

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá

Lic. Juan A. Bisset,¹ Lic. María Magdalena Rodríguez² y Dr. Lorenzo Cáceres³

RESUMEN

Se determinaron los niveles de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas, en larvas y adultos de *Aedes aegypti* procedentes de 2 localidades de Panamá (Río Abajo y Victoriano Lorenzo). En larvas, se encontró resistencia a pirimifos metil en las 2 localidades, sin embargo, resultaron susceptibles al resto de los insecticidas organofosforados (temefos, malation, fention, fenitrothion y clorpirifos) y a los piretroides (deltametrina, lambdacialotrina, cipermetrina y ciflutrina). En los ensayos de adultos, de acuerdo con las categorías de la Organización Mundial de la Salud, las 2 localidades resultaron también completamente susceptibles a los piretroides deltametrina, lambdacialotrina, b cipermetrina y ciflutrina.

DeCS: AEDES; INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS; RESISTENCIA A INSECTICIDA; PANAMA.

Dentro del gran número de especies de mosquitos resistentes a la acción de los insecticidas se encuentra el género *Aedes*, que desempeña un importante papel en la transmisión de enfermedades virales. El dengue, fiebre del dengue hemorrágico (FDH) y la fiebre amarilla, son enfermedades víricas transmitidas por esta especie, que causan grandes impactos en la salud pública.¹ Estas enfermedades están diseminadas en áreas urbanas y van aparejadas con la distribución geográfica de su principal vector: *Aedes aegypti* Linneaus.^{2,3}

La reducción de los criaderos y los programas de saneamiento ambiental con la activa participación de la comunidad son importantes componentes dentro de las estrategias de control de *Aedes aegypti*; sin embargo, este último no es suficiente para el control de las poblaciones larvales. En los últimos 15 a 20 años se han utilizado insecticidas organofosforados, incluido temefos granulado para su uso en recipientes de agua doméstica y malation y fention para tratamiento

residual o rociado para reducir las densidades de este vector.^{4,5} Actualmente los insecticidas piretroides son los más utilizados para el control de adultos de *Aedes aegypti*, sobre todo en casos de emergencia.

Las localidades seleccionadas para esta investigación están registradas como zonas de altos índices de infestación de *Aedes aegypti* y presencia de casos de enfermos. Una de estas localidades (Victoriano Lorenzo) fue el primer sitio donde se detectó dengue clásico en 1993. Estas zonas resultan de gran interés entomológico y sanitario, por ser zonas altamente pobladas y de gran actividad comercial. Debido a la importancia del uso de insecticidas en los programas de control de *Aedes aegypti*, este trabajo se propone determinar los niveles de resistencia a estos insecticidas que han sido ampliamente utilizados en estas zonas y, además, analizar otros insecticidas que puedan servir como alternativos para un control efectivo de esta especie en Panamá.

¹ Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar.

² Licenciada en Bioquímica. Investigadora Auxiliar.

³ Biólogo y Médico Entomólogo.

MÉTODOS

Para el trabajo se utilizaron 3 cepas de *Aedes aegypti*: ROCKEFELLER, cepa de referencia susceptible que fue suministrada por el laboratorio del CDC de San Juan de Puerto Rico, y 2 cepas de Panamá:

VICTORIANO LORENZO: cepa de campo colectada en el corregimiento del mismo nombre, ubicado en el distrito oficial de San Miguelito.

RÍO ABAJO: cepa colectada en esta área, la cual corresponde a una zona muy urbanizada de la ciudad de Panamá.

Las colonias fueron establecidas y mantenidas en el insectario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", con temperatura de 25 °C y 65 % de humedad relativa.

Se emplearon los insecticidas siguientes:

- Organofosforados: temefos, malation, fention, fenitrothion, pirimifos metil y clorpirifos.
- Piretroides: deltametrina, lambdacialotrina, cipermetrina y ciflutrina.

BIOENSAYOS DELARVAS

En los bioensayos de la OMS,⁶ se realizaron 5 réplicas de cada concentración del insecticida (20 larvas por réplica), registrándose 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, hallándose la CL_{50} y la CL_{90} a través del programa probit- log.⁷

La acción de 2 sinergistas, S,S,S tributyl phosphorotrithioate (DEF) y piperonyl butoxide (PB) fueron investigados, exponiendo las larvas de cuarto estadio a 0,008 mg/L de DEF ó 5 mg/L de PB durante 4 h previo a la adición de la solución del insecticida.⁸⁻¹⁰ No existió mortalidad del sinergista solo a estas concentraciones.

BIOENSAYOS DE ADULTOS

Los bioensayos se realizaron siguiendo las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁶ para mosquitos adultos.

Las hembras fueron expuestas a papeles impregnados con insecticidas, a dosis diagnósticas sugeridas por la OMS. Cada uno de los insecticidas fue evaluado a través de 4 réplicas, cada una con 25 mosquitos y se expusieron los insectos al papel impregnado con insecticida, colocado en los cilindros plásticos de exposición (kits de la OMS) durante 60 min. No se observó mortalidad en los controles, que consistían en papeles impregnados con silicona. Los resultados fueron analizados sobre la base de criterios de resistencia a insecticidas según la OMS.⁸

RESULTADOS

Para evaluar la resistencia a los insecticidas en la cepa de Panamá, se compararon los parámetros de la resistencia obtenidos con los de la cepa de referencia susceptible, ROCKEFELLER (tabla 1).

En la tabla 2 se muestran los rangos de la concentración letal 50 (CL_{50}), pendiente de la recta (b) y factor de resistencia para diferentes grupos de insecticidas en las cepas de *Aedes aegypti*, procedentes de las zonas Río Abajo y Victoriano Lorenzo.

La cepa Panameña, colectada de la zona Río Abajo, la cual se caracteriza por ser una zona altamente urbanizada con gran actividad comercial, está registrada como una zona crítica en cuanto a los altos índices de infestación de *Aedes aegypti*, y a la presencia de casos de dengue.

La zona Victoriano Lorenzo es una zona menos urbanizada que Río Abajo, pero está también altamente poblada, con más de 300 000 personas, procedentes de áreas del interior del país. Esta zona presenta grandes problemas sanitarios, altos índices de infestación del vector y fue el primer sitio donde se detectó dengue clásico en 1993.

Ambas localidades de Panamá resultan de gran interés sanitario y entomológico, por lo que se realizó su evaluación en cuanto al nivel de susceptibilidad y/o resistencia en larvas a los insecticidas organofosforados (temefos, malation, fention, fenitrothion, pirimifos metil y clorpirifos) y a los piretroides (deltametrina, lambdacialotrina, cipermetrina y ciflutrina). También se evaluó el nivel de resistencia a los piretroides en los mosquitos adultos.

TABLA 1. Nivel de susceptibilidad de la cepa de *Aedes aegypti* de referencia susceptible, Rockefeller

	^a CL ₅₀ (límites de confianza)	^b CL ₉₀ (límites de confianza)	^c b (± DE) ^d
Temefos	0,0127 (0,0116-0,014)	0,0204 (0,017-0,0259)	6,27 (± 0,73)
Malation	0,00103 (0,00084-0,0012)	0,0038 (0,0031-0,00499)	2,26 (± 0,23)
Fention	0,00129 (0,00076-0,0018)	0,00884 (0,00602-0,016)	1,53 (± 0,24)
Pirimifos metil	0,00141 (0,00126-0,00157)	0,00314 (0,0027-0,00382)	3,67 (± 0,31)
Fenitrotion	0,00126 (0,0011-0,0015)	0,00258 (0,0021-0,0037)	4,11 (± 0,52)
Chlorpirifos	0,00687 (0,00619-0,0075)	0,01226 (0,01059-0,0159)	5,1 (± 0,82)
Deltametrina	0,00008 (0,00007-0,00008)	0,00021 (0,00017-0,00028)	2,86 (± 0,28)
Lambdacialotrina	0,00103 (0,00084-0,0012)	0,0038 (0,0031-0,00499)	2,26 (± 0,23)
Cipermetrina	0,00129 (0,00076-0,0018)	0,00884 (0,00602-0,016)	1,53 (± 0,24)
Ciflutrina	0,00126 (0,0011-0,0015)	0,00258 (0,0021-0,0037)	4,11 (± 0,52)

^a: concentración letal media, concentración del insecticida que causa 50 % de mortalidad; ^b: concentración del insecticida que causa 90 % de mortalidad; ^c: pendiente de la línea de regresión de porcentaje de mortalidad vs. logaritmo de la dosis del insecticida; ^d: desviación estándar de los puntos de la línea de regresión.

TABLA 2. Nivel de susceptibilidad y/o resistencia a los insecticidas organofosforados temefos, malation, fention, fenitrotion, pirimifos metil en *Aedes aegypti*, colectados de dos localidades procedentes de Panamá.

Cepas Insecticida	RÍO ABAJO			VICTORIANO LORENZO		
	^a CL ₅₀ (límites de confianza)	^b FR ₅₀	^c b (± DE) ^d	(± DE) ^d CL ₅₀ (límites de confianza)	FR ₅₀	b (± DE)
Temefos	0,0277 (0,025-0,0305)	2,18	5,29 (± 0,57)	0,0206 (0,019-0,023)	1,62	4,95 (± 0,37)
Malation	0,877 (0,832-0,929)	1,97	8,38 (± 1,13)	1,345 (1,226-1,499)	3,02	5,49 (± 0,55)
Fention	0,0211 (0,0189-0,0237)	2,15	3,64 (± 0,27)	0,0314 (0,027-0,035)	3,20	3,29 (± 0,31)
Fenitrotion	0,0453 (0,041-0,049)	4,84	6,21 (± 0,56)	0,0401 (0,037-0,043)	4,28	7,1 (± 0,76)
Pirimifos metil	0,0961 (0,084-0,107)	12,06	3,66 ± 0,44	0,0645 0,061-0,068	8,09	8,50 ± 0,79
Clorpirifos	0,0151 (0,013-0,018)	2,19	3,079 (± 0,29)	0,00526 (0,0041-0,0061)	0,76	3,077 (± 0,58)
Deltametrina	0,0012 (0,0011-0,0015)	4,8	3,088 (± 0,27)	0,00115 (0,0011-0,0013)	4,6	5,05 (± 0,25)
Lambdacialotrina	0,00047 (0,00028-0,00064)	1,56	2,068 (± 0,36)	0,00037 (0,0003-0,00042)	0,35	2,90
Cipermetrina	0,00039 (0,00015-0,00055)	0,30	2,69 (± 0,68)	0,00034 (0,00014-0,00051)	0,26	2,0059
Ciflutrina	0,0004 (0,00027-0,00048)	0,31	2,83 (± 0,49)	0,00060 (0,00024-0,00095)	0,47	1,37 (± 0,25)

^a: concentración letal media, concentración del insecticida que causa 50 % de mortalidad, ^b: factor de resistencia (FR)= CL₅₀ del insecticida en la cepa a evaluar/CL₅₀ de la cepa de referencia susceptible, ^c: pendiente de la línea de regresión de porcentaje de mortalidad vs. logaritmo de la dosis del insecticida, ^d: desviación estándar de los puntos de la línea de regresión.

TABLA 3. Nivel de susceptibilidad y/o resistencia a los insecticidas piretroides lambdacialotrina, ciflutrina, cipermetrina y deltametrina en adultos de *Aedes aegypti*, procedentes de 2 localidades de Panamá

Lambdacialotrina (0,1 %)	RÍO ABAJO		VICTORIANO LORENZO		ROCKEFELLER	
	<i>Knock down</i>	% mortalidad (24 h)	<i>Knock down</i>	% mortalidad (24 h)	<i>Knock down</i>	% mortalidad (24 h)
b cipermetrina (0,1 %)	100	100	100	100	100	100
Ciflutrina (0,1 %)	100	100	100	100	100	100
Deltametrina (0,1 %)	100	100	100	100	100	100
Lambdacialotrina (0,1 %)	100	100	100	100	100	100
Controles	0	0	0	0	0	0

Como se muestra en la tabla 1, estas cepas resultaron susceptibles a todos los insecticidas organofosforados, excepto pirimifos metil, observándose alta resistencia en RÍO ABAJO ($FR_{50} > 10x$) y en VICTORIANO LORENZO, resultó ser moderada (FR_{50} entre 5 y $10x$).

Las larvas colectadas de las 2 localidades resultaron susceptibles a todos los piretroides evaluados con valores de $FR_{50} < 5x$.

En los ensayos de adultos, de acuerdo con las categorías de la OMS (entre 98 y 100 % de mortalidad *susceptibles*, entre 80 y 97 *verificación* y menor que 80, *resistencia*), las 2 localidades mostraron 100 % de mortalidad frente a b cipermetrina, lambdacialotrina, deltametrina y ciflutrina (tabla 3), por lo que los adultos resultaron también susceptibles a todos los piretroides.

DISCUSIÓN

Con el presente estudio se determinaron los niveles de resistencia a insecticidas organofosforados y piretroides en *Aedes aegypti* de 2 localidades de Panamá. El nivel de susceptibilidad en ambas localidades se demostró a través de los bajos valores de FR_{50} , tanto para los organofosforados como para los piretroides; solamente se encontraron altos valores de resistencia a pirimifos metil en RÍO ABAJO y moderados niveles de resistencia a este insecticida en VICTORIANO LORENZO. En estas localidades se dejaron de utilizar insecticidas organofosforados hace aproximadamente 5 años, y como política de uso de insecticidas se ha aplicado malation, sumition y deltametrina en rociamientos ULV intradomiciliarios, con equipo portátil y pesado.

Los insecticidas organofosforados han sido utilizados para el control de *Aedes aegypti* durante los últimos 15 a 20 años en las Américas.⁴ Sin

embargo, los piretroides están siendo actualmente uno de los insecticidas más utilizados en caso de emergencia de dengue como adulticidas. No obstante, en muchas ocasiones *Aedes aegypti* muestra mayor nivel de resistencia a piretroides que a organofosforados, a pesar de su histórico uso. *Hemingway* y otros⁹ encontraron que *Aedes aegypti* procedente de Río Piedras, Puerto Rico, resultó ser resistente a piretroides, sin embargo, no hubo evidencia de resistencia ni a organofosforados ni a carbamatos. También *Rawlins* y *Wan*¹⁰ detectaron muy bajos niveles de resistencia a insecticidas organofosforados tanto en larvas, como en adultos.

En *Aedes aegypti*, colectados en Santiago de Cuba, durante el brote de dengue en Cuba en 1997, se demostró a través de estudios *in vivo* de los mecanismos de resistencia utilizando sinérgicos, que la resistencia a pirimifos metil en esta especie no está asociada con las esterasas, ni con las oxidasas de acción múltiple;¹¹ resultados similares se reportaron también en *Culex quinquefasciatus*.¹²

Sobre la base de los resultados obtenidos, *Aedes aegypti*, procedente de las 2 localidades estudiadas de Panamá resultó ser susceptible a insecticidas, por lo que se recomienda trazar estrategias de uso de estos, sin mezclar, ni alternar insecticidas con igual mecanismo de resistencia, para evitar o retardar la aparición de resistencia y poder lograr un control efectivo de esta especie. Esto hace necesario realizar en Panamá estudios de mecanismos de resistencia y mantener vigilancia en el terreno, mediante el monitoreo de la resistencia en poblaciones de campo de *Aedes aegypti*.

SUMMARY

The levels of susceptibility and/or resistance to insecticides in larvae and adults of *Aedes aegypti* from 2 localities of Panamá (Río Abajo and Victoriano Lorenzo) were determined. Among

larvae, it was found resistance to methyl- pyrimifos in both localities; however, they were susceptible to the rest of the organophosphate insecticides (temephos, malathion, fenthion fenitrothion and clorpirifos) and to pyrethroids (deltamethrin, lambda-cyhalothrin, cypermethrin and cyfluthrin. In the trials carried out in adults, according to the categories of the World Health Organization, the 2 localities proved to be completely susceptible to deltamethrin, lambda-cyhalothrin, b cypermethrin and cyfluthrin.

Subject headings: AEDES; INSECTICIDES, ORGANO-PHOSPHATE; INSECTICIDE RESISTANCE; PANAMA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lehane MJ. Biology of blood-sucking insects. London: Harper Collins Academic. 1991: 288.
2. OMS. Geographical distribution of arthropod-borne diseases and their principal vector. OMS/VBC/89.967,134 PP.
3. Gubler D. Dengue/ dengue hemorrhagic fever in the America: Prospects for the year 2000. En: Dengue, a worldwide problem, a common strategy. Mexico DF:Halstead and Gómez; 1992. p. 329.
4. 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.
5. Gratz NG. Emergency control of *Aedes aegypti* as a disease vector in urban areas. J Am Mosq Control Assoc 1991;7:353-65.
6. OMS. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. 1981. WHO/VBC/81.807.
7. Raymond M. Presentation d'une programme d'analyse log-probit pour microordinateur cahiers Orstrom Sér. Ent Med Parasitol 1985;23:117-21.
8. World Health Organization. Vector resistance to pesticides. Fifteenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. 1992; p. 62.
9. Hemingway J, Boddington RG, Harris J. Mechanisms of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) from Puerto Rico. Bull Entomol Res 1989;79:123-30.
10. Rawlins SC, Hing Wan JO. Resistance in some Caribbean populations of *Aedes aegypti* to several insecticides. J Am Mosq Control Assoc 1995;11:59-65.
11. Rodríguez MM, Bisset JA, Milá L, Calvo E, Díaz C, 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.
12. Bisset JA, Rodríguez MM, Hemingway J, Díaz C, Small GJ, Ortiz E. Malathion and pyrethroid resistance in *Cx. quinquefasciatus* from Cuba: efficacy of pirimiphos methyl in the presence of at least three resistance mechanisms. Med Vet Entomol 1991; 5:223-8.

Recibido: 26 de septiembre de 2001. Aprobado: 8 de mayo de 2003.

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