

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos

Lic. María Magdalena Rodríguez,<sup>1</sup> Lic. Juan A. Bisset,<sup>2</sup> Téc. Ditter Fernández<sup>3</sup> y Dra. Omayda Pérez<sup>4</sup>

### RESUMEN

Fueron estudiadas 2 cepas de *Aedes aegypti* provenientes de 2 Consejos populares con altos índices de infestación de este vector, producto de la necesidad de hacer un control efectivo de larvas y adultos en el municipio Guanabacoa. Se determinaron los niveles de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas organofosforados, piretroides y un carbamato. Los resultados de los bioensayos en larvas mostraron completa susceptibilidad a los insecticidas organofosforados malation, clorpirifos, pirimifos metil y al carbamato propoxur en ambos consejos populares, sin embargo, se observó alta resistencia a temefos y a fenitron, no se observó resistencia a fenitron en uno de los consejos populares, pero sí en el otro. En el estado adulto, a la dosis recomendada por la Organización Mundial de la Salud o por los fabricantes de los productos, se observó resistencia a malation, fenitron y propoxur, sin embargo, se obtuvieron mejores resultados con los piretroides, con porcentajes de mortalidad por encima de 90 %. Según los resultados obtenidos, utilizando el sinergista SSS tributil fosforotriado (DEF) y piperonil butóxido, se demostró que las enzimas esterases y oxidasas de función múltiple desempeñaron un papel importante en la resistencia a temefos y a fenitron. Por medio de ensayos bioquímicos se demostró que la amplificada actividad de estas enzimas se encontró a elevada frecuencia en ambos consejos populares, al igual que la enzima glutatión transferasa (GST) en uno de los 2 Consejos Populares. Mediante electroforesis en gel de poliacrilamida se observó que en ambos consejos populares prevaleció la amplificada actividad de esterases A4.

**DeCS:** INSECTICIDAS; CONTROL DE MOSQUITOS; AEDES; RESISTENCIA A INSECTICIDAS; INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS; SALUD PUBLICA; CUBA.

Hoy las enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti* se mantienen en áreas tropicales del Tercer Mundo en donde existen simultáneamente las peores condiciones de vida, las cuales constituyen los principales factores de reemergencia. Dentro de estas enfermedades se incluyen la fiebre amarilla, el dengue y la fiebre del dengue hemorrágico (FDH). Estas patologías causan grandes impactos en la salud pública (se considera que la sexta parte de la humanidad se ve afectada por una o más enfermedades de

transmisión vectorial) y están distribuidas en áreas urbanas de Asia, el Pacífico, África, América Latina y el Caribe.<sup>1</sup> Su localización está relacionada con la distribución geográfica de su principal vector: *Aedes aegypti* Linneaus.<sup>2,3</sup>

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 del

<sup>1</sup> Licenciada en Bioquímica. Investigadora Auxiliar.

<sup>2</sup> Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar.

<sup>3</sup> Técnico en Química.

<sup>4</sup> Médico Veterinario.

vector. En los últimos 15-20 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 del vector.<sup>4,5</sup> Actualmente los insecticidas piretroides son los más utilizados para el control de adultos de *Aedes aegypti*, sobre todo en casos de emergencia.

En el presente trabajo se hace una evaluación actual de los niveles de resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* de 2 Consejos Populares del municipio Guanabacoa de Ciudad de La Habana, tanto en larvas como en adultos, a los insecticidas que se utilizan actualmente para el control de la especie en este municipio, así como otros que pueden tenerse como alternativos para el control.

## MÉTODOS

### CEPAS A UTILIZAR

Para el trabajo se utilizaron 3 cepas:

**MAÑANA HABANA NUEVA y NALÓN:** 2 cepas de *Aedes aegypti* provenientes de 2 consejos populares del municipio Guanabacoa, colectadas en enero de 2001.

**ROCKEFELLER:** una cepa de referencia de *Aedes aegypti* susceptible a insecticidas, suministrada por el CDC, San Juan, Puerto Rico.

### INSECTICIDAS GRADO TÉCNICO UTILIZADOS

**Organofosforados:** malation, clorpirifos, metilpirimifos, temefos, fenitrothion y fention.

**Piretroides:** lambdacialotrina, deltametrina, cipermetrina y ciflutrina

**Carbamato:** propoxur.

### BIOENSAYOS DELARVAS

En los bioensayos de la OMS,<sup>6</sup> 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.<sup>7</sup>

### BIOENSAYOS DE ADULTOS

Los bioensayos se realizaron siguiendo las normas de la OMS,<sup>6</sup> para mosquitos adultos.

Las hembras alimentadas con sangre de curiel, fueron expuestas a papeles impregnados con insecticidas, a dosis diagnósticas sugeridas por la OMS o por el fabricante. Cada uno de los insecticidas fue evaluado a través de 4 réplicas, cada una con 25 mosquitos, los papeles impregnados se colocaron en los cilindros plásticos de exposición (*kits* de la OMS) durante 60 min; a este tiempo se pasaron los mosquitos al tubo control, el cual contenía el papel de filtro impregnado con el solvente de cada insecticida a ensayar. 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.

La acción de 2 sinergistas, SSS tributil fosforotritioato (DEF) y piperonil butóxido (PB) fueron investigados. Las larvas de cuarto estadio se expusieron a 0,008 mg/L de DEF o 5 mg/L de PB durante 4 h previo a la adición de la solución del insecticida y se determinó la mortalidad después de 24 h de exposición, hallándose las concentraciones letales 50 y 90 a través del programa probit-logaritmo.<sup>8-10</sup> No existió mortalidad a estas concentraciones del sinergista solo.

**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*.<sup>8</sup> Se homogeneizó cada larva en 200 mL de *buffer* fosfato 0,01 M, pH 7,5. En una placa de microtitulación de ELISA, a 20 mL del homogenato se le añadió 200 mL del sustrato (0,7 mM de b-naftil acetato). Después de dejar transcurrir la reacción por 10 min, se le añadió 40 mL 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 glutatión-S-transferasa (GST) fue determinada de acuerdo con el método de *Booth* y otros,<sup>9</sup> y modificado para

*Aedes aegypti*.<sup>8</sup> A 20 mL de cada homogenato de larva se le añadió 250 mL de una mezcla de reacción de 1-cloro-2, 4 dinitrobenzeno 50 mM; y de glutatión reducido 20 mM. Se deja transcurrir la reacción por 3 min y se lee 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 mmol/mg.min.

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

Se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida (10 %). En tubos Eppendorf (1,5 mL), se adicionaron 10 µL de muestra más 10 µL del indicador xileno cianol (0,02 % en sacarosa 15 %). Se aplicaron 20 µL de esta mezcla 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 M) que contenía 4 mL de cada uno de los sustratos inespecíficos de las esterasas (y b-naftilacetato). Después se añadieron 0,5 g del colorante *fast blue* RR, disuelto previamente en agua destilada y SDS (sodio duodecil 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.

## RESULTADOS

Para llevar a cabo esta investigación se utilizó como control una cepa de referencia susceptible a insecticidas, la cual se evaluó su susceptibilidad en larvas a los insecticidas utilizados como se muestra en la tabla 1.

Dentro de Ciudad de La Habana, el Municipio Guanabacoa es uno de los municipios donde se han detectado gran número de focos de *Aedes aegypti*, por lo cual ha estado sometido a una intensa aplicación de insecticidas, su uso es controlado por la Unidad de Vigilancia y Lucha Antivectorial. Dentro de los consejos populares de mayor afectación se encuentran: MAÑANA HABANA NUEVA y NALÓN. En este trabajo se realizó una evaluación de la susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas que han sido utilizados

en estos consejos populares y a otros que pudieran ser utilizados como alternativos para el control efectivo de esta especie.

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos al evaluar los insecticidas organofosforados: malation, fention, clorpirifos, temefos, pirimifos metil y fenitrotion y el carbamato propoxur en los consejos populares MAÑANA HABANA NUEVA y NALÓN. En el consejo MAÑANA HABANA NUEVA se detectó alta resistencia (FR50 >10x) en larvas a fention y temefos, con un valor de factor de resistencia (FR50) de 16,25 y 29,07 respectivamente. Sin embargo, las larvas de este consejo fueron susceptibles (FR50 < 5x) a los insecticidas organofosforados malation, clorpirifos, pirimifos metil, fenitrotion y al carbamato propoxur. En el consejo popular NALÓN, además de detectarse resistencia a fention y temefos, con valores de FR50 de 9,022x y 129,86x, se observó resistencia a fenitrotion con un valor de 10,41x. Un comportamiento similar tuvo este consejo popular con el consejo MAÑANA HABANA NUEVA en cuanto a la respuesta frente a los otros insecticidas, porque también mostró completa susceptibilidad a malation, clorpirifos, pirimifos metil y al propoxur.

Por ser los insecticidas organofosforados temefos y fention los que más ampliamente se han utilizado para el control focal y perifocal de *Aedes aegypti*, se realizó un estudio *in vivo* para determinar el papel de las esterasas y las oxidasas de función múltiple (OFM), en la resistencia detectada a estos insecticidas en ambos consejos populares. Como se puede observar en la tabla 3, los valores elevados de factor de sinergismo (FS>5), tanto para el sinergista DEF, como para el PB, demuestran que tanto la elevada actividad de esterasas, como las OFM desempeñan un papel importante en la resistencia detectada a fention y a temefos en MAÑANA HABANA NUEVA. Es de destacar que en NALÓN la resistencia disminuyó 16,11 veces al aplicar el DEF, desde un valor de CL50 de 0,151 a 0,00937; sin embargo, disminuyó solamente 1,66 veces al aplicar PB, lo que demuestra que la resistencia detectada en este consejo a temefos fue debido básicamente al mecanismo de esterasas elevadas, no obstante la resistencia a fention estuvo basada básicamente

**TABLA 1.** Nivel de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas organofosforados y a un carbamato (propoxur), en larvas de *Aedes aegypti*, de la cepa de referencia susceptible ROCKEFELLER

Insecticida	CL <sub>50</sub> (Límites de confianza)	CL <sub>90</sub> (Límites de confianza)	b (± DE)
Malation	0,268 (0,20-0,42)	1,832 (0,94-5,82)	1,54 (± 0,22)
Fention	0,00880 (0,0062-0,016)	0,112 (0,046-0,58)	1,16 (± 0,18)
Clorpirifos	0,00115 (0,0010-0,0013)	0,00221 (0,0019-0,0028)	4,52 (± 0,50)
Temefos	0,00119 (0,00092-0,0015)	0,0122 (0,0072-0,029)	1,27 (± 0,33)
Pirimifos metil	0,185 (0,13-0,37)	1,0427 (0,48-5,26)	1,71 (± 0,31)
Fenitrotion	0,0169 (0,012-0,030)	0,082 (0,041-0,33)	1,86 (± 0,31)
Propoxur	0,122 (0,11-0,14)	0,323 (0,26-0,45)	3,04 (± 0,31)

**TABLA 2.** Nivel de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas organofosforados y a un carbamato (propoxur), en larvas de *Aedes aegypti*, colectadas del consejo popular MAÑANA HABANA NUEVA y NALÓN del municipio de Guanabacoa

Insecticida	Consejo Popular					
	MAÑANA HABANA NUEVA			NALÓN		
	CL <sub>50</sub> (Límites de confianza)	FR <sub>50</sub>	b (± DE)	CL <sub>50</sub> (Límites de confianza)	FR <sub>50</sub>	b (± DE)
Malation	0,778 (0,71-0,86)	2,90	4,075(± 0,47)	0,646 (0,58-0,71)	2,41	4,88 (± 0,53)
Fention	0,143 (0,10-0,28)	16,25	1,21 (± 0,22)	0,0794 (0,072-0,074)	9,02	8,89 (± 0,21)
Clorpirifos	0,00224 (0,00092-0,0035)	1,95	4,52 (± 0,50)	0,00576 (0,0052-0,062)	5,00	5,59 (± 0,74)
Temefos	0,0346 (0,029-0,039)	29,07	3,54 (± 0,44)	0,151 (0,089-0,45)	126,89	0,96 (± 0,19)
Pirimifos metil	0,117 (0,098-0,13)	0,63	2,47 (± 0,23)	0,253 (0,20-0,29)	1,36	4,66 (± 0,74)
Fenitrotion	0,057 (0,05-0,06)	3,37	5,58 (± 0,39)	0,176 (0,12-0,23)	10,41	1,38 (± 0,29)
Propoxur	0,257 (0,17-0,32)	2,11	2,10 (± 0,31)	0,437 (0,39-0,48)	3,58	6,74 (± 0,63)

en el mecanismo de las oxidasas, dado por el valor de sinergismo de 6,40.

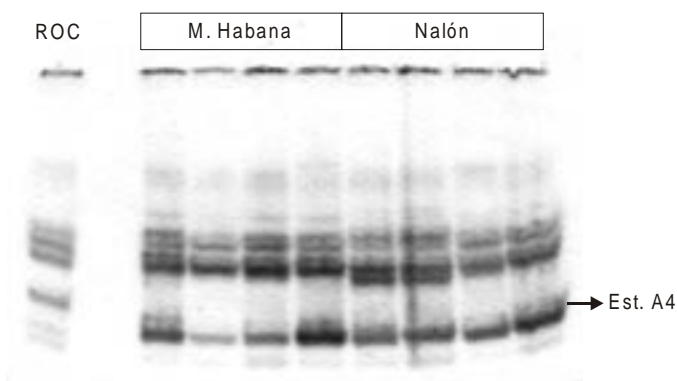
Teniendo en cuenta el papel de las esterasas en la resistencia a temefos y fention, se determinó a través de métodos bioquímicos la frecuencia en que este mecanismo se encontraba elevada en ambos consejos populares (tabla 4).

En el consejo popular del NALÓN se observó la presencia del mecanismo de esterasas elevadas en una mayor frecuencia (71 %) que en MAÑANA HABANA NUEVA, lo cual se correlaciona muy bien con la más alta resistencia a temefos, detectada en NALÓN; así como la alta disminución de la resistencia a temefos al aplicar el sinergista DEF, el cual es un inhibidor de estas enzimas esterasas.

Los resultados de la electroforesis en ambos consejos populares revelaron la presencia de la esterasa A4 amplificada, la cual puede ser la responsable de la alta resistencia detectada a temefos en ambos consejos populares y puede ser que también esté asociada con la resistencia a fention; pero esto último queda aún por dilucidar. Se observa, además, la presencia de otra esterasa, la cual aparece amplificada en la cepa estudiada, pero no en la cepa susceptible; esto implica que puede estar relacionada también con la resistencia a temefos. Esta esterasa aún no ha sido clasificada, solo se conoce que es esterasa tipo A por su especificidad por reaccionar con a naftil acetato, lo cual se conoce por su coloración en el gel, pero será objeto de futuras investigaciones (fig.).

**TABLA 3.** Variación de la resistencia a los insecticidas organofosforados temefos y fention por la acción de los sinergistas DEF y Pb en las cepas MAÑANA HABANA NUEVA y NALÓN, expresado como factor de sinergismo (FS)

Consejo Popular	Insecticida	
	Temefos	Fention
MAÑANA HABANA NUEVA		
CL <sub>50</sub> + DEF	0,00061	0,00463
(Límites de confianza)	0,00048-0,00076	(0,0039-0,0052)
FS	56,72	30,88
(± DE)	1,41 (± 0,2)	5,42 ± 0,85
CL <sub>50</sub> + PB	0,00204	0,00926
(Límites de confianza)	0,0014-0,0039	(0,0085-0,010)
FS	16,96	15,44
(± DE)	1,0 (± 0,20)	4,54 (± 0,51)
NALÓN		
CL <sub>50</sub> + DEF	0,00937	0,12
(Límites de confianza)	0,0082-0,012	0,082-0,25
FS	16,06	0,66
(± DE)	4,15 (± 0,78)	1,24 (± 0,20)
CL <sub>50</sub> + PB	0,099	0,0124
(Límites de confianza)	0,075-0,15	(0,011-0,014)
FS	1,52	6,40
(± DE)	1,71 (± 0,24)	3,30 (± 0,36)



**Fig.** Actividad incrementada de la esterasa A4 en las 2 cepas de *Aedes aegypti*, provenientes de los consejos populares MAÑANA HABANA NUEVA y NALÓN, comparada con la actividad de estas enzimas en la cepa susceptible de referencia ROCKEFELLER.

**TABLA 4.** Frecuencia en que aparecen los mecanismos de resistencia basados en la elevada actividad de esterases y glutatión-S-transferasa (GST) en *Aedes aegypti* de los consejos populares NALÓN y MAÑANA HABANA NUEVA

Frecuencia (%)	Consejo Popular	
	MAÑANA HABANA NUEVA	NALÓN
Esterasas	58 (95) a	71 (95)
GST	18,35 (190)	57 (190)

a: total de larvas evaluadas.

También se evaluó en adultos el nivel de susceptibilidad a los piretroides en el consejo popular MAÑANA HABANA NUEVA (tabla 5).

De acuerdo con la dosis diagnóstico recomendada por la OMS para *Aedes aegypti*, y a los criterios de resistencia de la OMS (< 80 %

de mortalidad, resistencia; entre 80 y 98 % verificación y > 98 % son susceptibles), se observó resistencia a malation, propoxur y DDT; sin embargo, completa susceptibilidad se observó a los piretroides ciflutrina, betacipermetrina y lambdacialotrina.

Es de destacar que los adultos resultaron resistentes a malation, sin embargo, las larvas mostraron completa susceptibilidad; las causas de esta diferencia pueden ser por distintos mecanismos que se seleccionen en los diferentes estadios del mosquito o puede ser la dosis del insecticida utilizada para los bioensayos de adultos, la cual fue la recomendada por la OMS para *Ae. aegypti* en 1992.<sup>11</sup>

**TABLA 5.** Nivel de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas organofosforados (malation, clorpirifos y fenitroion), carbamato (propoxur), piretroides (deltametrina, ciflutrina, b cipermetrina y lambdacialotrina) y al organoclorado DDT en adultos de *Aedes aegypti* de las cepas de Guanabacoa y ROCKEFELLER

Insecticida (Dosis)	Tiempo de exposición	Cepas		
		MAÑANA HABANA NUEVA % de mortalidad 24 h	NALÓN % de mortalidad 24 h	ROCKEFELLER % de mortalidad 24 h
Deltametrina (0,1 %)	1 h	94,94	100	100
Ciflutrina (0,15 %)	1 h	99,16	85,1	100
b cipermetrina (0,1 %)	1 h	98,9	98,39	100
Lambdacialotrina (0,1 %)	1 h	93,85	94,20	100
DDT (4 %)	0,5 h	12,63	42,3	100

## DISCUSIÓN

Con el presente trabajo, se determinaron los niveles de resistencia en *Aedes aegypti* procedentes de 2 consejos populares del municipio Guanabacoa, usando diferentes técnicas para su monitoreo. Es de destacar que ambos consejos populares han sido sometidos a una alta presión de selección con insecticidas desde 1997 hasta la fecha, donde los insecticidas más utilizados han sido clorpirifos con DDVP y lambdacialotrina. En larvas se observó resistencia a temefos y a fenitroion en ambos consejos populares, es de señalar que la resistencia a temefos en NALÓN fue bastante elevada comparada con el otro consejo popular. Un hecho interesante es que a pesar del uso de este insecticida para el control de *Aedes aegypti* existen pocos reportes de resistencia en esta especie.<sup>4,11-16</sup> Wirth y otros<sup>17</sup> seleccionaron una cepa de *Ae. aegypti* resistente a temefos durante 13 generaciones, y esta selección generó resistencia cruzada al insecticida piretroide permetrina. La resistencia a temefos puede haber sido generada debido a su uso sostenido para el control de esta especie o puede ser el resultado de resistencia cruzada, debido al uso de clorpirifos. El hecho de que existan altos niveles de resistencia cruzada entre clorpirifos y temefos, sugiere que el mecanismo de resistencia a temefos es el que le confiere protección a clorpirifos.<sup>18</sup>

Se identificó, con la utilización del PB, que el mecanismo mediado por OMF desempeñó un papel importante en la resistencia a los insecticidas temefos y fenitroion. Por otra parte, el estudio con el sinergista DEF permitió concluir que el mecanismo de esterasas elevadas estuvo involucrado en la resistencia a temefos, desempeñando un papel

determinante en los altos niveles de resistencia a este insecticida en los 2 consejos populares evaluados.

En el presente estudio, el mecanismo de resistencia a temefos se investigó a través del uso de sinergistas, por los métodos bioquímicos y mediante electroforesis en gel de poliacrilamida. Este mecanismo de resistencia es asociado con la resistencia a clorpirifos y a temefos en *Aedes aegypti* de Venezuela,<sup>19</sup> Trinidad<sup>20</sup> y Cuba.<sup>15,21</sup> Existen reportes de resistencia a temefos en *Aedes aegypti*, asociada con el mecanismo de elevada actividad de esterasas, utilizando sinergistas y métodos bioquímicos.<sup>16</sup> Además, esto ha sido ya confirmado por estudios de inhibición en gel de poliacrilamida, donde quedó demostrado el papel de la esterasa A4 en la resistencia a temefos.<sup>20</sup>

En los resultados de la electroforesis realizada en NALÓN, consejo popular donde se encontró mayor resistencia a temefos y más alta frecuencia del mecanismo de esterasa, también se encontró incrementada la esterasa A4. Según lo encontrado por Mazarri<sup>18</sup> 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 movilidad relativa de 1,00.<sup>22</sup> Producto de la nomenclatura de estas esterasas se dificulta su comparación.

Los resultados de las pruebas de adultos indicaron que existió susceptibilidad a los piretroides, excepto para deltametrina, que se encontró en verificación en el consejo popular MAÑANA HABANA NUEVA. Ya se ha descrito resistencia a piretroides en *Ae. aegypti* de Puerto Rico,<sup>23</sup> de

República Dominicana,<sup>12</sup> y Venezuela.<sup>18</sup> La resistencia a piretroide ha sido asociada con resistencia cruzada a DDT.<sup>24-26</sup> Sin embargo, en los resultados de este trabajo se encontró resistencia a DDT y no a piretroides. *Hemingway* y otros<sup>23</sup> encontraron que la resistencia a piretroides en *Ae. aegypti* de Puerto Rico estaba basada en el gen Kdr de insensibilidad nerviosa y no en mecanismos metabólicos.

#### SUMMARY

2 strains of *Aedes aegypti* from 2 people's councils with high indexes of infestation of this vector were studied due to the need of carrying out an effective control of larvae and adults in the municipality of Guanabacoa. The levels of susceptibility and/or resistance to organophosphate insecticides, pyrethroids and a carbamate were determined. The results of the bioassays in larvae showed a complete susceptibility to organophosphate insecticides, malathion, clorpirifos, methyl-pyrimifos and propoxur carbamate in both people's councils. However, it was observed a high resistance to temephos and fenitrothion. No resistance to fenitrothion was found in one of the people's councils. At the adult stage and at the dose recommended by the World Health Organization or by the product manufacturers, it was observed resistance to malathion, fenitrothion and propoxur; nevertheless, better results were obtained with the pyrethroids, with mortality percentages over 90 %. According to the results obtained, by using the SSS tributyl phosphotriptide synergist (DEF) and piperonyl butoxide, it was demonstrated that the multiple function esterases and oxidases played an important role in the resistance to temephos and fenitrothion. It was proved that the amplified activity of these enzymes was at an elevated frequency in both people's councils, the same as the glutathione transferase (GST) in one of the 2 people's councils. It was observed that in both people's councils prevailed the amplified activity of A4 esterases by polyacrylamide gel electrophoresis.

**Subject headings:** INSECTICIDES; MOSQUITO CONTROL; AEDES; INSECTICIDES RESISTANCE; INSECTICIDES, ORGANOPHOSPHATE; PUBLIC HEALTH; CUBA.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lehane MJ. Biology of blood-sucking insects. London: Hammersmith; 1991p.288.
- OMS. Geographical distribution of arthropod-borne diseases y their principal vector. OMS/VBC/89.967, 1989.p.134.
- Gubler D. Dengue/ dengue hemorrhagic fever in the America: prospects for the year 2000. En: Dengue, a worldwide problem, a common strategy. México, DF. 1992; p.329.
- Georghiou GP, Wirth M, Tran H, Saume F, Knudsen AB. Potential for organophosphate resistance in *Aedes aegypti* in the Caribbean area and neighbouring countries. J Med Entomol 1987;24:290-4.
- Gratz NG. Emergency control of *Aedes aegypti* as a disease vector in urban areas. J Am Mosq Control Assoc 1991;7:353-65.
- OMS. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. 1981. WHO/VBC/81.807.
- Raymond M. Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour microordinateur cahiers Orstrom Sér Ent Méd Parasitol 1985;23:117-21.
- Rodríguez MM, Bisset J, Milá L, Molina DF, Lauzan L. Detection of resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from Cuba and Venezuela. J Med Entomol 2001;38:623-8.
- Booth J, Boyland E, Sims P. An enzyme from the rat liver catalyzing conjugation with glutathione. Biochem J 1961;79:516-23.
- Rodríguez MM, Bisset JA, Díaz C, Ortiz E. Determinación de fenotipos de acetilcolinesterasa modificada en *Culex quinquefasciatus* por el Sistema Ultramicroanalítico (SUMA). Rev Cubana Med Trop 1993;45:122-7.
- World Health Organization. Vector resistance to pesticides. Fifteenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control 1992.p.62.
- 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.
- Mekuria Y, Gwinn TA, Williams DC, Tidwell MA. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. J Am Mosq Control Assoc 1991;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.
- 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.
- 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.
- Mazarri MB. Insecticide resistance in two field populations of *Aedes aegypti* (L) from Venezuela. Thesis of Master. 1994. 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.
- Rodríguez MM, Bisset JA, Soca A. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae) from Cuba. J Med Entomol 2002; (en prensa).
- 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;21:412-8.
- 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.
- McDonald AE, Wood RJ. Mechanisms of DDT resistance in larvae of the mosquito *Aedes aegypti* L. Pestic Sci 1979;10:375-82.

Recibido: 19 de octubre de 2002. Aprobado: 12 de marzo de 2003. Lic. María Magdalena Rodríguez. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf". Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf: 2020426. Correo electrónico: ciipk@ipk.sld.cu