)	0,831 (350)	0,771 (300)	1,0 (285)
GST <sup>b</sup>	0 (288)	0,041 (285)	0,45 (300)	0,043 (150)	0,525 (300)	0,80 (285)

<sup>a</sup> Actividad de esterasas, medida como densidad óptica.

<sup>b</sup> Actividad de glutatión-s-transferasa, medida como actividad específica.

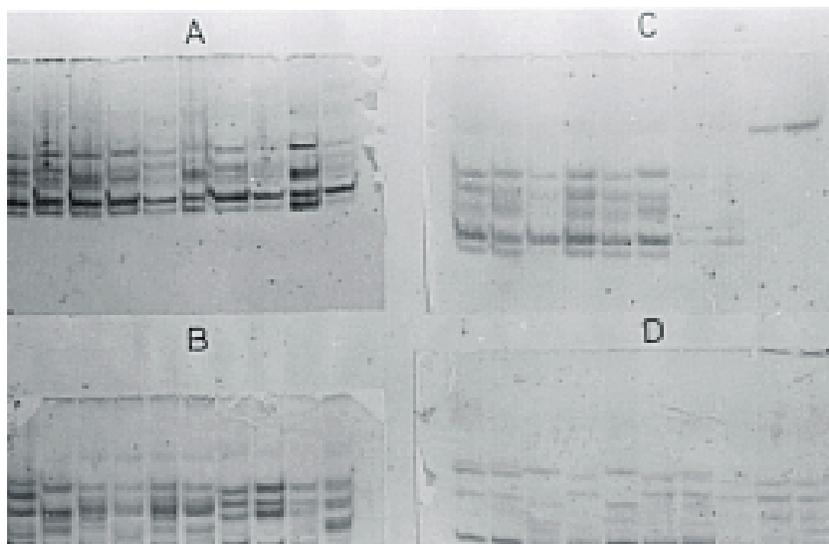
(n) El total de individuos evaluados está entre paréntesis.

A la luz de los resultados obtenidos con ambos sinergistas es sugerente que en la resistencia a pirimifos metil intervengan otros mecanismos de acción tan importantes en *Ae. aegypti* como GST y gen Kdr. El primero se encontró a una alta frecuencia en SANTIAGO DE CUBA (0,8042), TACHIRA (0,525) y ARAGUA (0,45) (tabla 4).

Se demostró que la actividad de las esterasas elevadas desempeñó un papel muy importante en la resistencia a clorpirifos y a temefos en las cepas estudiadas; este mecanismo se encontraba a alta frecuencia génica (tabla 4).

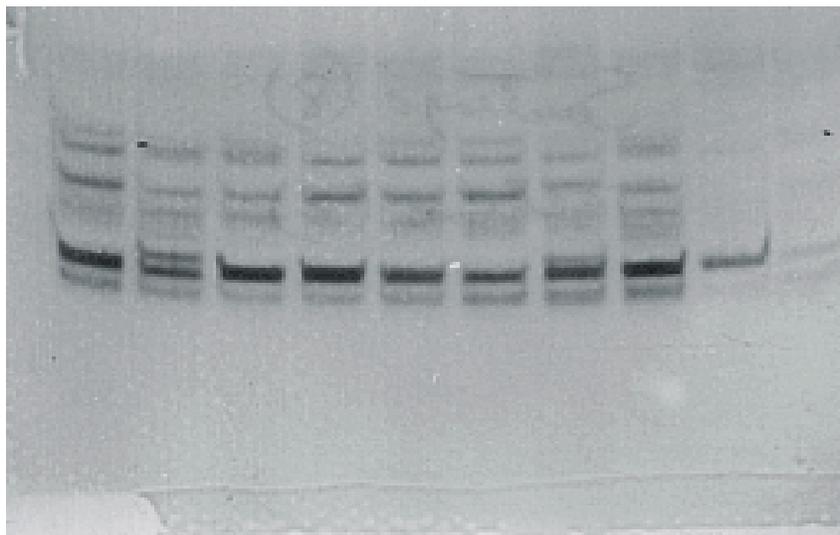
El examen visual de los geles reveló un gran número de bandas de esterasas A y B para estas

cepas (fig.1). Por su movilidad electroforética, las bandas fueron enumeradas desde 1 hasta 5, con el correspondiente cálculo de su Rf. Es de destacar que en todas las cepas se observó una banda fuertemente teñida de esterasa, nombrada como esterasa A4 (EstA), con una movilidad relativa de 0,779, que apareció con una alta frecuencia (99 a 100 %), y no se observó en la cepa de ROCKEFELLER (fig. 2). Otras bandas fueron observadas en las 5 cepas pero su intensidad fue menor. El posible papel de esta esterasa en la resistencia a tóxicos organofosforados está aún por demostrar y este aspecto es objeto de investigaciones futuras.



Gel A: cepa MIRANDA, Gel B: de izquierda a derecha (6 muestras de TACHIRA, 2 de SANTIAGO DE CUBA y 2 de ROCKEFELLER, Gel C: 6 muestras de ARAGUA, 2 de ROCKEFELLER y 2 de *Culex quinquefasciatus*, Gel D: todas las muestras de la cepa APURE.

**Fig. 1.** Esterasas elevadas en larvas de *Aedes aegypti* de Venezuela.



De izquierda a derecha 8 muestras de SANTIAGO DE CUBA y 2 de ROCKEFELLER

**Fig. 2.** Esterasas elevadas en larvas de *Aedes aegypti* de Cuba.

## DISCUSIÓN

Las cepas de *Ae. aegypti* de Venezuela y Santiago de Cuba mostraron niveles variables de resistencia a los insecticidas organofosforados, temefos, clorpirifos y pirimifos metil. Las cepas de APURE Y SANTIAGO DE CUBA, tratadas en el campo con temefos a 1 ppm, mostraron altos niveles de resistencia a temefos. Sin embargo la selección de una cepa de *Ae. aegypti* de la India por 20 generaciones con temefos, incrementó la tolerancia a este insecticida solamente de 2 a 3 veces.<sup>7</sup>

Los altos valores de factor de sinergismo (FS > 5) obtenidos con DEF y clorpirifos indicaron que la resistencia a este insecticida estuvo mediada por el mecanismo de esterasas. Altos niveles de resistencia a clorpirifos han sido reportados en poblaciones de *Ae. aegypti* de Puerto Rico, Santa Lucía y Trinidad.<sup>8</sup> Como el clorpirifos no ha sido utilizado para el control de *Ae. aegypti* en Venezuela, ni en Cuba, es probable que la resistencia detectada a este insecticida sea el resultado de resistencia cruzada de temefos u otros insecticidas organofosforados.<sup>9</sup>

En el presente estudio, el mecanismo de esterasas elevadas estuvo asociado con la resistencia a temefos, lo que se corroboró por los estudios con sinergistas y las pruebas bioquímicas en la cepa de APURE Y SANTIAGO DE CUBA. Recientemente se reportó el papel importante de la alta actividad de esterasas en una cepa de *Aedes*

*aegypti* resistente a temefos, que fue seleccionada en el laboratorio por 13 generaciones con este insecticida.<sup>10</sup> La asociación del mecanismo de alta actividad de esterasas con la resistencia a temefos y clorpirifos fue reportada en Venezuela<sup>9</sup> y Trinidad.<sup>11</sup>

Existen otros mecanismos bien documentados en *Ae. aegypti*, como son, el gen Kdr basado en la insensibilidad en el sitio de acción y el mecanismo de la elevada actividad de la glutatión-s-transferasa (GST, mecanismo de acción metabólica), responsables de la resistencia a DDT.<sup>12-14</sup> En los resultados de este trabajo el mecanismo de GST está presente en casi todas las cepas evaluadas, excepto en las cepas de MIRANDA Y APURE. Al parecer, este mecanismo de resistencia no debe ser importante en la resistencia a insecticidas organofosforados en las cepas evaluadas.

En la electroforesis se observó una banda fuertemente teñida, que de acuerdo con su movilidad relativa y su coloración se clasificó como esterasa A4 y cuyo Rf fue de 0,779. Según lo encontrado por *Mazzarri* (Mazarri MB. Insecticida resistance in two field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela [Tesis de Máster]. University of California, Riverside, California. 1994) en una cepa de *Ae. aegypti* se mostraba una banda cuya movilidad relativa era de 0,61, que estaba presente en 91 % de los individuos, y fue

nombrada esterasa A6. También se clasificó como esterasa A6 la encontrada en adultos de *Aedes aegypti* procedentes de San Juan de Puerto Rico, con un valor de Rf de 1,00.<sup>15</sup> Producto de la nomenclatura de estas esterasas se dificulta la comparación entre ellas.

Es evidente que *Ae. aegypti* ha desarrollado resistencia a organofosforados, lo que puede resultar en un problema potencial para el control de esta especie. Agentes de control biológico, como el *Bacillus thuringiensis var. israelensis* pudieran ser seriamente considerados para el control larval en los programas de control de *Ae. aegypti*. Se hace necesario continuar el monitoreo de la susceptibilidad a insecticidas en las poblaciones de *Ae. aegypti* para brindar información necesaria que ayude a la toma de decisiones sobre el uso correcto de insecticidas. Lograr programas de control sostenidos, con énfasis en la reducción de focos y el saneamiento ambiental, con el objetivo de utilizar menos insecticidas para disminuir la presión de selección sobre las poblaciones resistentes.

#### SUMMARY

Five strains of *Aedes aegypti* L. one from Cuba and 4 from Venezuela were evaluated to determine their resistance to organophosphate insecticides (temephos, chlorpiriphos and pirimiphos methyl). In the Venezuelan strains only APURE showed resistance to temephos. In TACHIRA and MIRANDA moderate resistance values were noted ( $FR_{50}$  5 to 10x) for chlorpiriphos and high levels of resistance ( $FR > 10x$ ) to this insecticide were found in ARAGUA. All the Venezuelan strains showed high levels of resistance to pirimiphos methyl. The Cuban strain from Santiago de Cuba revealed moderate resistance to temephos and pirimiphos methyl, but high resistance to chlorpiriphos. The results of the biochemical tests proved the presence of esterase and glutathione-s-transferase at high frequency in almost every strain. By the polyacrilamide gel electrophoresis, a strongly stained band was observed in all the strains with a Rf value of 0.779; it was named esterase A4 and was not seen in the susceptible reference strain. The meaning of this esterase in the resistance to organophosphate insecticides is yet to be determined. Resistance to these insecticides in *Aedes aegypti* is a serious problem for the control of this species therefore integrated management strategies were proposed to prevent or delay the appearance of this species in Cuba and Venezuela.

**Subject headings:** AEDES/enzimology; ESTERASES/analysis; INSECTICIDES.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fox I, García-Mola I. Multi-resistant *Aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgin Islands. *Science* 1961;233:646-7.
2. 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.
3. Mazarri MB, Mora J, Godoy O, Guevara M. Situación del dengue y el programa control de *Aedes aegypti* en Venezuela. *Bol Dirección Malariai Saneam Ambient* 1998;38:137-44.
4. OMS. Instructons for determining the susceptiblity or resistance of mosquito larvae to insecticides. 1981. WHO/VBC/81.807.
5. Raymond M. Presentation d'une programme d'analyse log-probit pour microordinateur cahiers Orstrom. *Ser Ent Med Parasitol* 1985;23:117-21.
6. Peiris HTR, Hemingway J. Mechanism of insecticide resistance in a temephos selected *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) strain Sri Lanka. *Bull Entomol Res* 1990;80:453-6.
7. Madhukar BVR, Pillai MKK. Development of organophosphorus resistance in Indian strains of *Aedes aegypti* (L.). *Bull World Health Organ* 1970;43:735-42.
8. Rawlins SC, Ragoonansingh R. Comparative organophosphorous insecticide susceptibility in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and *Toxorhynchites moctezuma*. *J Am Mosq Control Assoc* 1990;6:315-7.
9. Mazarri MB, Georghiou GP. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field population of *Aedes aegypti* from Venezuela. *J Am Mosq Control Assoc* 1995;11:315-22.
10. Wirth MC, Georghiou GP. Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. *J Am Mosq Control Assoc* 1999;15:315-20.
11. Vaugan ADR, Fferench-Constant RH. Biochemical monitoring of organophosphorus and carbamate insecticide resistance in *Aedes aegypti* mosquitoes from Trinidad. *Med Vet Entomol* 1998;12:318-21.
12. Malcolm CA, Wood RJ. Location of a gene conferring resistance to knockdown by permethrin and bioresmethrin in adults of the BKPM3 strain of *Aedes aegypti*. *Genetica* 1982;59:233-7.
13. Grant DF, Matsumura F. Glutathione S-transferase 1 and 2 in susceptible and insecticide resistant *Aedes aegypti*. *Pest Biochem Pysiol* 1989;33:132-43.
14. Grant DF, Dietze EC, Hammock BD. Glutathione S-transferase isoenzymes in *Aedes aegypti*: purification, characterization and isozyme specific regulation. *Ins Biochem* 1991;4:421-33.
15. Field WN, Hitchen JM, Rees AT. Esterases activity in strains of *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) tolerant and susceptible to the organophosphate insecticide malathion. *J Med Entomol* 1984;21:412.

Recibido: 29 de septiembre del 2000. Aprobado: 6 de noviembre del 2000.

Lic. Juan A. Bisset. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: ciipk@ ipk.sld.cu