

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malation

Lic. María Magdalena Rodríguez,¹ Dr. Juan A. Bisset,² Lic. Cristina Díaz³ y Téc. Lázaro A. Soca⁴

RESUMEN

Se sometió a presión de selección una cepa de *Aedes aegypti* (L.), colectada en el municipio de Santiago de Cuba, con niveles bajos de resistencia a malation (1,79 x), para evaluar la evolución de la resistencia a este organofosforado y su utilidad en el control. Después de 5 generaciones de selección con malation no se logró incrementar la resistencia. Se obtuvo luego de 5 generaciones de selección (SAN-F5), un valor de factor de resistencia (FR50 de 2,22x). Se observó poca o ninguna resistencia cruzada a los insecticidas organofosforados fention, temefos y fenitrotion, sin embargo, se encontró una elevada resistencia cruzada al insecticida piretroide deltametrina, con un valor de 287,5X en la tercera generación de selección, se observó también resistencia cruzada a otros piretroides (lambdacialotrina, cipermetrina y ciflutrina). El mecanismo de esterasas elevadas no generó resistencia a los piretroides, hecho que fue corroborado a través de estudios de inhibición en gel y a través del cálculo de la frecuencia en placas de microtitulación. No obstante, hubo un incremento en la frecuencia del mecanismo de glutation-s-transferasa desde 0,049 en SANTIAGO DE CUBA hasta 0,42 en SAN-F5, lo cual puede estar asociado con la resistencia a piretroides. La resistencia cruzada a piretroides, principalmente a deltametrina, producto de la selección con malation, pudiera limitar el uso de estos insecticidas para el control, si no se lleva a cabo una buena estrategia.

DeCS: MALATHION; INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS; CULICIDAE.

El uso de insecticidas ha desempeñado un papel importante en los programas de control de *Aedes aegypti*, no solo en Cuba sino en las Américas. La alta resistencia a DDT y otros insecticidas organoclorados llevó al comienzo del uso de insecticidas organofosforados.

Dentro de los insecticidas organofosforados más utilizados en los programas de control de *Aedes aegypti* está el temefos, fention y fenitrotion como larvicidas y malation como adulticida. A pesar de que malation ha sido utilizado en la región del Caribe por más de 25 años, solo moderados niveles de resistencia (5-to 10 x) han sido reportados a este insecticida en poblaciones de *Aedes aegypti*.¹⁻⁶

Una intensa campaña para el control de *Aedes aegypti* comenzó en Cuba en 1981 y malation fue el principal insecticida utilizado como adulticida hasta 1986, en esta etapa *Aedes aegypti* fue exitosamente controlado por este insecticida, sin embargo este fue reemplazado por piretroides en 1986 porque otra especie de mosquito, *Culex quinquefasciatus*, que ocupó los sitios de cría de *Aedes aegypti* en ambiente urbano^{7,8} desarrolló resistencia a malation.

El extensivo uso de malation en los programas de control de *Aedes aegypti* ha provocado el desarrollo de resistencia en *Culex quinquefasciatus*, pero no en *Aedes aegypti*, no solo en Cuba, sino también en otros países de América Latina.⁹

¹ Licenciada en Bioquímica. Investigadora Auxiliar.

² Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar.

³ Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

⁴ Técnico en Farmacia Industrial.

En este trabajo, se investigó cómo evoluciona la resistencia a este insecticida bajo presión de selección y el efecto que implica sobre la resistencia cruzada a otros insecticidas que están en uso o pueden ser utilizados como alternativos para el control de *Aedes aegypti* en Cuba.

MÉTODOS

Insectos: se utilizaron 2 cepas de *Aedes aegypti*, ROCKEFELLER, una cepa de referencia susceptible de laboratorio, colonizada en 1930 y suministrada por el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de San Juan de Puerto Rico y Santiago de Cuba, una población colectada del campo, procedente de Santiago de Cuba (Cuba) en 1997, cuando ocurrió el brote de dengue en este municipio. Esta población fue sometida a presión de selección por 5 generaciones, las larvas de cuarto estadio tardío o cuarto temprano se expusieron a dosis de malation que causaron 90 % de mortalidad, 10 % sobreviviente en cada selección; es decir, el resultado de cada generación de selección se designó como SAN-Fx (donde x es el # de cada generación).

Bioensayos: la evaluación de la resistencia a insecticidas en larvas de SANTIAGO DE CUBA y en la tercera generación de selección (SAN-F3) fue analizada a través de los bioensayos.¹ Fueron evaluados 7 insecticidas, 3 organofosforados (temefos, fention y fenitrotion) y 4 piretroides (deltametrina, cipermetrina, lambdacialotrina y ciflutrina). En los bioensayos se emplearon 5 réplicas de cada concentración del insecticida (20 larvas por réplica), se registraron 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 lectura de las mortalidades se realizó a las 24 h; la CL_{50} y la CL_{90} se hallaron mediante el programa probit- log,¹⁰ el cual está basado en el programa Finney.¹¹

Ensayos bioquímicos: se determinó la actividad de esterasas en larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano, de acuerdo con el método estandarizado para *Aedes aegypti* por Rodríguez y otros.¹² Se homogeneizó cada larva con 200 μ L de buffer fosfato 0,01 M, pH 7,5. En una placa de

microtitulación de ELISA, a 20 μ L del homogenato se le añadió 200 μ L del sustrato (0,7-mM de b-naftil acetato). Después de dejar transcurrir la reacción por 10 min, se le añadió 40 μ L de Fast blue y se leyó la densidad óptica (DO) a 570 nm en lector de placas de *ELISA Labsystems iMS*, manufacturado en Finlandia.

La actividad de glutation-S-transferasa (GST) fue determinada de acuerdo con el método de Booth y otros,¹³ y modificado para *Aedes aegypti* (Rodríguez y otros).¹² A 20 μ L de cada homogenato de larva se le añadió 250 μ L de una mezcla de reacción de 1-chloro-2, 4 dini-trobenzene 50 mM; y de glutathion reducido 20 mM. Se dejó transcurrir la reacción por 3 min y se leyó la DO a 340 nm. Se calculó la actividad específica de GST, después de calcular la concentración de proteínas en cada homogenato y se expresó como μ mol/ mg.min.

Se determinó la actividad de la acetilcolinesterasa (Ache) normal e inhibida con propoxur según el método de Rodríguez y otros.¹⁴ La preparación de las muestras es similar a la descrita anteriormente, con la diferencia de que las muestras se homogeneizaron en 50 mL de buffer fosfato, que contenía tritón X-100 1 %. Se prepararon además 2 placas, una para la determinación de la actividad AchE normal y otra para la actividad AchE inhibida con propoxur. En ambas placas se adicionaron 20 μ L de DTNB (ácido 5-5' ditiobis 2 nitrobenzoico) 0,07 M, pH 7,5 y 20 μ L de acetiltiocolina yodada (AchI) 0,06 M. En la placa donde se midió la actividad Ache inhibida se adicionaron además 10 μ L de propoxur 0,025 M. Después de preparadas estas 2 placas se adicionó en cada pocillo de ambas 20 μ L del homogeneizado de las larvas. La reacción se dejó transcurrir durante 30 min y se leyó la DO a 405 nm.

Un estimado de la frecuencia de los mecanismos de esterasas, GST y Ache fue calculado a partir del número de individuos susceptibles para cada ensayo, asumiendo que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida (10 %). En tubos Eppendorf (1,5 ml), se adicionaron 10 μ L de muestra más 10 μ L del indicador xilene cianol (0,02 % en sacarosa 15 %). Se aplicaron 20 μ L de esta mezcla en el gel y se

realizó la corrida a 150 V, durante 45 min. Para la tinción de las bandas de esterases, se sumergieron los geles en 50 mL de *buffer* fosfato (0,1 M) que contenían 4 mL de cada uno de los sustratos inespecíficos de las esterases (y b-naftilacetato). Después se añadieron 0,5 g del colorante *fast blue* RR, disuelto previamente en agua destilada y SDS (sodio dodecil sulfato) 5 %. Para fijar la coloración de las bandas se sumergió el gel en una solución de ácido acético 10 %. A cada una de las bandas se le determinó la movilidad relativa.

Para el estudio de inhibición, se corrieron los geles bajo las mismas condiciones y cortados en tiras. Cada tira correspondiente a un homogenato individual de larva de la cepa seleccionada con malation. El gel se incubó en el mismo buffer que contenía 10 µL de cada solución de inhibidor (0,1 mM concentración final de cada piretroide, lambdacyhalothrin, cypermetrin o cyfluthrin o del organofosforado malation) por 10 min, a temperatura ambiente antes de la tinción del gel. Para cada ensayo de inhibición se utilizó una tira de gel como control, la cual no se incubó con ningún inhibidor.

RESULTADOS

Los valores de la recta de regresión dosis-respuesta para el insecticida malation y los factores de resistencia (FR) en las cepas de SANTIAGO DE CUBA y las sucesivas generaciones de selección (SAN-F1, SAN-F2, SAN-F3, SAN-F4 y SAN-F5) se muestran en la tabla 1. Después de 5

generaciones de selección con este insecticida, no se observó incremento en los valores de factor de resistencia, oscilando desde un valor de FR de 1,79 en SANTIAGO DE CUBA hasta 2,22x en SAN-F5. Los valores elevados de las pendientes en todas las cepas indicaron que estas resultaron ser homogéneas con respecto a la susceptibilidad a malation.

Sin embargo, el proceso de selección con malation en la cepa de *A. aegypti* de SANTIAGO DE CUBA generó resistencia cruzada a piretroides, muy marcada a deltametrina, con una variación de valor de FR de 4,75 en SANTIAGO DE CUBA hasta 283,75 en SAN-F3 y 275 x en SAN-F5 (tabla 2). También se observó resistencia cruzada, a los piretroides cipermetrina, ciflutrina y lambdacialotrina. La selección con malation incrementó la resistencia a cipermetrina 4,57 veces, desde un valor de 7,23x en SANTIAGO DE CUBA hasta 33,07x en SAN-F5, 4 veces se incrementó para ciflutrina, obteniéndose un valor de FR en SAN-F5 de 24,61x y solamente 2,34 veces a lambdacialotrina.

La variación de la resistencia a los insecticidas organofosforados temefos, fention y fenitrotion se muestran en la tabla 3. La cepa original de SANTIAGO DE CUBA mostró alta resistencia a temefos (59,16x), la cual no tuvo significantes cambios hasta la F5 con un valor de 65,83x. La resistencia a fention y a fenitrotion se mantuvo moderada (FR entre 5 y 10x) desde la cepa original hasta SAN-F5.

Los valores de frecuencia de los mecanismos de resistencia de esterases, Ache y GST, utilizando

TABLA 1. Concentración letal media que causó 50 % (LC₅₀) y 90 % (LC₉₀) de mortalidad y su correspondiente valor de factor de resistencia (FR₅₀ y FR₉₀) calculado para las cepas de SANTIAGO DE CUBA y las sucesivas generaciones de selección con malation (SAN-F1-F5)

Cepa	^a CL ₅₀ (Límites de confianza)	CL ₉₀ (Límites de confianza)	^c FR ₅₀	FR ₉₀	b(± DE) ^b
SANTIAGO DE CUBA	0,79 (0,729-0,855)	1,41 (1,224-1,759)	1,79	0,82	5,11 (± 0,66)
SANTIAGO F1	0,55 (0,505-0,592)	0,84 (0,778-0,84)	1,25	0,49	6,99 (± 0,84)
SANTIAGO F2	0,68 (0,63-0,739)	1,26 (1,11-1,49)	1,54	0,73	4,84 (± 0,47)
SANTIAGO F3	0,79 (0,75-0,73)	1,12 (1,0-1,25)	1,79	0,65	8,58 (± 0,98)
SANTIAGO F4	0,85 (0,768-1,042)	1,46 (1,151-2,519)	1,93	0,85	5,51 (± 1,15)
SANTIAGO F5	0,98 (0,793-1,136)	2,21 (1,925-2,66)	2,22	1,29	3,64 (± 0,479)
ROCKEFELLER	0,44 (0,38-0,531)	1,71 (1,243-2,82)	-	-	2,19 (± 0,270)

^a: CL₅₀ en mg/L 95 %, límites de confianza entre paréntesis; ^b: desviación estándar (± DE) entre paréntesis; ^c: factor de resistencia (FR): CL₅₀ cepa a evaluar/ CL₅₀ de la cepa ROCKEFELLER. Se evaluaron un total de 500 larvas por cepa.

TABLA 2. Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de SANTIAGO DE CUBA, después de 3 (SAN-F3) y 5 generaciones (SAN-F5) de selección con malation

Insecticida Cepa	^a CL ₅₀ (Límites de confianza)	CL ₉₀ (Límites de confianza)	FR ₅₀	FR ₉₀	^b b (± DE)
Deltametrina					
ROCKEFELLER	0,00008 (0,00007-0,00008)	0,00021 (0,00017-0,00028)	-	-	2,86 (± 0,28)
SANTIAGO DE CUBA	0,00038 (0,0001-0,0006)	0,0016 (0,0012-0,0022)	4,75	7,61	2,07 (± 0,49)
SAN- F3	0,023 (0,019-0,026)	0,068 (0,054-0,092)	287,5	323,81	2,68 (± 0,22)
SAN-F5	0,022 (0,017-0,027)	0,106 (0,079-0,16)	275,0	504,76	1,90 (± 0,23)
Cipermetrina					
ROCKEFELLER	0,0013 (0,00076-0,0018)	0,0088 (0,0060-0,016)	-	-	1,53 (± 0,24)
SANTIAGO DE CUBA	0,0094 (0,0087-0,011)	0,015 (0,013-0,019)	7,23	1,70	6,14 (± 0,93)
SAN- F3	0,020 (0,017-0,024)	0,065 (0,052-0,088)	15,38	7,38	2,56 (± 0,22)
SAN-F5	0,043 (0,037-0,015)	0,088 (0,078-0,12)	33,07	10,0	3,13 (± 0,31)
Ciflutrina					
ROCKEFELLER	0,0013 (0,0011-0,0015)	0,0026 (0,0021-0,0037)	-	-	4,11 (± 0,52)
SANTIAGO DE CUBA	0,0078 (0,0069-0,0091)	0,0215 (0,016-0,032)	6,00	8,27	2,91 (± 0,35)
SAN- F3	0,017 (0,015-0,021)	0,062 (0,048-0,087)	13,07	23,84	2,327 (± 0,22)
SAN-F5	0,032 (0,029-0,045)	0,095 (0,087-1,071)	24,61	36,53	2,45 (± 0,43)
Lambdacialotrina					
ROCKEFELLER	0,0010 (0,00084-0,0012)	0,0013 (0,00076-0,0018)	-	-	2,26 (± 0,23)
SANTIAGO DE CUBA	0,0081 (0,0076-0,0091)	0,016 (0,013-0,019)	8,10	12,30	4,64 (± 0,54)
SAN- F3	0,013 (0,0092-0,011)	0,032 (0,025-0,048)	13,0	24,61	2,58 (± 0,34)
SAN-F5	0,019 (0,017-0,022)	0,044 (0,038-0,054)	19,0	33,84	3,658 (± 0,35)

^a: CL₅₀ en mg/L 95 %, límites de confianza entre paréntesis; ^b: factor de resistencia (FR):CL₅₀ cepa a evaluar/CL₅₀ de la cepa ROCKEFELLER; ^c: Desviación estándar (± DE) entre paréntesis. Se evaluó un total de 500 larvas por insecticida.

TABLA 3. Resistencia cruzada a organofosforados en *Aedes aegypti* de SANTIAGO DE CUBA, después de 3 (SAN-F3) y 5 (SAN-F5) generaciones de selección con malation

Insecticida Cepa	^a CL ₅₀ (Límites de confianza)	CL ₉₀ (Límites de confianza)	^b FR ₅₀	FR ₉₀	^c b (± DE)
Temefos					
ROCKEFELLER	0,0012 (0,00092-0,0015)	0,012 (0,0072-0,029)	-	-	1,27 (± 0,18)
SANTIAGO DE CUBA	0,071 (0,067-0,076)	0,11 (0,11-0,12)	59,16	9,16	7,19 (± 0,72)
SAN- F3	0,077 (0,073-0,082)	0,11 (0,102-0,12)	64,16	9,16	8,25 (± 0,93)
SAN-F5	0,079 (0,074-0,082)	0,12 (0,10-0,13)	65,83	10,0	7,99 (± 0,88)
Fention					
ROCKEFELLER	0,0098 (0,0091-0,011)	0,016 (0,014-0,024)	-	-	6,042 (± 1,29)
SANTIAGO DE CUBA	0,052 (0,048-0,056)	0,099 (0,088-0,11)	5,31	6,22	4,59 (± 0,44)
SAN- F3	0,075 (0,071-0,077)	0,092 (0,088-0,097)	7,60	6,13	13,98 (± 1,74)
SAN-F5	0,095 (0,088-0,099)	0,41 (0,38-0,51)	9,70	25,84	1,85 (± 0,38)
Fenitrotion					
ROCKEFELLER	0,00936 (0,0088-0,010)	0,014 (0,0122-0,017)	-	-	7,75 (± 1,16)
SANTIAGO DE CUBA	0,0384 (0,036-0,041)	0,051 (0,048-0,057)	4,10	3,72	10,17 (± 1,09)
SAN- F3	0,0492 (0,046-0,052)	0,065 (0,059-0,076)	5,25	1,26	13,98 (± 1,74)
SAN-F5	0,051 (0,047-0,0531)	0,067 (0,061-0,077)	5,35	4,87	10,57 (± 1,722)

^a: CL₅₀ en mg/L, 95 %, límites de confianza entre paréntesis; ^b: factor de resistencia (FR):CL₅₀ cepa a evaluar/CL₅₀ de la cepa ROCKEFELLER; ^c: Desviación estándar (± DE) entre paréntesis. Se evaluó un total de 500 larvas por insecticida.

los métodos bioquímicos en placas de microtitulación de ELISA para la cepa de SANTIAGO DE CUBA y después de 3 (SAN-F3) y 5 generaciones de

selección (SAN-F5) se muestran en la figura 1. Se observó incremento de la frecuencia del mecanismo de GST desde un valor de frecuencia

en larvas de SANTIAGO DE CUBA de 0,049 a 0,42 en SAN-F5, no observándose ningún incremento significativo en la frecuencia de esterasas, ni de la Ache.

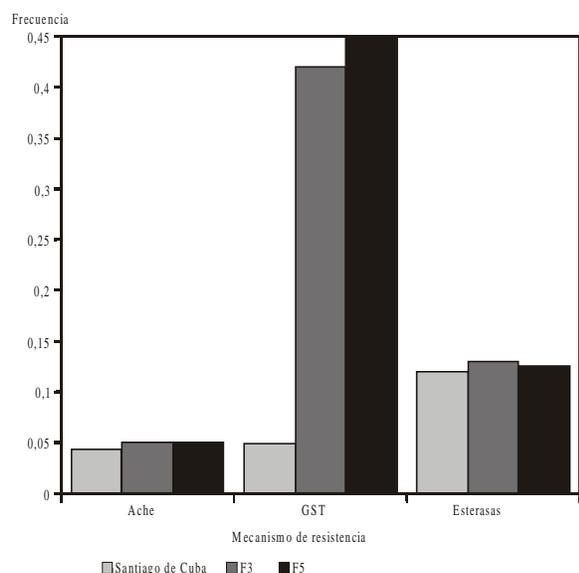


Fig. 1. Frecuencia de los mecanismos de resistencia de Ache alterasa, GST y de esterasas en SANTIAGO DE CUBA y después de 3 (SAN-F3 y 6 (SAN-F6) generaciones de selección con malathion.

Mediante estudios de inhibición de la actividad de esterasas en gel de poliacrilamida, se corroboró que las esterasas no eran responsable de la resistencia cruzada a piretroides durante el proceso de selección. Como se muestra en la figura 2, la esterasa denominada previamente como est. A4, no se inhibió con ninguno de los piretroides, cipermetrina, lambdacialotrina ni ciflutrina, sin embargo un fenómeno curioso resultó ser que esta esterasa sí se inhibió con malaoxón, esto revela que esas enzimas pudieran ser mecanismo de resistencia a este insecticida, pero hasta dónde se necesitaría presionar con este insecticida para lograrlo, sería objeto de investigación. De hecho se calculó la frecuencia en que aparecía amplificada la est. A4, en cada generación de selección y no se encontró ninguna variación significativa hasta la la quinta generación (fig. 3).

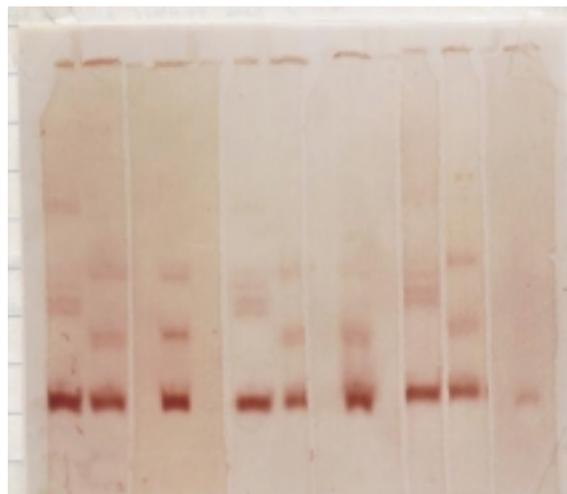


Fig. 2. Inhibición de la actividad de esterasas con malaoxón, deltametrina y lambdacialotrina en larvas individuales de SAN-F5. Enumeradas de izquierda a derecha, las muestras 1, 4 y 7, corresponden a la actividad normal de esterasas; las muestras 2, 5 y 8 al control con acetona; la muestra 3 a inhibición con lambdacialotrina (10^{-2} M); la muestra 6 a inhibición con deltametrina (10^{-2} M); y la última muestra, la 9, corresponde a la inhibición con malaoxón (10^{-2} M).

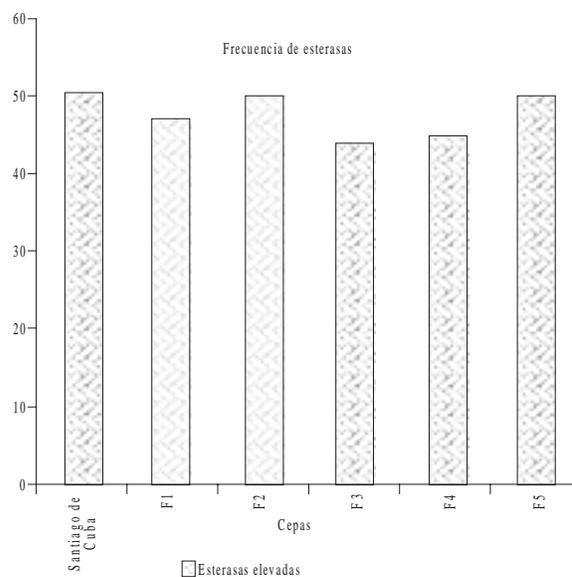


Fig. 3. Variación de la frecuencia en que aparece amplificada la esterasa A4 en las cepas de SANTIAGO DE CUBA, y las sucesivas generaciones de selección (SAN-F1-SAN-F5). Se evaluó un total de 100 muestras de cada cepa.

DISCUSIÓN

No se observó incremento alguno en la cepa de SANTIAGO DE CUBA, después de haber sido sometida a presión de selección con malation durante 5 generaciones. Es de destacar que a pesar del uso de malation en las campañas de control de *Aedes aegypti* en la región del Caribe, existen pocos reportes de resistencia a este insecticida en *Aedes aegypti*.¹⁻⁶ Sin embargo hay notables diferencias en cuanto a los niveles de resistencia a este insecticida y sus mecanismos en *Culex quinquefasciatus*, especie que ha sido sometida a la misma presión de selección con malation en ambiente urbano.⁹

La selección con malation en *Cx. quinquefasciatus* por 22 generaciones incrementó la resistencia a 1208x.¹⁵ Sin embargo, cepas de *Aedes aegypti* que han sido presionadas en el laboratorio con malation, se ha observado solo un incremento de 3x¹⁶ and 5x,¹⁷ después de sucesivas generaciones de selección. Existe algún mecanismo, tanto en condiciones de laboratorio como en el terreno, que impide la evolución de la resistencia a este insecticida en *Aedes aegypti*, pero su uso sí pudiera generar resistencia a otros insecticidas, los cuales son esenciales para el control de mosquitos, como son los piretroides.

Es de destacar que durante el proceso de selección se desarrolló un fenómeno de resistencia cruzada a piretroides, principalmente a deltametrina. Este mismo fenómeno también se reportó al seleccionar una cepa de *Culex quinquefasciatus* de Cuba con malation.¹⁸

En el presente trabajo se encontró amplificada la esterasa A4, previamente descrita por Rodríguez y otros,¹⁹ pero este mecanismo no generó resistencia a malation, sin embargo por los resultados de la inhibición se puede concluir que sí pudieran generar resistencia, pero, al parecer, no por un mecanismo de amplificación genética, sino de secuestro del malaoxón. Existen algunos reportes sobre la asociación del mecanismo de esterases con la resistencia a malation. Utilizando electroforesis en gel de poliacrilamida, Field y otros²⁰ encontraron la presencia de una banda de esterasa amplificada (Est A6) en una cepa tolerante a malation (10x) Villa Palmeras (VP), la cual no se observaba en la cepa *Ae. aegypti* no seleccionada,

ni en la cepa de referencia susceptible. Mazarri²¹ reportó una esterasa clasificada como A5, la cual se encontró en mayor frecuencia en la cepa resistente a malation.

La est. A4 se encontró amplificada en SANTIAGO DE CUBA, la cual se demostró por estudios de sinergismo estar asociada con la resistencia a temefos en esta cepa.⁹ Durante el proceso de selección no hubo cambios significantes en la resistencia a temefos, lo cual se correlaciona con la no-variación de la frecuencia en que se encuentra amplificada la est. A4 durante todo el proceso de selección. La asociación entre la resistencia a temefos y la elevada actividad de esterases sí ha sido reportada por algunos autores.^{12,19, 22-24}

Existen reportes sobre resistencia a piretroides en *Aedes aegypti* de Puerto Rico,²⁵ República Dominicana,³ Venezuela.²⁰ Esta resistencia ha sido asociada con resistencia cruzada a DDT.²⁶⁻²⁷ En este trabajo se encontró un incremento en la frecuencia del mecanismo de GST, que parece estar asociado con el incremento de la resistencia cruzada a piretroides, aunque otros mecanismos también pueden estar actuando. Hemingway y otros²⁵ encontraron que la resistencia a piretroides en cepas de *Ae. aegypti* de Puerto Rico era debido a un incremento en sitios alterados que provocaban insensibilidad nerviosa (gen Kdr), más que a mecanismos metabólicos.

Si bien todavía el uso de malation controla eficazmente las poblaciones de *Aedes aegypti*, porque la evolución de la resistencia es lenta, su continuado uso limita la utilidad de otros insecticidas muy buenos para el control como son los piretroides. Teniendo en cuenta estos resultados se recomienda el monitoreo de la susceptibilidad a los insecticidas piretroides, principalmente deltametrina y sobre todo, en aquellos lugares donde todavía se continúa utilizando malation para el control de *Ae. aegypti*.

SUMMARY

A strain from *Aedes aegypti* (L) collected in the municipality of Santiago de Cuba with low levels of resistance to malathion (1.79 x) was subjected to selection pressure aimed at evaluating the evolution of the resistance to this organophosphate and its usefulness for control. After 5 generations of selection (SAN-F5) with malathion, it was not possible to increase the resistance

and it was obtained a value of resistance factor (FR50) of 2.22x. None or little cross resistance to the following organophosphate insecticides was observed: fenthion, temephos and fenitrothion; however, it was found an elevated cross resistance to deltamethrin pyrethroid, with a value of 287.5x in the third generation of selection. It was also observed cross resistance to other pyrethroids (lambda-cyhalothrin, cypermethrin and ciflutrine). The mechanism of elevated esterases did not generate resistance to pyrethroids, which was corroborated through inhibition gel studies and through the calculation of the frequency in microtitering plaques. Nevertheless, there was an increase in the frequency of the glutathione-s-transferase mechanism from 0.049 in Santiago de Cuba to 0.42 in SAN-F5, which may be associated with the resistance to pyrethroids. The cross resistance to pyrethroids, mainly to deltamethrin, resulting from the selection with malathion may limit the use of these insecticides in the control unless a good strategy for their use is laid down.

Subject headings: MALATHION; INSECTICIDES, ORGANOPHOSPHATE; CULICIDAE.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Georghiou GP, Wirth M, Tran H, Saume F, Knudsen AB. Potential for organophosphate resistance in *Aedes aegypti* in the Caribbean area and neighboring countries. *J Med Entomol* 1987;24:290-4.
- Rawlins SC, Ragoonansingh R. Comparative organophosphorous insecticide susceptibility in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and *Toxorhynchites moctezuma*. *J Am Mosq Control Assoc* 6:315-7.
- Mekuria Y, Gwinn TA, Williams DC, Tidwell MA. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. *J Am Mosq Control Assoc* 7: 69-72.
- Thavaselvam D, Kumar A, Sumodan PK. Insecticide susceptibility of *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* in Panaji, Goa, India. *J Malariol* 1993;7:69-72.
- Rawlins SC, Ou Hing Wan J. Resistance in some Caribbean populations of *Aedes aegypti* to several insecticides. *J Am Mosq Control Assoc* 1995;11:59-65.
- Rawlins SC. Spatial distribution of insecticide resistance in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and its significance. *Pan Am J Public Health* 1998;4:243-51.
- Bisset JA, Navarro A, Marquetti MC. La abundancia larval de mosquitos urbanos durante la campaña de erradicación de *Aedes aegypti* y del Dengue en Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 1985; 37:3-7.
- Bisset JA, Navarro A, Marquetti MC. Algunos aspectos del nicho ecológico de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*. *Rev Cubana Med Trop* 1987;39:2-5.
- Rodríguez MM, Bisset JA, Molina D, Soca A. Malathion resistance in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* as a result of their use by the *Aedes aegypti* control programs. *J Amer Mosq Control Ass* 2000;16(4):324-30.
- Raymond M. Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. *Cah.O.R.S.T.O.M., Ser Entomol Med Parasitol* 1985;22:117-21.
- Finney DJ. Probit analysis. Cambridge:Cambridge University Press.1971. p.333.
- Rodríguez MM, Bisset JA, Molina D, Lauzan L. Detection of resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from Cuba and Venezuela. *J Med Entomol* 2001 (in press).
- Booth JE, Boyland E, Sims P. An enzyme from the rat liver catalyzing conjugation with glutathione. *Biochem J* 1961;79:516-23.
- Rodríguez M, Bisset J, Díaz C, Ortíz E. Determinación de fenotipos de acetilcolinesterasa modificada en *Culex quinquefasciatus* por el Sistema Ultramicroanalítico (S.U.M.A). *Rev Cubana Med Trop* 1993;45:122-7.
- Díaz C, Bisset J, Rodríguez MM. Selección de una cepa de *Culex quinquefasciatus* homocigótica para la resistencia al insecticida organofosforado malation. *Rev Cubana Med Trop* 1993;45 (3).
- Madhukar BVR, Pillai MKK. Development of organophosphorus resistance in Indian strains of *Aedes aegypti* (L.). *Bull WHO* 1993;43:735-42.
- Brown AWA, Abedi ZH. Cross-resistance characteristics of a malathion-tolerant strain developed in *Aedes aegypti*. *Mosq. News* 1960;20:118-24.
- Bisset JA, Rodríguez MM, Soca A. Cross-resistance to malathion in Cuban *Culex quinquefasciatus* induced by larval selection with deltamethrin. *J Amer Mosq Control Ass* 1998;12:109-12.
- Rodríguez MM, Bisset JA, Milá LH, Lauzán L, Soca LA. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 1999;51:83-8.
- Field WN, Hitchen JM, Rees AT. Esterase activity in strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) tolerant and susceptible to the organophosphate insecticide malathion. *J Med Entomol* 1984; 21:412-8.
- Mazarri MB. Insecticide resistance in two field populations of *Aedes aegypti* (L) from Venezuela. Thesis of Master. University of California, Riverside, California.
- Mazarri MB, Georghiou GP. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. *J. Am. Mosq. Control Assoc* 1995;11:315-22.
- Vaughan AD, French-Constant R. Biochemical monitoring of organophosphorus and carbamate insecticide resistance in *Aedes aegypti* mosquitoes from Trinidad. *Med Vet Entomol* 1998;12: 318-21.
- 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.
- Hemingway J, Boddington RG, Harris J. Mechanisms of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) from Puerto Rico. *Bull Ent Res* 1989;79:123-30.
- Chadwick PR, Invest JF, Bowron MJ. An example of cross-resistance to pyrethroids in DDT-resistant *Aedes aegypti*. *Pestic Sci* 1977;15:112-20.
- Prasittisuk C, Busvine JR. DDT -resistant mosquito strains with cross-resistance to pyrethroids. *Pestic Sci* 1977; 8:527-33.

Recibido: 26 de septiembre de 2002. Aprobado: 25 de marzo de 2003.

Lic. María Magdalena Rodríguez. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf" Apartado Postal 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: ciipk@ipk.sld.cu