

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba

Lic. Domingo Montada Dorta,¹ Lic. Mayda Castex Rodríguez,² Lic. Silvia Suárez Delgado,³ Dra. Daisy Figueredo Sánchez⁴ y Téc. Maureen Leyva Silva⁵

RESUMEN

Se determinó el nivel de susceptibilidad y/o resistencia de mosquitos adultos en una cepa de *Aedes aegypti* (L) colectada en el municipio Playa, Ciudad de La Habana, en relación con los insecticidas lambda-cialotrina, clorpirifos y cipermetrina. Los resultados demostraron que la cepa en estudio no es resistente para los insecticidas lambda-cialotrina y cipermetrina (FR < 5X) y para el insecticida clorpirifos se comporta igual de susceptible que la cepa de referencia CAREC (FR = 1).

Palabras clave: Resistencia a insecticidas, *Aedes aegypti*, adulto, Cuba.

En la mayoría de los países de América Latina y el Caribe se notifican casos de dengue hemorrágico y se considera que esta forma de la enfermedad se está haciendo gradualmente endémica en varios países, al igual que en Asia. A partir de 1980 se observa un franco incremento de la transmisión del dengue en la región, a pesar del marcado subregistro de la ocurrencia de casos en la mayoría de los países; los índices de infestación por *Aedes aegypti* han sido los más elevados en comparación con los registrados en las décadas de los años 50 y de los 60, cuando se llevaron a cabo las campañas de erradicación del vector.¹

Hoy las enfermedades transmitidas por *Aedes aegypti* se mantienen en áreas tropicales del tercer

mundo, donde existen simultáneamente las peores condiciones de vida, las cuales constituyen los principales factores de reemergencia.²

La reducción de los criaderos y los programas de saneamiento ambiental son importantes componentes dentro de las estrategias trazadas, sin embargo, no han sido suficientes para el control de las poblaciones de este vector; por tal motivo durante los últimos 40 años, el control de los mosquitos se ha logrado principalmente por métodos químicos.³ La presión de insecticidas ha dado lugar al desarrollo generalizado de resistencia en muchas especies y por consiguiente a la pérdida de efectividad del tóxico en cuestión. La resistencia de *Aedes aegypti* a temefos y a malatión se ha

¹ Licenciado en Ciencias Biológicas. Investigador Auxiliar. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

² Licenciada en Ciencias Biológicas. Investigadora Agregada. IPK.

³ Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Licenciada en Ciencias Biológicas. Investigadora Agregada. IPK.

⁴ Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Especialista de I Grado en Higiene y Epidemiología. Provincia Santiago de Cuba.

⁵ Técnico en Química. IPK.

difundido por todo el Caribe y en algunos países de América Central y América del Sur, además de la resistencia a fenitrotión desarrollada en otros países.³

En 1981 se registró una epidemia de dengue hemorrágico en Cuba. Se notificaron un total de 344 203 casos, de estos fueron clasificados como graves 10 312 y se registraron 158 defunciones, de las cuales 101 fueron niños.⁴

A partir de entonces comenzó en Cuba una intensa campaña para el control de *Aedes aegypti*, en la cual el uso de insecticidas ha desempeñado un papel importante dentro de los programas de control, no solo aquí, sino también en América.

Se utilizaron insecticidas químicos como malatión para el control de mosquitos adultos, temefos y fentión para el control larval y tratamientos perifocales, respectivamente. Desde 1986 se comenzaron a utilizar insecticidas piretroides;⁵ a partir de esa fecha, a excepción de la provincia Ciudad de La Habana, el resto de la isla estaba negativa para el vector, manteniéndose esta provincia positiva hasta la fecha.

Playa es uno de los municipios de la capital que ha mantenido la positividad a *Aedes aegypti*, a pesar de las medidas y los medios empleados para controlar al vector, siendo el municipio por donde comenzó la epidemia de dengue de 2001. Por la importancia del uso de los insecticidas en los programas de control de *Aedes aegypti*, este trabajo se propuso determinar los niveles de resistencia a los insecticidas utilizados, con el objetivo de trazar futuras estrategias de uso y posibles alternativos.

MÉTODOS

Cepas de mosquitos

Se utilizó una cepa de *Aedes aegypti* procedente del municipio Playa de Ciudad de La Habana, Cuba, la cual fue colectada en estadios inmaduros (larvas y pupas) a partir de una población natural de las áreas de salud "28 de Enero" y "Jorge Luis Ramírez", en diciembre de 2001. Esta cepa fue sometida a condiciones estándar de cría en el insectario hasta completar su desarrollo a estado adulto, con la cual se estableció y se mantuvo una

colonia que permanece, con fines de estudios, en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Además fue utilizada una cepa de referencia susceptible denominada CAREC, suministrada por el *Caribbean Epidemiologic Center* de Trinidad Tobago, como comparación para los datos obtenidos en el laboratorio de la cepa en estudio.

Insecticidas

Siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (instrucciones para la preparación de los papeles impregnados con insecticidas para las pruebas de susceptibilidad o resistencia en insectos. OMS 1970) se prepararon soluciones en el laboratorio de control químico del IPK a partir de los estándares analíticos de los insecticidas cipermetrina 92 % y clorpirifos 90 % de pureza suministrados por Chemotécnica S.A., y lambdacialotrina 98,7 % de pureza suministrado por Syngenta Iberoamericana S.A., para impregnar los papeles con los insecticidas a evaluar a las dosis recomendadas por la OMS (1992):⁶ clorpirifos 1 %, lambdacialotrina 0,1 % y cipermetrina 0,1 %. Los papeles utilizados en los bioensayos se impregnan por el Laboratorio de Control Químico desde 1984, el papel que se utilizó es el Whatmann No.1, con una superficie a tratar de 180 cm² (12 x 15 cm) quedando impregnado a con 648 mg de la mezcla de insecticida, es decir 3,6 mg ia/cm², los que se han utilizado en diferentes investigaciones.⁷⁻¹²

Impregnación de papeles

Partiendo de la relación peso/volumen 1g= 1 mL; de aquí que 648 mg= 0,648 g=0,7g= 0,7 mL, entonces al impregnar cada papel debe tener 0,7 mL de la solución insecticida y completar hasta 2 mL con acetona, volumen de solución de insecticida necesario para impregnar toda la superficie del papel. Estos 2 mL se impregnan en el papel de forma manual con una pipeta de esa capacidad en forma recta y uniforme hasta agotar la solución y cuidando que quede uniforme, posteriormente se colocan en una tendedera hasta que se sequen y después son empaquetados con las especificaciones de cada uno y sellados.

Para hacer el estudio de calidad y establecer posibles alteraciones, así como validar esta técnica de impregnación se realizaron análisis cuantitativos por cromatografía gaseosa, por el Instituto de Sanidad Vegetal, con el objetivo de determinar la calidad de la impregnación según su concentración al inicio y con el transcurso del tiempo, quedando demostrado al aplicar la prueba t de Student para comparación de 2 muestras diferentes, en este caso nuestros papeles y los papeles impregnados por la OMS, quedó demostrado que no existe diferencia significativa ($p < 0,001$) según consta en el Resultado Científico Relevante al Nivel Nacional "Programa para el Monitoreo de la Resistencia a los insecticidas en Vectores de Importancia Médico-Epidemiológica en Cuba. 5 años de experiencia (Resolución No. 59/95 de la ACC) (datos no publicados).

El nivel de resistencia a los insecticidas se determinó mediante las pruebas de susceptibilidad y/o resistencia para mosquitos adultos, según establece la metodología de la OMS (instrucciones para determinar la susceptibilidad o resistencia en mosquitos adultos a los insecticidas, organoclorados, carbamatos y organofosforados. Establecimiento de la línea-base. Ginebra 1981. WHO /VBC/ 81.805). Se utilizaron lotes de 25 hembras de 3 a 6 d de emergidas, previamente alimentadas con sangre de curiel. Cada prueba contó con 1 grupo control y 4 réplicas, se sometieron a 3 insecticidas que se mantuvieron a una concentración constante durante diferentes tiempos de exposición. Para cada insecticida y tiempo de exposición se realizaron 4 bioensayos de susceptibilidad, con el objetivo de comprobar los resultados obtenidos.

Durante los bioensayos el parámetro humedad relativa se mantuvo entre 68 y 75 %, mientras que la temperatura osciló entre 24 y 27 °C y fotoperíodo de 12 h luz y 12 oscuridad, habitual para la especie.

Se compararon los valores de la TL_{90} de la cepa en estudio con los de la cepa susceptible (CAREC) de referencia, para calcular los factores de resistencia de cada uno de los insecticidas evaluados. Estos fueron calculados como se muestra a continuación:

$$FR = \frac{TL_{90} \text{ de la cepa estudiada (Playa)}}{TL_{90} \text{ de la cepa de referencia CAREC}}$$

Los datos de mortalidad para determinar los valores de los tiempos letales, fueron analizados con el programa Probit-Log de *Raymond*.¹³ Se tuvo en cuenta la fórmula de Abbott¹⁴ para corregir la mortalidad de los mosquitos expuestos a insecticidas cuando la mortalidad en los controles oscilara entre 5-20 %.

Los rangos para evaluar el nivel de resistencia de una cepa de acuerdo con el factor de resistencia quedaron fijados de la forma siguiente: (< 5x) susceptible, (entre 5-10x) moderada resistencia y (> 10x) resistente, según el criterio de numerosos autores, entre ellos, *Rodríguez M* y otros;^{5,15,16} *Bisset J* y otros.¹⁷⁻¹⁹

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los valores de los tiempos letales 50 y 90 (TL_{50} y TL_{90}) y la pendiente de la línea de regresión Probit-Log (b) en adultos de la cepa de *Aedes aegypti* de Playa para el insecticida lambdacialotrina 0,1 % .

Los niveles de susceptibilidad de la cepa Playa fueron comparados con la cepa susceptible de referencia CAREC, para determinar el factor resistencia. La cepa en estudio mostró ser susceptible contra el insecticida lambdacialotrina ($FR < 5x$).

Los resultados obtenidos para determinar los niveles de susceptibilidad al insecticida cipermetrina 0,1 % mediante un programa Probit-Log de computación de *Raymond M*¹³ se observan en la tabla 2, y de acuerdo con esto se puede señalar que la cepa de *Aedes aegypti* del municipio Playa, resultó susceptible, teniendo en cuenta el valor del factor de resistencia (< 5X), determinado al comparar los valores de TL_{50} y TL_{90} obtenidos de la cepa en estudio en relación con los de la cepa de referencia CAREC.

Los resultados obtenidos mediante el programa Probit-Log de computación para determinar los valores de TL_{50} y TL_{90} con el insecticida clorpirifos 1 % se pueden observar en la tabla 3, que muestra el comportamiento de la cepa estudiada en comparación con la cepa de referencia CAREC, estos indican que ante el insecticida clorpirifos la cepa en estudio posee una marcada susceptibilidad, demostrada por los valores del factor de resistencia obtenidos.

TABLA 1. Valores de las TL₅₀ y TL₉₀ y factor de resistencia (FR₅₀ y FR₉₀) para el insecticida lambdacialotrina 0,1 % en mosquitos *Aedes aegypti* adultos del municipio Playa

Cepas	TL ₅₀ (límites de confianza)	TL ₉₀ (límites de confianza)	FR ₅₀	FR ₉₀	B
Playa	0,06 (0,048-0,079)	0,33 (0,25-0,51)	3,0	3,0	1,78
Referencia CAREC	0,02 (0,015-0,03)	0,11 (0,7-0,21)	-	-	2,58

FR: factor de resistencia, B: pendiente de la recta.

TABLA 2. Valores de las TL₅₀ y TL₉₀ y factor de resistencia (FR₅₀ y FR₉₀) para el insecticida cipermetrina 0,1 % en mosquitos *Aedes aegypti* adultos del municipio Playa

Cepas	TL ₅₀ (límites de confianza)	TL ₉₀ (límites de confianza)	FR ₅₀	FR ₉₀	B
Playa	1,43 (1,07-2,19)	4,51 (2,79-9,55)	2,75	2,70	2,09
Referencia CAREC	0,52 (0,37 - 0,98)	1,67 (1,12-2,01)	-	-	2,84

FR: factor de resistencia, B: pendiente de la recta.

TABLA 3. Valores de las TL₅₀ y TL₉₀ y factor de resistencia (FR₅₀ y FR₉₀) para el insecticida clorpirifos 1 % en mosquitos *Aedes aegypti* adultos del municipio Playa

Cepas	TL ₅₀ (límites de confianza)	TL ₉₀ (límites de confianza)	FR ₅₀	FR ₉₀	B
Playa	0,15 (0,12-0,18)	0,54 (0,45-0,71)	1	1,05	2,51
Referencia CAREC	0,15 (0,11-0,18)	0,51 (0,43-0,65)	-	-	2,33

FR: factor de resistencia, B: pendiente de la recta.

No hubo necesidad de desechar o corregir ninguna prueba con la fórmula de Abbott, porque la mortalidad en los controles fue menor que 5 % en los ensayos realizados con todos los insecticidas.

DISCUSIÓN

La cepa de *Aedes aegypti* en estudio con el insecticida lambdacialotrina a la concentración diagnóstico que es de 0,1 %, no mostró resistencia (FR₉₀= 3), sin embargo *Voc Duc Wong* y *Nguyen Thi Bach Nguc*,²⁰ en estudios similares de susceptibilidad realizados en mosquitos adultos de *Aedes aegypti* colectados en varias localidades del sur de Vietnam encontraron que 6 de las cepas mostraron resistencia al insecticida lambdacia-

lotrina 0,1 % y 3 fueron altamente tolerables. Por otro lado los mosquitos adultos de la cepa Playa evaluados con el insecticida clorpirifos 1 % mostraron ser tan susceptibles como la cepa de referencia CAREC (FR₉₀= 1). Mientras que *Bisset* y otros¹⁹ encontraron moderados valores de resistencia (FR₉₀ de 5 a 10x) trabajando con larvas de cepas de *Aedes aegypti* colectadas en Tachira y Miranda, Venezuela, para el insecticida clorpirifos y altos niveles de resistencia (FR₅₀> 10x) para las del estado de Aragua.

Rodríguez M y otros,²¹ evaluando 4 cepas de *Aedes aegypti*, 1 de Cuba y 3 de Venezuela para determinar sus niveles de susceptibilidad en sus estadios larvales ante los insecticidas clorpirifos, lambdacialotrina y cipermetrina, encontraron que

las cepas de Venezuela mostraron de moderado a altos niveles de resistencia al clorpirifos; mientras que para los insecticidas piretroides todas las cepas fueron susceptibles, excepto la cubana que mostró moderados niveles de resistencia a los insecticidas cipermetrina y lambda-cialotrina. Mientras que la cepa Playa en estudio ante el insecticida cipermetrina 0,1 % mostró ser susceptible ($FR_{90} = 2,7$).

Rodríguez M y otros⁵ realizando un estudio para determinar los niveles de susceptibilidad en larvas de una cepa de *Aedes aegypti* colectada en la provincia de Santiago de Cuba, determinaron que presentaba moderados niveles de resistencia ante el insecticida cipermetrina, mientras que para el insecticida clorpirifos presentaba altos niveles de resistencia. En estudios de susceptibilidad realizados por Bisset y otros²² con 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá, encontraron que fueron susceptibles a los piretroides deltametrina, lambda-cialotrina, beta ciflutrina y ciflutrina, mientras que Campos y Andrade²³ estudiando poblaciones larvales de *Aedes aegypti* colectadas en 2 localidades de Campinas, en Brasil, ante el insecticida cipermetrina encontraron que eran susceptibles. Altos niveles de resistencia al clorpirifos han sido reportados en poblaciones de *Aedes aegypti* de Puerto Rico, Santa Lucía y Trinidad.²⁴ En el Norte de Tailandia en el 2003, Somboon y otros²⁵ realizando bioensayos de susceptibilidad en poblaciones de mosquitos adultos de *Aedes aegypti*, determinaron que estas eran altamente resistentes al insecticida DDT y algunas lo fueron también a los insecticidas piretroides permetrina y deltametrina, no detectándose resistencia a la lambda-cialotrina.

Sin embargo, Sames y otros²⁶ encontraron que una cepa de *Aedes aegypti* del Valle de Río Grande de Texas y México es aún susceptible ante los insecticidas malatión, clorpirifos, resmetrina y permetrina. Mazzarri y Georghiou²⁷ caracterizando la resistencia ante insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides de una población de campo de *Aedes aegypti* de Venezuela, encontraron que ante los insecticidas temefos, malatión, pirimifos metil y propoxur no hubo resistencia ($FR \leq 5$) en 3 cepas de *Aedes aegypti*, mientras que la resistencia al clorpirifos, la permetrina y la lambda-cialotrina fue moderada ($FR = 7$).

De acuerdo con estos resultados se demostró que la cepa de mosquitos *Aedes aegypti*, colectada en el municipio Playa, es susceptible ante los insecticidas estudiados no obstante la presión de tratamiento que se ejerce sobre estas poblaciones en el terreno, por lo que es recomendable su uso en las estrategias de control futuras.

State of the resistance to insecticides in adult *Aedes aegypti* mosquitoes from Playa municipality, Havana City, Cuba

SUMMARY

The level of susceptibility and/or resistance of adult mosquitoes to lambda-cyhalothrin, clorpirifos and cypermethrin insecticides was determined in a strain of *Aedes aegypti* (L) collected in Playa municipality, Havana City. According to the results, the strain under study is not resistant to lambda-cyhalothrin and cypermethrin ($FR < 5X$), and it is as susceptible as the CAREC reference strain ($FR = 1$) to chlorpyrifos.

Key words: Resistance to insecticides, *Aedes aegypti*, adults, Cuba

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lehane MJ. Biology of blood – sucking insects. Harper Collins Academic eds. . London UK:Hammersmith;1991. p.288.
2. Valdés L, Carbonell I, Delgado J, Santin M. Enfermedades Emergentes y Reemergentes. Ciudad de La Habana: MINSAP; 1998.
3. OPS. Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas. Guía para su control.; 1995. (Publicación Científica No.548).
4. Kourí G, Guzmán G, Bravo J. Hemorrhagic dengue in Cuba: History of an epidemic. Bull Pan Am Health Organ 1986; 20(1):24-30.
5. Rodríguez M, Bisset J, Mila L, Calvo E, Díaz C, Soca A. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. Rev Cubana Med Trop 1999;51(2):83-8.
6. WHO. Fifteenth report of the WHO. Expert Comité on vector biology and control 1992. Series 818.
7. Tang R, Montada D, Navarro A, González R. Susceptibilidad y/o resistencia en adultos de *A. albimanus* ante insecticidas utilizados por salud pública. Rev Cubana Med Trop 1987;39(1):127-31.
8. Montada D, Tang R, Navarro A, García F. Susceptibility status of *Aedes taeniorhynchus* to organochlorine and organophosphate insecticides. Mem Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 1994; 89(2):251-2.
9. Montada D, Castex M, Fuente O, Fernández I, Leyva M. Determinación de dosis de vigilancia de referencia en *Aedes taeniorhynchus* ante diversos insecticidas. Biomédica Rev Inst Nac Salud Colombia 1997;17(2):140.
10. Montada D, Suárez S, Leyva M. Estado de la susceptibilidad de *Anopheles albimanus* ante insecticidas usados por salud pública y la agricultura en Cuba. Biomédica Rev Inst Nac Salud Colombia 1997;17(2):141-2.
11. Suárez S, Montada D, Fuentes O, Castex M, Leyva M. Efecto de la resistencia a los insecticidas sobre algunos parámetros demográficos de 3 cepas de *Culex quinquefasciatus* en

- condiciones de laboratorio Rev Cubana Med Trop 1998;50(2):124-9.
12. Montada D, Zaldívar J, Castex M, Suárez S, Figueredo D, Leyva M. Efectividad de diferentes insecticidas utilizados para el control de *Aedes aegypti* en Cuba. Rev Latinoam Microbiol 2002;44(4).
 13. Raymond M. Presentation de ún programme d'analyse log-probit por Micro-ordinateur. Cah ORSTOM Ser Entomol. Med Parasitol 1985;22:117-21.
 14. Abbott WS: A method for computing the effectiveness of an insecticide. J Economic Entomol 1925;18:265-7.
 15. Rodríguez M, Bisset J, Rodríguez I, Díaz C. Determinación de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos bioquímicos en 2 cepas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Santiago de Cuba. Rev Cubana Med Trop 1997;49(3):209-14.
 16. Rodríguez M, Bisset J, Ruiz M, Soca A. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticidas induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. J Med Entomology 2002;39(6):882-8.
 17. Bisset J, Rodríguez M, Díaz C, Soca A. Estudio de la resistencia en una cepa de *Culex quinquefasciatus*, procedente de Medellín, Colombia. Rev Cubana Med Trop 1998;50(2):133-7.
 18. Bisset J, Rodríguez M, Díaz C, Soca A. Caracterización de la resistencia a insecticidas organofosforado, carbamatos y piretroides en *Culex quinquefasciatus* del Estado de Miranda, Venezuela. Rev Cubana Med Trop 1999;51(2):89-94.
 19. Voc Duc Wong and Nguyen Thi Bach Nguc. Susceptibility of *Aedes aegypti* to insecticides in South Vietnam. Dengue Bull 1999;23:256-63.
 20. Rodríguez M, Bisset J, Molina D, Lauzán L, Soca A. Detection of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba and Venezuela. J Med Entomol 2001;38(5):623-8.
 21. Bisset J, Rodríguez M, Molina D, Díaz C, Soca A. Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. Rev Cubana Med Trop 2001;53(1):37-43.
 22. Bisset J, Rodríguez M, Cáceres L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismo en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. Rev Cubana Med Trop 2003;53(3):191-5.
 23. Campos J, Andrade C. Larval susceptibility to chemical insecticides of two *Aedes aegypti* populations Rev Saúde Pública 2001;35(3):232-6.
 24. Rawlins SC, Ragoonansingh R. Comparative organophosphorous insecticide susceptibility in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and *Toxorynchites moctezuma*. J Am Mosq Control Assoc 1990;6(3):315-7.
 25. Somboon O, Prapanthadara LA, Suwonkerd W. Insecticide Susceptibility tests of *Anopheles minimus* s.l., *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* in Northern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003;34(1):87-93.
 26. Sames WJ, Bueno R Jr, Hayes J, Olson JK. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Lower Rio Grande Valley of Texas and Mexico. J Am Mosq Control Assoc 1996;12(3):487-90.
 27. 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(3):315-22.
- Recibido: 18 de abril de 2005. Aprobado: 16 de mayo de 2005.
Lic. Domingo Montada Dorta. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6 1/2, AP 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana. Teléf: 202-04-36 al 45.