

# Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambda-cialotrina en Colombia

Liliana Santacoloma Varón,<sup>1</sup> Bernardo Chaves Córdoba<sup>2</sup>  
y Helena Luisa Brochero<sup>2</sup>

## Forma de citar

Santacoloma Varón L, Chaves Córdoba B, Brochero HL. Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambda-cialotrina en Colombia. Rev Panam Salud Publica. 2010;27(1):66-73.

## RESUMEN

**Objetivos.** Evaluar el estado de susceptibilidad a insecticidas piretroides deltametrina y lambda-cialotrina y al organoclorado DDT, e identificar los mecanismos bioquímicos asociados con resistencia en 13 poblaciones naturales de *Aedes aegypti* recolectadas en localidades de Colombia donde el dengue es un grave problema de salud pública.

**Métodos.** Se recolectaron y criaron en condiciones controladas formas inmaduras de diferentes criaderos naturales del vector para cada localidad. Con la generación F2 se realizaron bioensayos utilizando las metodologías OMS 1981 (papeles impregnados) y CDC 1998 (botellas impregnadas). En las poblaciones con mortalidades compatibles con disminución de la susceptibilidad, se midieron los niveles de esterasas no específicas (ENE), oxidasas de función mixta (OFM) y acetilcolinesterasa modificada (ACEM) mediante pruebas colorimétricas.

**Resultados.** Todas las poblaciones del mosquito evaluadas evidenciaron resistencia al organoclorado DDT. En cuanto a los piretroides, se encontró resistencia generalizada a lambda-cialotrina pero no a deltametrina. Los mecanismos bioquímicos de resistencia evaluados permitieron encontrar 7 de 11 poblaciones con ENE elevadas y una población con OFM incrementadas.

**Conclusiones.** Se descarta la resistencia cruzada de tipo fisiológico entre el DDT y lambda-cialotrina en las poblaciones de *A. aegypti* evaluadas. La resistencia fisiológica a lambda-cialotrina parece asociarse con el incremento de las ENE. El comportamiento diferencial en los niveles de susceptibilidad y los valores enzimáticos entre poblaciones se asociaron con la variabilidad genética y presión de selección química a nivel local.

## Palabras clave

*Aedes*; DDT; dengue; insecticidas; mosquito; insecticidas organoclorados; resistencia a los insecticidas; Colombia.

La fiebre del dengue es la enfermedad viral más extendida en el mundo (1). En Colombia, 95% de los conglomerados humanos por debajo de los 2 000 msnm

se encuentran infestados con el mosquito vector *Aedes aegypti* (2). Ante la ausencia de una vacuna para humanos, las medidas para el control de la enfermedad consisten en estrategias con enfoque ecosistémico en salud a partir de la participación-acción de las comunidades con el propósito de reducir los sitios de cría del insecto, así como también en la utilización regular de insecticidas químicos dirigidos a las poblaciones naturales del vector (3). Colombia participó en la campaña de erradicación continental del

mosquito *A. aegypti* liderada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), cuya principal estrategia estuvo fundamentada en el uso del organoclorado DDT. Actualmente, el uso del DDT está prohibido y el Programa Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores (PETV) regula la compra y distribución de insecticidas químicos a las secretarías de salud departamentales del país encargadas de la vigilancia entomológica y control del insecto a nivel local. Como insecticidas adulticidas se utilizan

<sup>1</sup> Laboratorio de Entomología-Red Nacional de Laboratorios, Instituto Nacional de Salud de Colombia; Facultad de Agronomía, sede Bogotá, Universidad Nacional de Colombia. La correspondencia debe dirigirse a Liliana Santacoloma Varón, calle 26 No. 51-60, Laboratorio de Entomología-RNL, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: lisantacoloma@gmail.com

<sup>2</sup> Facultad de Agronomía, sede Bogotá, Universidad Nacional de Colombia.

piretroides como deltametrina, lambdacialotrina y ciflutrina y el organofosforado malatión.

En este contexto y teniendo en cuenta las metas del milenio que en materia de control del dengue asumió el país, se hace necesario conocer el estado de la susceptibilidad de las poblaciones naturales de *A. aegypti* a los diferentes insecticidas de uso autorizado en salud pública en Colombia. Durante 2005 y 2007 se llevó a cabo un proyecto nacional financiado por Colciencias y ejecutado por el Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) de la Universidad de Antioquia, el Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), la Universidad Nacional de Colombia, el Instituto Nacional de Salud (INS) y 12 secretarías de salud departamentales. En este proyecto multicéntrico, el INS evaluó la susceptibilidad a diferentes moléculas insecticidas de uso en salud pública por parte de poblaciones naturales de *A. aegypti* en localidades del centro oriente colombiano con alta incidencia de dengue. Los resultados que aquí se presentan corresponden a un estudio que tuvo como objetivos determinar la susceptibilidad a los piretroides lambdacialotrina y deltametrina y al organoclorado DDT por parte de 13 poblaciones de *A. aegypti* mediante dos metodologías de evaluación, e identificar los mecanismos bioquímicos asociados con la resistencia fisiológica a estas moléculas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitios de estudio

Se seleccionaron localidades donde el dengue constituía un grave problema de salud pública, mediante criterios de inclusión definidos con base en altas tasas de incidencia de dengue, recurrencia de valores de índice de Breteau superiores a cinco e historia intensiva de uso de insecticidas para el control del vector durante los últimos cuatro a cinco años. El estudio se llevó a cabo en cinco departamentos en los cuales se seleccionaron entre uno y dos municipios. En cada municipio se escogieron dos áreas geográficas definidas como "comunidades". Una comunidad correspondió a la agrupación de barrios con características sociodemográficas similares. Para efectos del análisis, se supuso que cada comunidad correspondía a una población natural del

mosquito evaluada. En total se evaluaron 13 comunas en ocho municipios de cinco departamentos del centro oriente del país (figura 1).

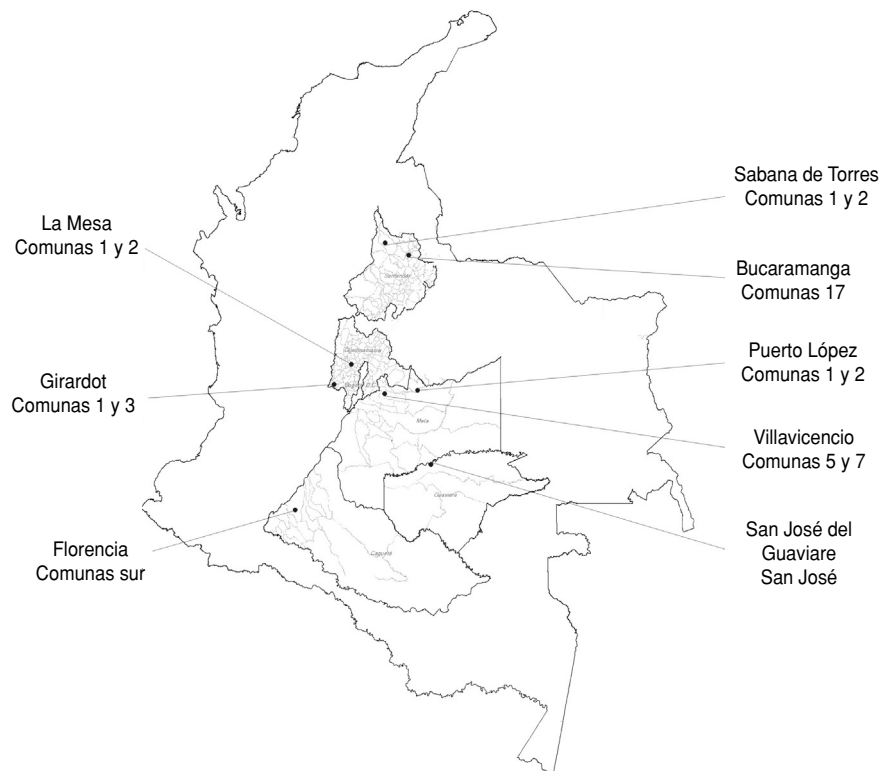
### Material biológico

Durante 2006 y el primer semestre de 2007 se recolectaron formas inmaduras de *A. aegypti* de las 13 comunas evaluadas, utilizándose la estrategia de muestreo estandarizada para el levantamiento de índices de infestación aélicos propuesta por la OPS (4). Para cada población natural del vector objeto de evaluación, se realizó una única recolección de material biológico en los sitios de cría del insecto en los predios inspeccionados de cada localidad. A partir de este material biológico se obtuvieron generaciones F1 y F2 en condiciones controladas de laboratorio: 24 °C ± 4 de temperatura, 70% de humedad y un fotoperíodo de 12:12 horas. Cien hembras de la generación F1 con dos días de vida se almacenaron a -70 °C para determinar mecanismos de resistencia, en tanto que hembras de la F2 se utilizaron para los bioensayos.

### Determinación de susceptibilidad

En Colombia, los bioensayos de papeles impregnados de la Organización Mundial de la Salud (OMS) constituían la única metodología estandarizada para evaluar la susceptibilidad a insecticidas (5). Con el propósito de implementar la metodología de botellas impregnadas desarrollada por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), se evaluaron las mismas poblaciones e insecticidas utilizando las dos metodologías (6). Cada bioensayo para evaluar un insecticida consistió en cuatro réplicas del tratamiento y un control. Una réplica estuvo representada por un tubo (OMS) o una botella (CDC) donde se colocaron entre 20 y 25 hembras del mosquito F2 con tres a seis días de vida para exponerlos a una dosis diagnóstica de insecticida. Para los bioensayos OMS los mosquitos se alimentaron previamente con sangre de ratón *Mus musculus*, y para los bioensayos CDC con agua azucarada al 10%. Cada bioensayo se repitió tres veces en condiciones controladas de laboratorio.

FIGURA 1. Municipios donde se realizó la evaluación de susceptibilidad de *Aedes aegypti* a los insecticidas lambdacialotrina, deltametrina y DDT, Colombia, 2006–2007



En los bioensayos OMS, los papeles impregnados estuvieron a una concentración de 4% para DDT y de 0,05% para lambdacialotrina y deltametrina, respectivamente. Los controles consistieron en papeles impregnados con los solventes utilizados para cada grupo químico, correspondientes a aceite de risella para el organoclorado y aceite de silicona para los piretroides (5). Tanto los papeles impregnados como los controles fueron adquiridos en Malasia de acuerdo a las recomendaciones de la OMS (5). El criterio de mortalidad se evaluó con los individuos muertos a las 24 horas de post-exposición.

Para los bioensayos CDC, las dosis y los tiempos diagnósticos se establecieron previamente a partir de la cepa de referencia Rockefeller mantenida en condiciones controladas de laboratorio, es decir: DDT 150 µg/ml por 30 min; lambdacialotrina 6,25 µg/ml por 15 min; deltametrina 6,25 µg/ml por 30 min (7, 8). Los insecticidas grado estándar DDT (92,4%), lambdacialotrina (99,0%) y deltametrina (99,9%) utilizados, tanto en la obtención de las dosis diagnósticas como en los bioensayos, fueron adquiridos en Chem Service®. Las botellas control se impregnaron con etanol absoluto grado reactivo (Sigma®). El criterio de mortalidad incluyó los mosquitos evidentemente muertos, así como los que presentaron síntomas de intoxicación tales como incapacidad de volar o pararse después de caer sobre el dorso. Para todos los análisis relacionados con bioensayos, tanto de la OMS como de los CDC, se obtuvieron los promedios de las mortalidades expresadas en porcentajes de las tres repeticiones.

Teniendo en cuenta los requerimientos de personal e infraestructura demandados por el estudio, las crías de mosquitos y el desarrollo de las pruebas biológicas correspondientes a Bucaramanga, Girardot 1 y 3, La Mesa 1 y 2, Villavicencio 5 y 7 y San José del Guaviare se llevaron a cabo en el Laboratorio de Entomología del INS, y las restantes —Sabana de Torres 1 y 2, Puerto López 1 y 2 y Florencia— en los respectivos laboratorios de entomología departamentales.

### Determinación de los mecanismos de resistencia

Las poblaciones naturales de *A. aegypti* que registraron pérdida de susceptibilidad a las dosis de insecticida en cada tiempo diagnóstico fueron evaluadas

mediante pruebas colorimétricas para determinar los posibles mecanismos bioquímicos de resistencia. Las pruebas, desarrolladas siguiendo el protocolo estandarizado por el Laboratorio de Entomología del INS y de acuerdo con la metodología propuesta por otros autores, consistieron en medir las densidades ópticas a longitudes de onda predeterminadas para cada enzima, utilizando reactivos que permiten revelar las reacciones mediante cambios de color, para lo cual se utilizó un lector de ELISA (Thermo Labsystems®) (9–11). Las enzimas evaluadas consistieron en esterasas no específicas (ENE) asociadas con resistencia a organofosforados y piretroides; oxidasas de función mixta (OFM) asociadas con resistencia al organoclorado DDT, carbamatos y piretroides, y acetilcolinesterasa modificada (ACEM) relacionada con resistencia a organofosforados y carbamatos (12). Se utilizaron hembras de la generación F1 de dos días de vida previamente conservadas a -70 °C. Para cada enzima se realizaron tres repeticiones. El número de individuos utilizados por repetición fue de 30 mosquitos y cada individuo se evaluó para las diferentes enzimas.

En la evaluación de la concentración de OFM se utilizó como sustrato peróxido de hidrógeno (Microgen Chemicals®) y 3,3', 5,5' tetrametil-benzidina-TMBZ (Sigma®) compuesto, que reacciona ante la presencia de peroxidasas y peróxido de hidrógeno, produciendo TMBZ oxidada. Se utilizó citocromo C (Merck®) como control positivo y buffer fosfato como control negativo. El valor de la densidad óptica se leyó utilizando el filtro de 630 nm. Para ENE se utilizó β-naphtil acetato (Merck®), un éster que actúa como sustrato, y dianisidina (Sigma®) compuesto que reacciona con el grupo alcohol cuando hay formación de β naphtol. Se utilizó β naphtol (Merck®) como control positivo y buffer fosfato como control negativo. Se leyó la absorbancia utilizando el filtro de 570 nm. La prueba ACEM consistió en determinar la proporción de individuos de la población que presentarían acetilcolinesterasa modificada. Se utilizó una mezcla de acetilcolina (Sigma®) más propoxur (Chem Service®) como sustrato y DTNB (5,5' dithio-bis, 2-ácido nitrobenzoico) (Sigma®) compuesto, que reacciona con la tiocolina, la cual es un producto de la hidrólisis de la acetilcolina efectuada por la enzima colinesterasa. En esta prueba se utilizó acetilcolina iodada (Sigma®) como

control positivo y buffer fosfato como control negativo. La absorbancia se leyó utilizando el filtro de 410 nm. Todas las pruebas bioquímicas se realizaron en el Laboratorio de Entomología del INS en Bogotá durante 2007.

### Análisis de datos

Cuando en la réplica control de cada bioensayo se presentaron mortalidades inferiores a 20%, los resultados de la mortalidad total se corrigieron utilizando la fórmula de Schneider y Orelli, citada en un manual de Ciba-Geigy (13). Si en la réplica control se presentaban mortalidades superiores a 20%, el bioensayo era anulado y debía repetirse en su totalidad.

Para los resultados de la metodología CDC (1998), la sobrevivencia al tiempo diagnóstico de al menos un individuo de la población evaluada se consideró como pérdida de susceptibilidad. En el caso de la metodología OMS (1981), las poblaciones con tasas de mortalidad superiores a 98% se consideraron susceptibles y con tasas menores de 80%, resistentes. Tasas de mortalidad de 80% a 98% se interpretaron como poblaciones que ameritan vigilancia entomológica periódica y sistemática. Teniendo en cuenta las diferencias de criterios utilizados en cada una de las metodologías y con el propósito de interpretar los resultados, estos se unificaron en los siguientes casos: 1) poblaciones resistentes, aquellas que presentaron pérdida de susceptibilidad en CDC y resistencia en OMS, 2) poblaciones con pérdida de susceptibilidad, las que presentaron pérdida de susceptibilidad en CDC y valores de mortalidad en el rango de vigilancia para OMS. En estas poblaciones se aplicaron las pruebas bioquímicas para determinar los mecanismos fisiológicos de resistencia.

### Mecanismos de resistencia

Se definió una línea base de análisis a partir del establecimiento de puntos de corte para cada enzima utilizando la cepa de referencia Rockefeller de *A. aegypti*. Los valores de dichos puntos de corte se obtuvieron sumando el promedio de los resultados de las densidades ópticas al doble de la desviación estándar de las repeticiones. Los promedios de las densidades ópticas de las poblaciones de campo iguales o inferiores a este valor se consideraron como normales y los valores superiores, como incre-

mentos en el nivel de las enzimas ENE y OFM o presencia de ACEM.

En el análisis estadístico de los resultados de las pruebas bioquímicas se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para cada población (intervalo de confianza [IC] 95%). Con los resultados de las densidades ópticas se realizaron comparaciones entre todas las poblaciones evaluadas mediante un análisis de varianza (IC 95%). Se compararon cada uno de los municipios con relación a la cepa de referencia Rockefeller mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett (IC 95%). Además se realizaron análisis descriptivos mediante diagramas de cajas, ubicando los datos en rangos de valores para determinar el porcentaje de individuos de la población que presentaron valores superiores al punto de corte.

La obtención de los promedios de mortalidad para los resultados de las pruebas biológicas, así como el análisis de resultados de las pruebas bioquímicas, se realizaron a través del programa estadístico SAS (versión 9,1).

## RESULTADOS

### Determinación de susceptibilidad

En el cuadro 1 se registran los porcentajes promedio de mortalidad en *A. aegypti* adultos de 13 localidades evaluadas para los insecticidas deltametrina, lambdacialotrina y DDT según las metodologías utilizadas.

Tanto los bioensayos OMS como CDC revelaron resultados contundentes de resistencia fisiológica a DDT en todas las poblaciones evaluadas. Con respecto a los piretroides, se encontraron datos compatibles con resistencia a lambdacialotrina en 8/13 poblaciones evaluadas, y pérdida de susceptibilidad en 4/13. Para deltametrina, únicamente La Mesa 1 presentó resultados compatibles con resistencia y 5/13 poblaciones presentaron pérdida de susceptibilidad. La concordancia entre los resultados obtenidos mediante los bioensayos OMS y CDC para DDT correspondió a 100% (13/13), para lambdacialotrina 91,6% (11/12) y para deltametrina 84,6 % (11/13).

### Mecanismos de resistencia

La figura 2 muestra los valores de densidades ópticas obtenidos para las tres enzimas evaluadas. Ninguna de las poblaciones presentó valores superiores al punto de corte 0,02 para ACEM. Se encontraron valores de ENE superiores al punto de corte 0,40 en 7/11 poblaciones, correspondiendo los más altos a los de Sabana de Torres 1 con 0,54 que representan 85% (51/60) de los individuos evaluados y Villavicencio 5 con 0,58 y 81% (49/60) de los ejemplares evaluados. Bucaramanga fue la única población que registró un valor de densidad óptica para OFM de 0,71 representado por 43% (26/60) de los individuos evaluados, el cual fue superior al punto de corte definido para estas enzimas de 0,67.

Las poblaciones de Villavicencio 7 y Girardot 1, aunque presentaron promedios inferiores al punto de corte para OFM, registraron una proporción de individuos con incrementos en el nivel de estas enzimas de 52% (31/60) y 26% (16/60), respectivamente.

Una vez comprobada la normalidad de los datos, los análisis de varianza ANOVA correspondientes a los valores de las densidades ópticas para las enzimas, mostraron que en general todas las enzimas presentaron diferencias significativas entre municipios —ACEM ( $P = 0,0009$ ), OFM ( $P < 0,0001$ ), ENE ( $P < 0,0001$ )— y entre comunas —ACEM ( $P = 0,0262$ ), OFM ( $P < 0,0001$ ), ENE ( $P < 0,0001$ ). Sin embargo, al comparar cada municipio con relación a la cepa de referencia Rockefeller mediante la prueba de rango múltiple de Dunnett, con un nivel de significación de  $P = 0,05$  en ACEM y OFM, no se encontraron diferencias significativas. En cambio, para ENE los municipios de Sabana de Torres (0,23, límite de confianza 0,03–0,42) y Villavicencio (0,20, límite de confianza 0,007–0,40) presentaron diferencias significativas entre valores de medias de densidad óptica con respecto a la cepa de referencia.

## DISCUSIÓN

Debido a la campaña anti-*aegypti* llevada a cabo entre los años cincuenta y setenta, Colombia estuvo libre del vector con excepción del municipio de Cúcuta, en el departamento de Norte de Santan-

**CUADRO 1. Porcentaje promedio de mortalidad en *Aedes aegypti* adultos de 13 localidades evaluadas para los insecticidas lambdacialotrina, deltametrina y DDT mediante las metodologías OMS (1981) y CDC (1988), Colombia, 2006–2007**

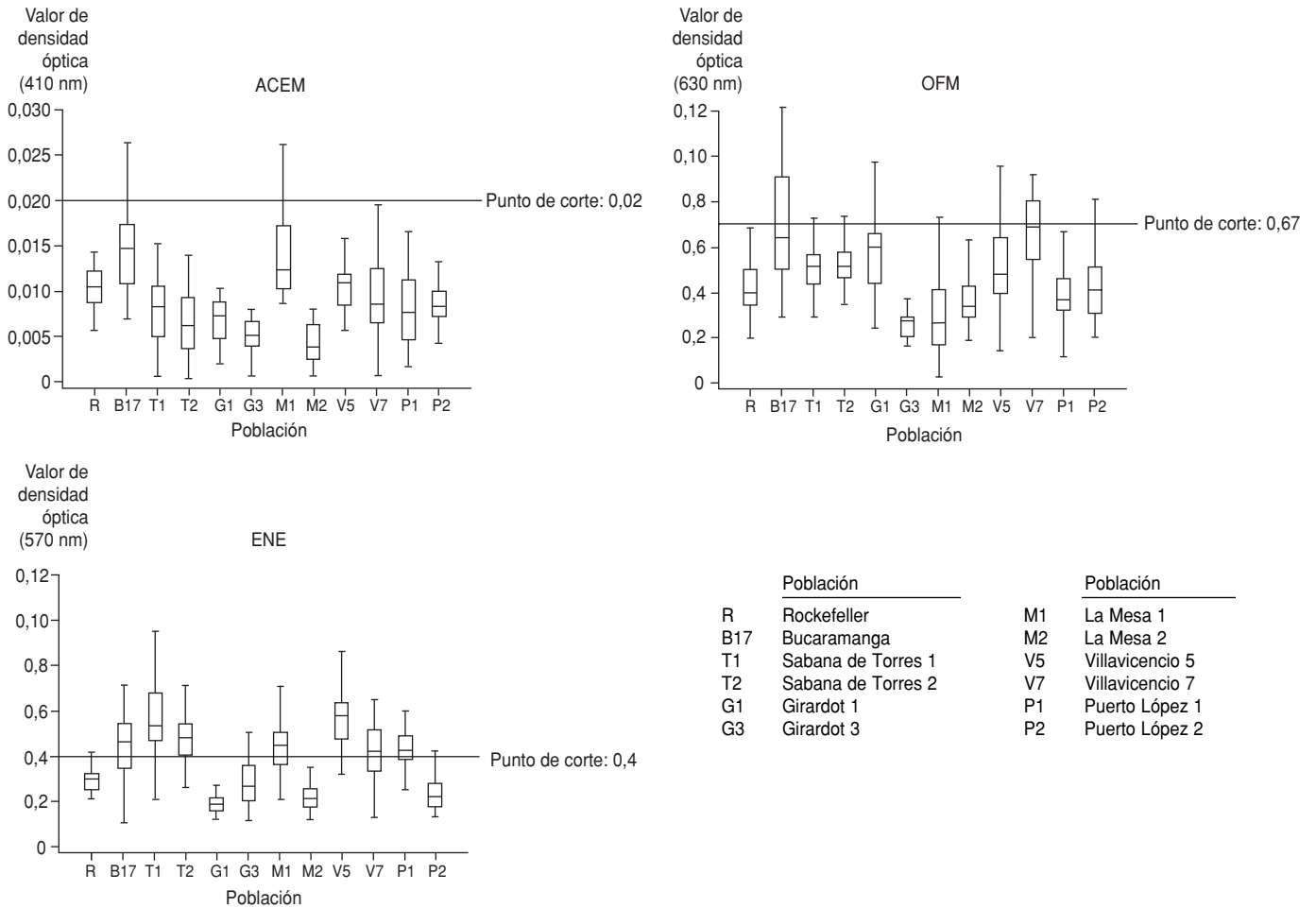
Municipio	Sitio	Metodología											
		Lambdacialotrina				Deltametrina				DDT			
		OMS <sup>a</sup>		CDC <sup>b</sup>		OMS		CDC		OMS		CDC	
%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.		
Girardot	1	95,7	185	94,0	117	98,8	104	100,0	181	3,4	103	3,6	100
	3	86,3	165	100,0	82	99,3	119	100,0	109	0,0	95	7,2	80
La Mesa	1	13,8	170	70,0	230	73,5	90	89,3	181	4,1	100	17,1	175
	2	85,1	177	88,3	100	100,0	75	100,0	100	7,3	75	0,0	80
Florencia	NA <sup>c</sup>	53,0	132	...	...	87,2	392	98,0	100	...	...	...	...
San José	NA	28,1	271	54,7	100	98,6	342	100,0	356	1,2	100	3,2	100
Villavicencio	5	42,6	203	78,1	184	96,9	100	99,5	100	2,9	100	3,1	100
	7	42,4	201	40,2	267	86,3	100	87,0	100	4,0	100	1,0	100
Puerto López	1	87,3	160	78,8	220	92,2	216	100,0	219	4,0	160	5,0	160
	2	57,5	206	72,5	160	93,8	216	97,0	160	1,0	100	1,1	100
Bucaramanga	17	24,1	160	45,8	100	57,2	146	100,0	176	1,0	100	0,0	100
Sabana de Torres	1	78,1	105	85,7	100	74,3	102	100,0	108	2,0	102	38,2	100
	2	94,3	102	88,3	163	92,8	108	90,5	100	1,0	100	54,1	160

<sup>a</sup> OMS = Organización Mundial de la Salud.

<sup>b</sup> CDC = Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, Estados Unidos.

<sup>c</sup> NA = No se aplica.

**FIGURA 2. Diagrama de cajas correspondiente a los valores de densidades ópticas para actividad enzimática de: acetilcolinesterasa modificada (ACEM), esterases no específicas (ENE) y oxidasas de función mixta (OFM), evaluadas para 11 poblaciones naturales de *Aedes aegypti* y la cepa de referencia Rockefeller (R), Colombia, 2006–2007**



der, en el límite con Venezuela. Esta misma población registró resistencia fisiológica a DDT en 1956 (14, 15). La resistencia generalizada a este organoclorado en las poblaciones naturales de *A. aegypti* evaluadas en este estudio, aunada a la coincidencia de estos resultados con los obtenidos en otros estudios para esta especie en Colombia (16, 17), permiten suponer que las actuales poblaciones del vector provienen de Norte de Santander, a partir del cual se reinfestó el país, y que la resistencia fisiológica a este insecticida constituye un factor heredado y posiblemente fijado en el genoma de las poblaciones naturales de *A. aegypti* presentes en Colombia.

La no asociación de incrementos de enzimas ENE y OFM con la pérdida de susceptibilidad a DDT, sumada a lo hallado en un estudio anterior realizado en los departamentos de Antioquia, Bolí-

var, Chocó y Putumayo, en el cual se encontraron niveles elevados de glutatión-S-transferasa (GTS) en poblaciones de *A. aegypti* resistentes a esta molécula química, podrían indicar que el mecanismo responsable de la resistencia fisiológica al DDT en las poblaciones colombianas de *A. aegypti* está mediado por incrementos en la actividad de enzimas GTS, un hallazgo notificado también en otros estudios (18–21).

Los resultados permiten descartar que en las poblaciones evaluadas exista resistencia fisiológica cruzada para los insecticidas DDT y lambdacialotrina, ya que la resistencia a DDT está generalizada en tanto que la resistencia a lambdacialotrina se encontró en 8/13 poblaciones evaluadas. Sin embargo, si el mecanismo de resistencia a DDT está determinado por incrementos en la actividad GTS, esta familia enzimática podría estar con-

tribuyendo indirectamente a la pérdida de susceptibilidad al piretroide lambdacialotrina, debido a que se ha demostrado que las enzimas GTS, aunque no actúan de manera directa sobre los piretroides, protegen a las células de sus efectos tóxicos. En este contexto, se ha identificado una asociación entre la actividad peroxidasa que presentan algunas enzimas GTS y la detoxificación de los productos de la peroxidación lipídica generados por el metabolismo de los piretroides (22). No obstante, el presente estudio reveló que todas las poblaciones naturales de *A. aegypti* resistentes a lambdacialotrina registraron incremento en enzimas ENE, lo que hizo posible reconocer a este mecanismo como el responsable de la pérdida de susceptibilidad a este piretroide. Es probable que tanto las enzimas GTS como las ENE participen combinadamente en la detoxi-

ficación de lambdacialotrina, pero estos hallazgos deberán ser corroborados mediante la aplicación de pruebas con sinergistas.

Los resultados compatibles con resistencia a lambdacialotrina en 61% (8/13) y la pérdida de susceptibilidad en 30% (4/13) de las poblaciones evaluadas se relacionan con la presión de selección ejercida con este insecticida, una de las moléculas más utilizadas en los programas de control del dengue luego que se suspendiera el DDT. También incidió la presión ejercida por la propia comunidad humana afectada, que aplica sistemáticamente insecticidas adquiridos en el mercado y cuyo ingrediente activo es la lambdacialotrina. En las Américas hay varios registros de resistencia a este piretroide en poblaciones de *A. aegypti* de Cuba (23, 24), Venezuela (25), Perú (26) y Puerto Rico (27). En este marco, hace falta intensificar la vigilancia sobre el uso, la eficacia y la susceptibilidad de las poblaciones de vectores a esta molécula en áreas contiguas a las detectadas con resistencia en este estudio, particularmente si se tiene en cuenta que algunos autores han encontrado mayores niveles de resistencia fisiológica a piretroides que a organofosforados, pese a que estos últimos han sido utilizados por más tiempo (28–32). Un estudio reciente llevado a cabo sobre las mismas poblaciones de *A. aegypti* evaluadas en el presente estudio, mostró susceptibilidad general a los organofosforados malatión y fenitrotión (8).

El comportamiento de las poblaciones de *A. aegypti* frente a cada piretroide evaluado fue distinta. Mientras que para lambdacialotrina la resistencia fue generalizada, no ocurrió lo mismo con deltametrina. Para este último insecticida, únicamente La Mesa 1 presentó resultados compatibles con resistencia y otras tres poblaciones correspondientes a Villavicencio 7, Puerto López 2 y Sabana de Torres 2, evidenciaron pérdida de susceptibilidad. Estos hallazgos permiten suponer que posiblemente el mecanismo de ENE incrementadas asociado con resistencia a lambdacialotrina no está relacionado con resistencia cruzada a deltametrina. Sin embargo, considerando que las ENE son una familia de enzimas hidrolasas conformada por seis proteínas diferentes, es probable que la resistencia a deltametrina esté mediada por enzimas de la misma familia, pero diferentes a las responsables de la resistencia a

lambdacialotrina. Aun así, no se descarta que el mecanismo de resistencia sea coniferido por enzimas pertenecientes a otros grupos, si se tiene en cuenta que en los resultados de las pruebas bioquímicas, La Mesa 1 registró unos pocos individuos con acetilcolinesterasa alterada.

El análisis de las pruebas bioquímicas permitió demostrar que aunque no se detecte resistencia fisiológica en una población natural mediante bioensayos, es posible detectar algunos de sus individuos con incrementos en los niveles de las enzimas relacionadas con detoxificación de estos insecticidas. Este hallazgo es importante porque poblaciones con un mayor nivel de estas enzimas pueden desarrollar resistencia en un menor tiempo que las que no poseen esta condición, ya que la presión ejercida por el insecticida puede seleccionar a los individuos que presenten enzimas específicas para la molécula insecticida en particular. No obstante, se encontró también que las poblaciones con ENE más altas no necesariamente presentaban un mayor número de individuos resistentes a lambdacialotrina. Esto se podría explicar porque esta familia enzimática está involucrada no solo en procesos de detoxificación de xenobióticos, sino además en procesos metabólicos vitales para la especie que, por representar un mayor costo energético, están asociados con pérdidas de aptitud biológica de la especie.

Los bioensayos CDC y las pruebas bioquímicas permitieron reconocer comportamientos diferenciales entre poblaciones pertenecientes a un mismo municipio, lo cual obedece a diferencias locales determinadas por la variabilidad genética de la especie y por la presión de selección ejercida por las medidas de control químico focal para el control del dengue. La resistencia fisiológica a insecticidas constituye un fenómeno localizado de manera específica en espacio y tiempo y, por consiguiente, las particularidades que presentaron algunas de las poblaciones de *A. aegypti* evaluadas deben ser tenidas en cuenta para el establecimiento de un programa de manejo y prevención de la resistencia. Un ejemplo es Girardot 1, que a pesar de no registrar resistencia a otros insecticidas diferentes al DDT, reveló individuos con incremento en nivel de enzimas OFM, las cuales están implicadas en la detoxificación de carbamatos, piretroides y organofosforados. Igualmente, la población de Bucaramanga, municipio que registra una

alta incidencia de dengue clásico y hemorrágico y, en consecuencia, una alta presión de selección con insecticidas en toda su área de influencia, reveló incrementos significativos en las enzimas OFM y ENE, así como la presencia de una proporción de individuos con acetilcolinesterasa modificada. Se puede interpretar, entonces que esa población tiene la capacidad de desarrollar resistencia a insecticidas de cualquier grupo químico.

En términos generales, entonces, este estudio permitió descartar que exista un mecanismo de resistencia fisiológica cruzada DDT y lambdacialotrina en las poblaciones de *A. aegypti* evaluadas. Para lambdacialotrina se sugirió que la resistencia está asociada con el incremento de las ENE, en tanto que para DDT al parecer las enzimas GTS son las responsables. El estudio permitió asimismo lanzar oficialmente la red nacional de vigilancia de la resistencia a insecticidas liderada por el Laboratorio de Entomología del INS e implementarla en las secretarías de salud departamentales. Se sugirió que los bioensayos CDC constituyeran la estrategia metodológica primaria para esta vigilancia en Colombia, debido a su sensibilidad en la detección de pérdida de susceptibilidad en dosis y tiempos diagnósticos específicos de un insecticida y a la facilidad de obtención de los materiales y reactivos para realizar bioensayos a nivel local.

Sin embargo, esta estrategia exige un entrenamiento estricto y un cuidadoso análisis de resultados basado en varias repeticiones, dado que el lavado e impregnación adecuados de las botellas y la interpretación de la mortalidad en los mosquitos pueden ser variables subjetivas. La prueba OMS 1981 es más contundente con relación a los resultados de resistencia de una población de mosquitos a un insecticida. No obstante, la consecución de los papeles impregnados desde Malasia —únicos avalados por la OMS— y sus fechas de vencimiento son una limitante crítica para establecer un programa de vigilancia de la resistencia a insecticidas de rutina en vectores de importancia médica.

Por último, cabe señalar que el hallazgo de poblaciones naturales de insectos resistentes o con pérdida de susceptibilidad a un insecticida contribuye a la toma de decisiones adecuadas y oportunas en el marco de los programas de control de enfermedades transmitidas por vectores. En este sentido, la reducción de

la presión de selección en poblaciones naturales con presencia de resistencia fisiológica a un insecticida permite la dilución de genotipos resistentes, en tanto que la rotación de insecticidas y la mezcla apropiada de productos permitirán mantener la eficacia de estas moléculas en las poblaciones blanco. La vigilancia de la resistencia a insecticidas mediante bioensayos y pruebas bioquímicas debe complementarse con bioensayos en el campo que evalúen la eficacia del insecticida según las condiciones locales y con un programa de seguimiento a la calibración adecuada de equipos, vigilancia de dosis apropiadas y capacitación a quienes se encargan de aplicar los insecticidas.

Se concluye que todas las poblaciones evaluadas en el presente trabajo registran resistencia fisiológica al DDT y 8/13 a lambdacialotrina. Se descarta la exis-

tencia de un mecanismo fisiológico de resistencia cruzada para estas dos moléculas. La principal limitante del estudio estuvo determinada por la ausencia de ensayos con sinergistas, que hubieran permitido dilucidar con mayor claridad el mecanismo bioquímico involucrado en la resistencia fisiológica detectada.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen su colaboración en la selección de sitios de estudio y realización de bioensayos a los siguientes profesionales: Tania Erika Tibaduiza (entomóloga), Sandra Amézquita (auxiliar de laboratorio) y Lina Manjares, Harold Barros y Herminio Rubio (técnicos ETV), de la Secretaría de Salud del Caquetá. Claribel Hernández y Pilar Carrillo (entomólogas) y Victoria Hernández (auxiliar de labora-

torio), de la Secretaría de Salud de Cundinamarca; Laureano Mosquera (entomólogo) y Rigoberto Tovar, Jorge Cardona, Luis Cortés (técnicos de ETV), de la Secretaría de Salud de Guaviare; Marcela Gutiérrez (entomóloga) y Luis Gualdrón, Hugo Barrios, Eleazar Peña, Amílcar Lizarazu y Jesús Valencia (auxiliares de laboratorio), de la Secretaría de Salud de Santander; Luz Stella Buitrago (entomóloga) y Ruth Mery Benavides y Nelson Peña (auxiliares de laboratorio), de la Secretaría de Salud del Meta. Igualmente, expresan su gratitud a Gabriela Rey Vega, Jhon Muñoz, Juan de Dios Fuentes y Paula Ximena Pareja, pertenecientes al Laboratorio de Entomología-RNL del Instituto Nacional de Salud, por la valiosa ayuda prestada en la realización de las pruebas biológicas y bioquímicas.

## REFERENCIAS

- Moncayo A. Pobreza y enfermedades reemergentes en América Latina. Crisis sanitaria continental. *Rev Latinoamericana Salud y San Amb.* 2004;3:33-8.
- Rodríguez G, Velandia M, Boshell J. Fiebre amarilla, la enfermedad y su control. Bogotá: Instituto Nacional de Salud. 2003. 60 pp.
- Padilla J, Ahumada M, Lozano G, Barrero N, Rey J, Escandón S, et al. Plan de movilización y comunicación social para la prevención y control del dengue, Colombia 2004. *Barranquilla: Organización Panamericana de la Salud; 2004.*
- Organización Panamericana de la Salud. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. Washington DC: OPS; 1995. P. 108.
- Organización Mundial de la Salud. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphorus and carbamate insecticides. Establishment of the base-line. Geneva: OMS; 1981.
- Brogdon W, McAllister J. Simplification of adult mosquito bioassays through use of time-mortality determinations in glass bottles. *J Am Mosq Control Assoc.* 1998;14:159-64.
- Fonseca-González I. Estatus de la resistencia a insecticidas de los vectores primarios de malaria y dengue en Antioquia, Chocó, Norte de Santander y Putumayo, Colombia [tesis doctoral]. Medellín: Universidad de Antioquia; 2008.
- Santacoloma L. Estado de la susceptibilidad a insecticidas de poblaciones naturales de *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 vector del dengue y *Anopheles darlingi* Root 1926 vector primario de malaria (Diptera: Culicidae) en cinco departamentos de Colombia [tesis de maestría]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2008.
- Brogdon WG. Mosquito protein microassay. Protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Com Biochem Physiol.* 1984;79:457-59.
- Brogdon WG. Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comp Biochem Physiol B.* 1984;96:339-42.
- Brogdon WG, McAllister JC, Vulule J. Heme peroxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing and elevated oxidase for insecticide resistance. *J Am Mosq Control Assoc.* 1997;13:233-7.
- Mazzarri M, Georghiou G. 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.
- Ciba Geigy. Cómo realizar un bioensayo. Manual de ensayos de campo. Bogotá; 1973.
- Cruz RR. Strategies for controlling dengue and *Aedes aegypti* in the Americas. *Rev Cubana Med Trop.* 2002;54:189-201.
- Busvine J, Coker W. Resistance patterns in DDT resistant *Aedes aegypti*. *Bull WHO.* 1958;18:651-6.
- Salazar M, Carvajal A, Cuellar M, Olaya A, Quiñones J, Velásquez O, et al. Resistencia a insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* y *Anopheles spp* en los departamentos de Huila, Valle, Cauca y Nariño. *Memorias XIII Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Biomédica.* 2007;27:177.
- Anaya Y, Cocheró S, Rey G, Santacoloma L. Evaluación de la susceptibilidad a insecticidas en *Aedes aegypti* capturados en Sinclejo. *Memorias XIII Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. Biomédica.* 2007;27:257-8.
- Fonseca I, Brant T, Quiñones M, Brogdon W. Increased glutathione S-transferases associated to DDT resistance in *Aedes aegypti* from Colombia. En: Clark GG, Rubio-Palis Y, eds. *J Am Mosq Control Assoc.* 2006;22:738.
- Grant D, Dietz E, Hammock B. Glutathione S-transferase isozyme-specific in *Aedes aegypti*: purification, characterization, and isozyme-specific regulation. *Insect Biochem.* 1991;21:421-33.
- Hemingway J, Hawkes N, McCarroll L, Ranson H. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochem Mol Biol.* 2004;34:653-65.
- Vontas JG. Glutathione s-transferases as antioxidant defense agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *J Biochem.* 2001;357:65-72.
- Che-Mendoza A, Penilla-Navarro P, Martínez-Barnette J, Rodríguez-Ramírez A, Hemingway J, Vontas J. Clonación y secuenciación del probable gen responsable de la resistencia al DDT en *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). *Entomol Mex.* 2007;6:894-8.
- Lumjuan N, Lynn M, Prapantadara L, Hemingway J, Ranson H. Elevated activity of an Epsilon class glutathione transferase confers DDT resistance in the dengue vector, *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Mol Biol.* 2005;35:861-71.
- Bisset J, Rodríguez M, Molina D, Díaz C, Soca A. Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev Cubana Med Trop.* 2001;53:37-43.
- Montada D, Calderón I, Leyva M, Figueredo D. Niveles de susceptibilidad de una cepa de *Aedes aegypti* procedente de Santiago de Cuba ante los insecticidas lambdacialotrina, cipermetrina y clorpirifos. *Rev Cubana Med Trop.* 2007;59(1). Hallado en: [http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol59\\_1\\_07/mtr07107.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol59_1_07/mtr07107.htm). Acceso el 20 de octubre de 2009.
- Bisset J, Rodríguez M, Fernández D, Palomino M. Resistencia a insecticidas y

- mecanismos de resistencia en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de dos provincias del Perú. *Rev Cubana Med Trop.* 2007;59(1). Hallado en: [http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol59\\_3\\_07/mtr04307.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol59_3_07/mtr04307.htm). Acceso el 20 de octubre de 2009.
27. Hemingway J, Boodington R, Harris J. Mechanisms of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) from Puerto Rico. *Bull Entomol.* 1989;123–30.
28. Hamdan H, Sofian-Azirun M, Ahmad N. Insecticide resistance development in *Culex quinquefasciatus* (Say), *Aedes aegypti* (L) and *Aedes albopictus* (Skuse) larvae against malathion, permethrin and temephos. *Trop Biomed.* 2005;22:45–52.
29. Montada D, Castex M, Suarez S, Figueredo D, Leyva M. Estado de la resistencia a insecticidas en adultos del mosquito *Aedes aegypti* del municipio de Playa, Ciudad de la Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop.* 2005;57:137–42.
30. Bisset J, Rodríguez MM, Fernández D, Pérez O. Estado de la resistencia a insecticidas y mecanismo de resistencia en larvas del municipio Playa, colectadas durante la etapa intensiva contra *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, 2001–2002. *Rev Cubana Med Trop.* 2004;56:61–5.
31. Bisset JA, Rodríguez MM, Cáceres L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en dos cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. *Rev Cubana Med Trop.* 2003;55:191–5.
32. Rawlins S, Hing W. Resistance in some Caribbean populations of *Aedes aegypti* to several insecticides. *J Am Mosq Control Assoc.* 1995;11:59–65.

Manuscrito recibido el 6 de diciembre de 2008. Aceptado para publicación, tras revisión, el 22 de julio de 2009.

## ABSTRACT

### Susceptibility of *Aedes aegypti* to DDT, deltamethrin, and lambda-cyhalothrin in Colombia

**Objectives.** To assess the susceptibility status of 13 natural populations of *Aedes aegypti* (collected from sites in Colombia where dengue is a serious public health problem) to the pyrethroids, deltamethrin and lambda-cyhalothrin, and to the organochlorine, DDT, and to identify any biochemical mechanisms associated with resistance.

**Methods.** Immature forms of the vector were collected from natural breeding spots at each site and then raised under controlled conditions. Using the F2 generation, bioassays were performed using the World Health Organization's 1981 methodology (impregnated paper) and United States Centers for Disease Control and Prevention's 1998 methodology (impregnated bottles). In populations where mortality rates were consistent with decreased susceptibility, levels of nonspecific esterases (NSE), mixed-function oxidases (MFO), and acetylcholinesterase (AChE) were measured using colorimetric tests.

**Results.** All of the mosquito populations that were tested showed resistance to the organochlorine DDT. In the case of the pyrethroids, widespread resistance to lambda-cyhalothrin was found, but not to deltamethrin. Assessing the biochemical resistance mechanisms showed that 7 of the 11 populations had elevated NSE, and one population, increased MFO.

**Conclusions.** Physiological cross-resistance between DDT and lambda-cyhalothrin in the *A. aegypti* populations tested was dismissed. Physiological resistance to lambda-cyhalothrin appears to be associated with increased NSE. The differences in susceptibility levels and enzyme values among the populations were associated with genetic variations and chemicals in use locally.

## Key words

*Aedes*; DDT; dengue; insecticides; mosquito control; insecticides, organochlorine; insecticide resistance; Colombia.