

Nota científica

Resistencia al Temephos en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del occidente de Venezuela

Resistance to Temephos in populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from western Venezuela

LESLIE ÁLVAREZ¹, ARELIS BRICEÑO², MILAGROS OVIEDO³

Resumen. Los insecticidas organofosforados han jugado un papel muy importante en el control de *Aedes aegypti*, vector de dengue clásico y hemorrágico en Venezuela y otros países de América. Por más de 20 años en Venezuela el Temephos ha sido usado como larvicida y Malathion como adulticida en las campañas de control de este vector. Por estas razones seleccionamos cinco cepas de *A. aegypti* de cuatro estados venezolanos: Trujillo (PTO y SM), Zulia (Z), Falcón (F) y Táchira (TB), para determinar los niveles de resistencia al Temephos. Los bioensayos se realizaron con larvas de IV estadio probando cinco concentraciones del insecticida, siguiendo la metodología de la OMS. Al determinar los rangos de resistencia, las cepas TB, Z, F y SM resultaron ser susceptibles con valores de FR₅₀ menores a 5. La cepa PTO es resistente (6,3 X). Los resultados sugieren que estas poblaciones deben monitorearse continuamente para observar cualquier cambio en los niveles de resistencia al Temephos. Además, se hace necesario conocer la respuesta de cualquier población de *A. aegypti* que se desee controlar con este insecticida en Venezuela, para así garantizar su efectividad.

Palabras clave: Control. Dengue. Larvas. Resistencia.

Abstract. Organophosphate insecticides have played a very important role in the control of *Aedes aegypti*, vector of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Venezuela and other American countries. For more than 20 years in Venezuela, Temephos has been used as a larvicide and Malathion as an adulticide in control campaigns for this vector. For these reasons we selected five strains of *A. aegypti* from four Venezuelan states: Trujillo (PTO and SM), Zulia (Z), Falcón (F) and Táchira (TB), to determine levels of resistance to Temephos. Bioassays were conducted with stage IV larvae testing five insecticide concentrations, according to the WHO methodology. After determining the range of resistance, strains TB, Z, F and SM were susceptible with FR₅₀ values below 5. The strain PTO is resistant (6,3 fold). The results suggest that these populations should be under continual surveillance to observe any change in level of resistance to Temephos. Additionally, it is necessary to know the response of any *A. aegypti* population to be controlled with this insecticide in Venezuela, and that way guarantee its efficacy.

Key words: Control. Dengue. Larvae. Resistance.

Introducción

Avilan (2004) considera el dengue clásico y el dengue hemorrágico como enfermedades reemergentes al analizar el incremento de los casos notificados hasta 60 veces, la hiperendemicidad de los virus 1, 2 y 4 y aislamiento del virus tipo 3 en Nicaragua, Panamá, Costa Rica, Honduras, El Salvador y Venezuela. En este último país, según cifras del Ministerio de Salud durante el año 2005 se detectaron 37.684 casos (6,3% hemorrágico) lo que sugiere un incremento de la casuís-

tica en un 36,6% con respecto al año 2004. Este incremento, según el Director de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud de Venezuela se debió a los largos periodos de lluvia ocurridos durante el año y se sugirió como estrategia campañas para la reducción de criaderos y educación sanitaria (García 2005).

Las medidas de reducción de criaderos y los programas de saneamiento ambiental, tal como lo señalaran Montada *et al.* (2005) aunque son importantes dentro de

las estrategias, no han sido suficientes para el control de *Aedes aegypti* (Linnaeus), cuyo control se ha logrado principalmente por métodos químicos. Sin embargo, el uso continuo de insecticidas químico clorados en la década de los 70, trajo como consecuencia el desarrollo de altos niveles de resistencia al DDT y otros organoclorados, por lo que en los programas de control se introduce otro grupo de insecticidas, los organofosforados, específicamente Temephos granulado aplicado en recipientes de agua doméstica y considerado uno de los mejores quí-

1 Autor para correspondencia. Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba". Venezuela. MSc en Protozoología. Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. hleslieag@hotmail.com

2 Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba". Venezuela. Licenciada en Educación, Núcleo Universitario "Rafael Rangel" Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. arelis_briceño@hotmail.com

3 Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba". Venezuela. Doctora en Ciencias. Núcleo Universitario "Rafael Rangel". Universidad de los Andes. Apdo. 214 Trujillo Venezuela. longipalpis@cantv.net

micos controladores de estadios inmaduros de *Aedes aegypti* y concomitantemente Malathion para el control de adultos.

Desafortunadamente en los últimos años Chávez *et al.* (2005); Braga *et al.* (2004); Rodríguez *et al.* (1999) y Mazzarri y Georghiou (1995) han reportado poblaciones resistentes al Temephos en Cuba, Brasil, Perú y Venezuela y debido a los programas extensivos (durante 15 años o más) de rociamiento con Malathion en algunas áreas del caribe, poblaciones de *A. aegypti* han desarrollado diferentes niveles de resistencia a este insecticida (Rawlins 1998; Mazzarri y Georghiou 1995; Mekiura *et al.* 1991; Rawlins y Ragoonansingh 1990; Georghiou *et al.* 1987).

En Venezuela los estudios de monitoreo de resistencia a insecticidas han revelado que la especie ha desarrollado resistencia a diferentes líneas de insecticidas; tan tempranamente como en 1958 se conoció que *A. aegypti* era resistente al DDT (Quaterman y Schoof 1958). Posteriormente, Mouchet (1967) refiere resistencia al dieldrin/BHC y Georghiou *et al.* (1987) a organofosforados y carbamatos. Mazzarri y Georghiou (1995) detectaron poblaciones de *A. aegypti* de los estados Aragua y Falcón resistentes a Temephos, Malathion, Pirimiphos-methyl, Chlorpyrifos, Propoxur, Permethrin y Lambdacyhalothrin, y recientemente Pérez *et al.* (2001) refiere que poblaciones de esta especie en el estado Aragua son resistentes a los piretroides lambdacyhalotrina, cyflutrina y deltametrina.

Esta situación de variabilidad en la susceptibilidad de *A. aegypti* en los diferentes estados venezolanos a los insecticidas químicos, nos ha motivado a evaluar la susceptibilidad y/o resistencia al Temephos de cinco poblaciones de este vector procedentes de cuatro estados del occidente del país: Trujillo, Zulia, Falcón y Táchira donde una alta casuística de dengue y dengue hemorrágico es reportada.

Materiales y Métodos

Se evaluaron seis cepas de *Aedes aegypti*, una de referencia y cinco de campo procedentes de cuatro estados de la región occidental de Venezuela.

Cepa Rockefeller: cepa de referencia susceptible, que fue gentilmente cedida por los Drs. Gary Clark y Roberto Barrera del Laboratorio del CDC de San Juan de Puerto Rico. En la tabla 1 se presentan las localidades y ubicaciones geográficas de

Tabla 1. Procedencia de las cepas de campo.

Cepas de campo	Localidad	Estado	Coordenadas geográficas
Paramito (PTO)	Ciudad Capital	Trujillo	9°22'N/70°26'W
San Martín (SM)	Valera	Trujillo	9°19'N/70°37' W
Zulia (Z)	Mecocal	Zulia	10°33'17N/71°24'32"W
Falcón (F)	Los Pedros	Falcón	10°48'13N /70°57'14"W
Táriba (TB)	Cárdenas	Táchira	9°25'19"N/72°13'15"W

las cepas de campo. Las cepas PTO y TB se obtuvieron mediante búsqueda activa en floreros y contenedores de agua en cementerios y las restantes se colectaron de contenedores de agua, y todo aquello que pudiera ser considerado un criadero de *A. aegypti* en las diferentes localidades.

Las colonias se establecieron a finales del año 2004 y se mantuvieron en el insectario del Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba" del Núcleo "Rafael Rangel" de la Universidad de los Andes, Venezuela, bajo condiciones controladas de temperatura $26 \pm 2^\circ\text{C}$ y 65% de humedad relativa. El insecticida Temephos 500-E, 50% CE, fue suministrado por la Dra. Darjaniva Molina del Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón", Maracay-Venezuela.

Los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization 1981). Se evaluaron cinco concentraciones que oscilaron entre 0,002 ppm y 0,02 ppm, las cuales ocasionaron entre el 2 y 98% de mortalidad, utilizando veinte larvas de cuarto estadio temprano de cada cepa estudiada mediante cinco réplicas para un total de 100 larvas por concentración. Para la evaluación de la cepa de referencia Rockefeller, el rango de concentraciones osciló entre 0,008 ppm y 0,002 ppm. Todas las soluciones se ajustaron a un volumen final de 1ml con acetona la cual se añadió a 99 ml de agua. Un grupo control fue llevado a la par con los grupos experimentales tratándolo solo con acetona, la cual no causó mortalidad en las larvas. Este ensayo se repitió en tres ocasiones en tres días. La lectura de las mortalidades se realizó a las 24 horas y los resultados se procesaron mediante el Probit analysis program (Raymond, 1985) para obtener las concentraciones letales 50 y 95.

Para evaluar la resistencia al Temephos de las cinco cepas silvestres de *Aedes aegypti* se calcularon los factores de resistencia (FR)₅₀, por comparación de las concentraciones letales 50 de las cepas

de campo con la cepa de referencia, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{FR}_{50} = \text{CL}_{50} \text{ cepa de campo} / \text{CL}_{50} \text{ cepa susceptible (Rockefeller)}.$$

La categorización de las cepas de campo fue hecha siguiendo los criterios de la Organización Mundial de la Salud (1981): $\text{FR} < 5$ = Susceptible y $\text{FR} > 5$ = Resistente.

Resultados

En la tabla 2 se muestran los rangos de las concentraciones letales 50 y 95, pendientes de las líneas de regresión Probit-Log y factores de resistencia para Temephos en las cepas de *Aedes aegypti* procedentes de los estados Trujillo, Zulia, Falcón y Táchira en Venezuela en comparación con la cepa de referencia susceptible.

Las cepas Táriba (TB), Zulia (Z), Falcón (F) y Trujillo (SM) fueron susceptibles al Temephos, con bajos valores en los FR₅₀; 2,24; 1,14; 1,60 y 0,86 respectivamente. Los valores obtenidos en las pendientes de las rectas de regresión, oscilaron entre 3,36 y 4,57 demostrando una respuesta heterogénea de estas cepas de campo con respecto a la cepa de referencia. Con respecto a la cepa Paramito del estado Trujillo los individuos de esta población mostraron resistencia al Temephos con un FR₅₀ 6,34 y el alto valor de la pendiente de la recta de regresión (7,71) nos indica que esta población responde en forma homogénea frente al insecticida.

Discusión

Los resultados revelan que las cepas de *A. aegypti* procedentes de los estados venezolanos Táchira, Zulia y Falcón responden en forma similar frente al Temephos, uno de los insecticidas más utilizados para su control en fase inmadura, coincidiendo con los hallazgos referidos por Mazzarri y Georghiou (1995) en poblaciones de Coro, estado Falcón y Maracay, estado Aragua, cuyos valores en los FR₅₀ fueron menores a cinco, lo que sugiere que son susceptibles al in-

Tabla 2. Concentraciones letales y factores de resistencia al Temephos en larvas de *Aedes aegypti* de cuatro estados del occidente de Venezuela para el año 2005.

Cepas	CL50 (ppm) IC	CL95 (ppm) IC	FR ₅₀	b (± DE)
Rockefeller	0,005	0,0092		6,17
	0,0048 - 0,0052	0,0087-0,0099		(± 0,37)
Zulia (Z)	0,0057	0,0177	1,14	3,36
	0,0055 - 0,0060	0,0161 - 0,0197		(± 0,15)
Táchira (TB)	0,0112	0,0312	2,24	3,68
	0,0105 - 0,0119	0,0275- 0,0363		(± 0,18)
Falcón (F)	0,008	0,0182	1,6	4,57
	0,0077 - 0,0083	0,0165- 0,0205		(± 0,24)
Trujillo Paramito (PTO)	0,0317	0,0517	6,34	7,71
	0,0309- 0,0326	0,0473- 0,0588		(± 0,74)
San Martín (SM)	0,0043	0,0101	0,86	4,43
	0,0041 - 0,0045	0,0093- 0,0111		(± 0,21)

DE: Desviación estándar, IC: Intervalos de confianza $p = 0,05$, b: Pendiente.

secticida. En otros países de América también se han encontrado poblaciones de *A. aegypti* con bajos niveles de resistencia al Temephos, tal es el caso del Perú, donde Chávez *et al.* (2005) reportan poblaciones procedentes de las localidades el Porvenir y Sultana con FR₅₀ de 1,45X y 1,67X respectivamente.

Con las poblaciones obtenidas del estado Trujillo encontramos diferencias en la respuesta al Temephos, así tenemos, que la cepa Paramito (PTO) procedente de un área altamente urbanizada, sujeta a constante presión con insecticidas y con altos índices de infestación del vector y procedencia de la mayoría de los casos de dengue en el estado Trujillo según el Ministerio de Salud (2005), mostró resistencia con un FR₅₀ de 6,34, mientras que la población San Martín, procedente de un área rural, con grandes problemas sanitarios, de poco o ningún acceso a las medidas de control, mostró susceptibilidad al insecticida, probablemente esta diferencia pueda asociarse a la ausencia de presión de selección ejercida sobre la población de San Martín, ratificando lo referido por otros investigadores de que la continua presión con insecticidas conlleva al desarrollo de resistencia (Chávez *et al.* 2005; Bisset 2002).

La homogeneidad en la respuesta de los ejemplares de la cepa PTO frente al larvicida, expresada a través de un alto valor de la pendiente de la recta de regresión ($b = 7,71$) sugieren una alta frecuencia de individuos RR en la población, sobre este aspecto deben llevarse a cabo pruebas bioquímicas para determinar posibles mecanismos de resistencia al insecticida con la finalidad de detectar con precisión el nivel genotípico y diferen-

ciación de individuos resistentes homocigóticos (Bisset 2002).

En Venezuela Bisset *et al.* (2001) encontraron poblaciones de *A. aegypti* procedente del estado Apure resistentes al Temephos con un FR₅₀ de 11,1X; al igual que se han registrado moderados niveles de resistencia en poblaciones de Cuba y Brasil con FR₅₀ de 5,9X y 6,3X respectivamente, pero es importante destacar que en estos tres países aun se encuentran poblaciones susceptibles a este larvicida (Bisset *et al.* 2001; Campos y Andrade 2001). Sobre la base de estos resultados y los obtenidos en el presente estudio, se presenta una diversidad en la susceptibilidad de *A. aegypti* en las diferentes poblaciones de este vector, por lo que se hace necesario e indispensable realizar monitoreos continuos en poblaciones de *A. aegypti* en las diferentes localidades de los estados venezolanos antes de la aplicación del Temephos y así hacer un buen uso de este insecticida en los programas de control.

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de los Andes, Venezuela Proyecto Código C-339-03-03-C. Así mismo agradecen al comité de evaluadores de la Revista Colombiana de Entomología por la revisión y crítica del manuscrito.

Literatura citada

AVILAN, J. M. 2004. Enfermedades Nuevas, emergentes y reemergentes. Gaceta Médica de Caracas (Venezuela) 112 (3): 248-252.
 BISSET, J. A.; RODRÍGUEZ, M. M.; MOLINA, D.; DÍAZ, C.; SOCA, L. 2001. Esterasas elevadas como mecanismo de

resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. Revista Cubana Medicina Tropical 53 (1): 37-43.

- BISSET, J. A. 2002. Uso correcto de Insecticidas: Control de la resistencia. Revista Cubana Medicina Tropical 54 (3): 202-219.
 BRAGA, I. A.; PEREIRA, J. B.; DA SILVA, S.; VALLE, D. 2004. *A. aegypti* resistance to Temephos during 2001 in several municipalities in the state of Rio de Janeiro, Sergipe, and Halagaos, Brazil. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 99 (2): 199-203.
 CAMPOS, J.; ANDRADE, C. 2001. Susceptibilidad larval de duas populacoes de *Aedes aegypti* a insecticidas químicos. Revista de Saúde Pública 35 (3): 232-236.
 CHÁVEZ, J.; CÓRDOVA, O.; VARGAS, F. 2005. Niveles de susceptibilidad a temefos en el vector transmisor del dengue en Trujillo, Perú. Anales de la Facultad de Medicina Lima 66 (1): 53-56.
 GARCÍA, M. 2005. Boletín Epidemiológico Semanal, semana Epidemiológica 52. <http://www.msds.gov.ve/msds/modules>. Fecha de la última revisión: 10 febrero 2006. Fecha último acceso: 09 junio 2006.
 GEORGHIU, G. P.; WIRTH, M.; TRAN, H.; SAUME, F.; KRIUDSEN, B. 1987. Potential for organophosphates resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean area and neighboring countries. Journal of Medical Entomology 24: 290-294.
 MAZZARRI, M. B.; GEORGHIU, G. P. 1995. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. Journal of the American Mosquito Control Association 11: 315-322.
 MEKIURA, Y.; GWINN, T. A.; WILLIAMS, D. C.; TIDWELL, M. A. 1991. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. Journal of the American Mosquito Control Association 7: 69-72.
 MONTADA, D.; RODRÍGUEZ, M.; SUÁREZ, S.; SÁNCHEZ, D.; LEYVA, M. 2005. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio Playa, Ciudad de la Habana, Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical 57 (2): 137-142.
 MOUCHET, J. 1967. La resistance aux insecticides chez *Aedes aegypti* et les espèces voisines. Bulletin World Health Organization (WHO) 36: 569-577.
 PÉREZ, E. E.; FERNÁNDEZ, M. D. 2001. Resistance of *A. aegypti* to pyrethroides in municipalities of Aragua state, Venezuela. In Clark, G., Quiroz M.H. Mosquito Control and Biology in Latin America- AN Eleventh Symposium. Journal of the American Mosquito Control Association 17 (3): 166-180.
 QUATERMAN, K. D.; SCHOOF, H. F. 1958. The status of insecticide resistance in

- arthropods of public health importance in 1956. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 7: 74-83.
- RAWLINS, S. C. 1998. Spatial distribution of insecticide resistance in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and its significance. Revista Panamericana American Journal Public Health 4: 243-251.
- RAWLINS, S. C.; RAGOONANSINGH, R. 1990. Comparative organophosphorus insecticide susceptibility in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and *Toxorhynchites moctezuma*. Journal of the American Mosquito Control Association 6: 315-319.
- RAYMOND, M. 1985. Presentation d' un programme d' analyse log-probit pour microordinateur cahiers Orstrom série Entomologie médicale et Parasitologie 23 (2): 117-121.
- RODRÍGUEZ, M. M.; BISSET, J. A.; MILA, L.; CALVO, E.; DÍAZ, C.; SOCA, L. A. 1999. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical 51: 83-88.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Unpublished document. WHO/VBC. 81.807. 6 p.

Recibido: 03-abr-06 • Aceptado: 13-jun-06