

ANÁLISIS POR ENSAYO DE MICROPLACA DE LA DISTRIBUCION DE LA RESISTENCIA DE *ANOPHELES ALBIMANUS* A ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS EN GUATEMALA¹

W. G. Brogdon,² R. F. Beach,³
J. M. Stewart³ y L. Castanaza⁴

Para estudiar la distribución de la resistencia a los organofosforados y carbamatos en las poblaciones de Anopheles albimanus Weidemann en zonas rurales de Guatemala, donde dicha resistencia, ocasionada por el uso intensivo de insecticidas agrícolas, se cree ampliamente extendida, se emplearon métodos de ensayo de microplaca. Se encontraron zonas de susceptibilidad absoluta a organofosforados y carbamatos, así como otras en las que los fenotipos resistentes representaban hasta 98% de la población. En general, los niveles de resistencia fueron más bajos y estuvieron más localizados de lo que se esperaba. Mediante los métodos de microensayo se identificaron dos mecanismos de resistencia, el de la esterasa elevada (esterasa inespecifica) y el de la acetilcolinesterasa insensible, los cuales aparecieron de manera independiente. El primero de estos mecanismos (notificado por primera vez en los anofeles de Centroamérica) fue el predominante. Estos métodos constituyen una nueva y promisoría tecnología para detectar y evaluar la resistencia, y facilitarán la adopción de decisiones para establecer mejores estrategias de control.

El vector de la malaria de las zonas costeras de Centroamérica, *Anopheles albimanus*, ha demostrado ser resistente a casi todos los insecticidas conocidos a través de varios mecanismos. Davidson (1) fue el primero en estudiar la multiresistencia a los organoclorados en este vector; comprobó la resistencia al DDT y la dieldrina en poblaciones de anofeles en Centroamérica a finales de los años cincuenta. Seguidamente se constató su resistencia a los

organofosforados y los carbamatos, para la cual se ha descrito un mecanismo (2-7). Recientemente, en Guatemala se ha notificado la resistencia a los piretroides sintéticos (8). El incremento y diseminación de esta resistencia en Centroamérica han sido atribuidos al empleo creciente de plaguicidas en la agricultura (9).

² Centers for Disease Control, Center for Infectious Diseases, Division of Parasitic Diseases, Atlanta. Dirección postal: Centers for Disease Control, Atlanta, GA 30333, EUA.

³ Centers for Disease Control, Medical Entomology Research and Training Unit, Atlanta.

⁴ Universidad del Valle de Guatemala, Centro de Investigación sobre Enfermedades Tropicales, Ciudad de Guatemala, Guatemala.

¹ Se publica en el *Bulletin of the World Health Organization* Vol. 66, No. 3, 1988, con el título "Microplate assay analysis of the distribution of organophosphate and carbamate resistance in Guatemalan *Anopheles albimanus*". © Organización Mundial de la Salud, 1988. La investigación en que se basa este estudio fue financiada, en parte, por la Organización Mundial de la Salud.

La mayoría de los estudios de resistencia en *A. albimanus*, en particular los que conciernen a los mecanismos bioquímicos de resistencia, se han evaluado en laboratorios a partir de cepas de mosquitos seleccionadas y colonizadas, ya que se carece de una metodología para estudiar los mecanismos de resistencia en el campo. Como consecuencia, el efecto práctico (operativo) sobre el terreno de estos estudios en *A. albimanus* centroamericano ha sido mínimo. Por ejemplo, no se han hecho investigaciones acerca de la distribución espacial de los mecanismos o niveles de resistencia, y los mecanismos identificados en el laboratorio no se han confirmado en el campo.

Durante décadas, los estudios de campo sobre los problemas de resistencia *in situ* se han basado en los estuches de bioensayo de la OMS para determinar la resistencia de mosquitos. Aunque este sistema de detección ha proporcionado mucha información valiosa, presenta varias limitaciones inherentes (9). Entre estas limitaciones, cabe mencionar que solo puede probarse un insecticida por cada insecto y que, sin una dosis de discriminación conocida, se precisan grandes cantidades de insectos para obtener líneas prohit. El uso de dosis de discriminación ayuda a detectar resistencias con grupos más pequeños de insectos, aunque no permite determinar el nivel o mecanismo de resistencia. Además, no existen dosis de discriminación que puedan aplicarse a todos los mosquitos. Puede haber positivos falsos a causa del deterioro de los papeles de filtro o de variables en el procedimiento, tales como la temperatura o humedad. Por último, los métodos de bioensayo son ineficaces para detectar los fenotipos de resistencia a bajas frecuencias.

Por estas razones, propusimos elaborar métodos de ensayo de microplaca para detectar la resistencia en mosquitos tomados individualmente. Este tipo de ensayo está basado en métodos que ya habíamos desarrollado y empleado en estudios de resistencia (10-12). Investigadores de varios laboratorios están elaborando, o ya han elaborado, métodos bioquímicos similares e inmunológicos nuevos para el estudio de la resistencia (13-17). Recientemente, estos métodos se han introducido en estudios de campo de la resistencia de los anofeles vectores de la malaria en Haití y Sri Lanka (18).

En el presente artículo, se describen los resultados obtenidos en la aplicación de un método de ensayo de microplaca para identificar y estudiar la distribución de la resistencia de *A. albimanus* a los insecticidas organofosforados y carbamatos en diferentes zonas de Guatemala. Cabe indicar que se están realizando otras investigaciones sobre la relación entre el ensayo de microplaca y el bioensayo de la OMS, sobre los efectos de la temperatura en los ensayos de microplaca y sobre estudios longitudinales de focos de resistencia.

MATERIALES Y METODOS

Recolección de mosquitos

La distribución espacial de la resistencia se determinó en especímenes de *A. albimanus* recolectados en localidades seleccionadas de todo el país. Estos mosquitos se capturaron de tres maneras distintas: por medio de cebos humanos al anochecer, en lugares alejados de los corrales, puesto que *A. albimanus* es una especie zoofílica que raramente pica a seres humanos cuando están cerca de ganado; en los corrales, donde virtualmente todos los mosquitos se alimentan a base de sangre, se recolectaron algunos ejemplares en sus lugares de reposo, en la

vegetación circundante u otras estructuras (19), y por último, mediante trampas de succión con luz ultravioleta (20). Las cantidades de mosquitos recolectadas disminuyeron por este orden: capturas en corrales > capturas por medio de cebos humanos > capturas mediante trampas con luz ultravioleta.

Los mosquitos vivos se inmovilizaron usando hielo seco y luego se colocaron en frascos etiquetados que fueron remitidos, también en hielo seco, al laboratorio para su almacenamiento a -70°C . En cada localización estudiada se obtuvieron lotes de más de 200 ejemplares de *A. albimanus* hembra.

Diseño de los microensayos y del experimento

Ensayo de microplaca de la esterasa elevada. Los mosquitos se homogeneizaron individualmente en $100\ \mu\text{l}$ de solución amortiguadora de fosfato de potasio ($0,05\ \text{mol/l}$ y $\text{pH } 6,8$) y se diluyeron a $1\ \text{ml}$ con amortiguador. Para reproducir cada ensayo se emplearon alícuotas de $100\ \mu\text{l}$. En los ensayos enzimáticos se utilizó el procedimiento de ensayo de microplaca de Brogdon y Dickinson (10). Se añadieron $100\ \mu\text{l}$ de acetato de β -naftil ($56\ \text{mg}/10\ \text{ml}$ 2-propanol/ $90\ \text{ml}$ de amortiguador) a cada $100\ \mu\text{l}$ de homogeneizado mediante una placa de transferencia de boquilla 96 (Vaccupette, Research Products International Corp., Mount Prospect, IL, EUA) y la preparación se incubó a temperatura ambiente durante $10\ \text{min}$ (la temperatura del laboratorio en la ciudad de Guatemala era de 25°C). Posteriormente, se añadió una alícuota de $100\ \mu\text{l}$ de dianisidina ($100\ \text{mg}/100\ \mu\text{l}$ de agua). Las absorbancias se leyeron a $550\ \text{nm}$ en un lector de inmunoensayo enzimático (Minireader II, Dynatech Laboratories, Alexandria, VA, EUA) o bien se evaluaron a simple vista.

Ensayo de microplaca de la acetilcolinesterasa insensible. Los mosquitos se homogeneizaron individualmente en $100\ \mu\text{l}$ de solución amortiguadora de fosfato de potasio ($0,05\ \text{mol/l}$ y $\text{pH } 6,8$) y se diluyeron a $1\ \text{ml}$ con amortiguador. Aunque el pH óptimo para la realización del ensayo original de la acetilcolinesterasa de Brogdon y Dickinson es $7,4$, la utilización de amortiguador con un pH de $6,8$ no alteró la eficacia detectora y permitió que tanto el microensayo de la esterasa elevada como el de la acetilcolinesterasa insensible se reprodujeran con más facilidad en los mismos mosquitos (10). En cada ensayo se añadieron $100\ \mu\text{l}$ de yoduro de acetiltiocolina ($75\ \text{mg}/100\ \text{ml}$ de amortiguador), que contenía $0,1\ \text{mmol/l}$ de propoxur y $100\ \mu\text{l}$ de reactivo de Ellman (DTNB, $13\ \text{mg}/100\ \text{ml}$ de amortiguador). La absorbancia (a $414\ \text{nm}$) se midió a los $30\ \text{min}$ empleando el lector de microplaca. La cinética de la reacción también se pudo medir con el mismo sistema (21).

Ensayo de microplaca de proteína. Mediante el ensayo de microplaca de proteína se evaluó la significación de las variaciones de tamaño entre mosquitos para interpretar los resultados (22, 23). Se añadieron $200\ \mu\text{l}$ de reactivo colorante diluido (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, EUA) a alícuotas de $100\ \mu\text{l}$ de homogeneizado de mosquito. La absorbancia (a $600\ \text{nm}$) se midió con el lector de microplaca, y los valores encontrados se compararon con una curva estándar.

Se repitieron los tres ensayos (de la esterasa elevada, de la acetilcolinesterasa insensible y de la proteína) para cada mosquito. Las placas de microtitulación se organizaron de manera que se pudieran microensayar treinta y dos mosquitos (tres

repeticiones) empleando uno de los tres tipos de ensayo en una sola placa. Así pues, se usaron tres placas para realizar los tres ensayos en los mismos treinta y dos mosquitos, con lo que las placas de transferencia se aprovecharon al máximo.

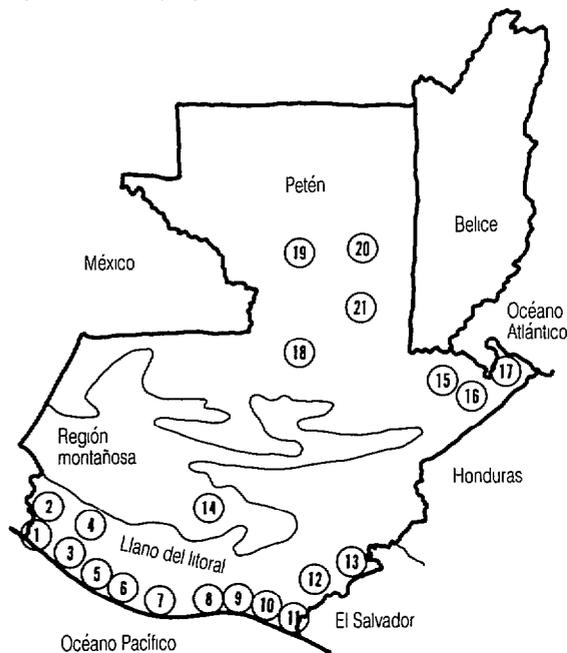
Frecuencias de resistencia. Las estimaciones de los porcentajes de resistencia se realizaron a partir de los datos comparativos de bioensayo/microensayo recolectados de *A. albimanus* guatemalteco. Los umbrales de resistencia en los ensayos de microplaca de *A. albimanus* guatemalteco son (a una absorbencia de 550 nm) $\geq 0,9$ en los ensayos de la esterasa elevada y (a una absorbencia de 410 nm) $> 0,3$ en los de la acetilcolinesterasa insensible.

Para detectar los mecanismos de resistencia de la esterasa elevada y de la acetilcolinesterasa insensible se microensayaron aproximadamente 1 100 mosquitos. Los niveles de proteína encontrados fueron suficientemente uniformes y no se precisó ninguna corrección con respecto a las variaciones de tamaño de los mosquitos. Los datos se dispusieron con arreglo a los departamentos administrativos de Guatemala en los que se hallaban los lugares estudiados (cuadro 1 y figura 1).

CUADRO 1. Localización geográfica de los 21 lugares de recolección de mosquitos en Guatemala, por departamento administrativo y grado de explotación agrícola de la zona

| Número del lugar y departamento | Lugar y localización | Explotación agrícola |
|---------------------------------|--|----------------------|
| 1, 2 San Marcos | Ocos y hacienda La Zarca <i>Costa del Pacífico/frontera mexicana</i> | Intensa |
| 3, 4 Retalhuleu | Colonia La Felicidad y hacienda La Agrícola <i>Costa del Pacífico</i> | Intensa |
| 5, 6, 7, 8 Escuintla | Aldeas San Pedro Nahualate, Santa Marta el Mar y Empalizada, y barrio El Mangelar <i>Costa del Pacífico</i> | Intensa |
| 9, 10 Santa Rosa | Aldeas El Chapetón y La Avellana <i>Costa del Pacífico</i> | Intensa |
| 11, 12, 13 Jutiapa | Parcelamiento Montufar y aldeas El Toro y Las Moritas <i>Frontera salvadoreña</i> | Escasa |
| 14 Guatemala | Finca Rancho Grande <i>Estribaciones de la ciudad de Guatemala</i> | Escasa |
| 15, 16, 17 Izabal | Hacienda Las Vegas y aldeas El Relleno y San Francisco II <i>Costa del Atlántico</i> | Escasa |
| 18 Alta Verapaz | Aldea Chajmaic <i>Bosque húmedo del norte</i> | Inexistente |
| 19, 20, 21 Petén | Finca Esquipulas y aldeas El Quetzal y Los Angeles <i>Bosque húmedo del norte</i> | Inexistente |

Figura 1. Mapa con los 21 lugares de recolección de mosquitos en Guatemala. En el cuadro 1 aparecen los nombres de dichos lugares, que corresponden a la numeración del mapa, y los departamentos a que pertenecen



No se encontró ninguno de los dos mecanismos de resistencia en las zonas no cultivadas y donde no se habían empleado insecticidas organofosforados ni carbamatos para el control de la malaria, o bien donde su utilización había sido escasa. En las zonas de cultivo poco intenso estuvieron presentes ambos mecanismos, aunque fueron poco frecuentes (figuras 2 y 3), y en las zonas de la costa del Pacífico cultivadas intensamente la frecuencia de ambos mecanismos de resistencia fue más alta (figuras 4 y 5).

Las distribuciones de frecuencia para los valores de absorbancia de la esterasa elevada en las zonas costeras alcanzaron tres picos máximos de absorbancia (fi-

gura 4), que correspondieron a homocigotos y heterocigotos resistentes o susceptibles, si bien en ciertas zonas no se presentaron todos los tres picos. Se reunieron los datos de la esterasa elevada observados en la costa del Pacífico, y la distribución de frecuencia resultante fue proyectada en un gráfico (figura 6). Los picos (a una absorbancia de 550 nm) a 0,7, 0,9 y 1,1 corresponden a las coloraciones rosa, violeta y morada que se observaron en los ensayos. Las distribuciones de frecuencia para los valores de la absorbancia de la acetilcolinesterasa insensible en los mosquitos de Escuintla (figura 5) muestran una segunda cresta de frecuencia a 0,4 (heterocigotos); el pico para el homocigoto susceptible está en 0,2.

La distribución de estos mecanismos de resistencia se localizó geográficamente. Por ejemplo, tal como se muestra en la figura 7, cerca del lago Amatitlán se encontró una mayor frecuencia de la resis-

Figura 2. Datos de los microensayos de la esterasa elevada correspondientes a cuatro departamentos guatemaltecos con uso escaso o nulo de plaguicidas en la agricultura. Las frecuencias (a una absorbancia de 550 nm) se basaron en cuatro repeticiones del ensayo por mosquito. (n = tamaño de la muestra; r = nivel de resistencia por microensayo, que se determinó por los criterios descritos)

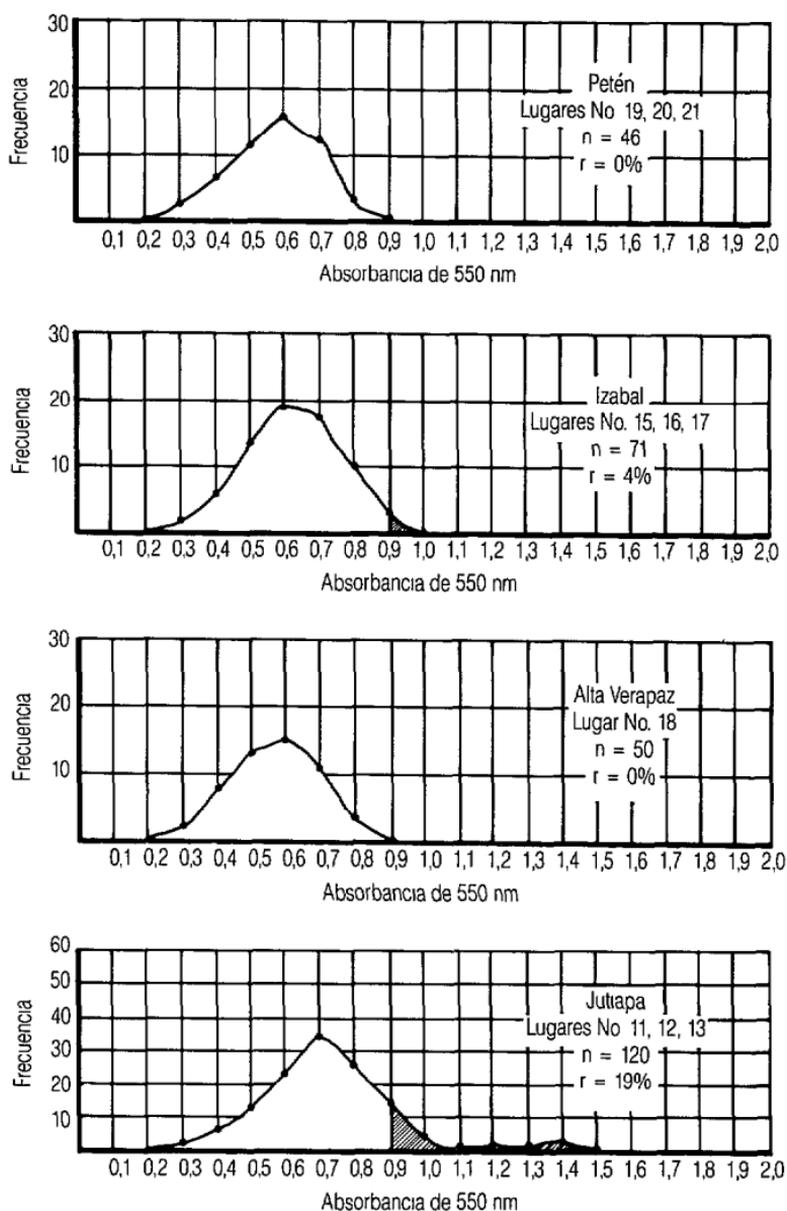
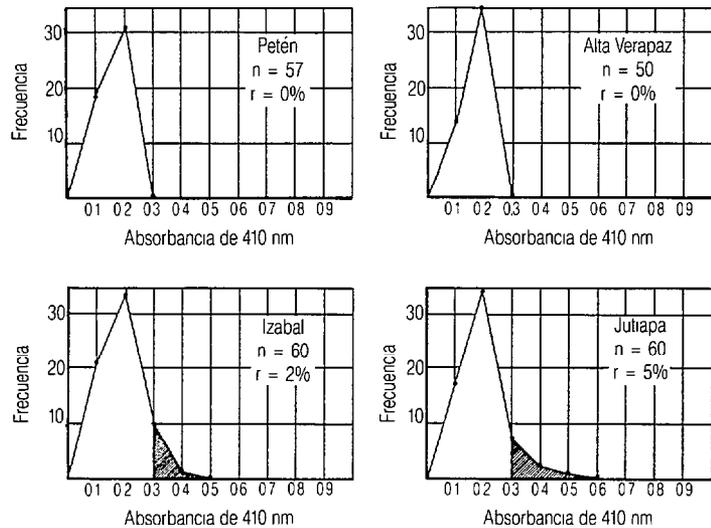


Figura 3. Datos de los microensayos de la acetilcolinesterasa insensible correspondientes a cuatro departamentos guatemaltecos con uso escaso o nulo de plaguicidas en la agricultura. Las frecuencias (a una absorbancia de 410 nm) se basaron en tres repeticiones del ensayo y una repetición de control por mosquito. (n = tamaño de la muestra; r = nivel de resistencia por microensayo, que se determinó por los criterios descritos)



tencia por esterasa elevada que en la zona con la máxima resistencia de la costa del Pacífico, San Marcos. Este fenómeno podría explicarse por los rociamientos intensos e indiscriminados de insecticidas a que son sometidas las aguas superficiales del lago por parte de los propietarios de las villas de vacaciones que hay en sus orillas. En Escuintla se identificaron focos de resistencia por acetilcolinesterasa insensible. En dos lugares estudiados, Puerto San José y Santa Marta el Mar, se registraron frecuencias de acetilcolinesterasa insensible más elevadas que en los otros lugares de Escuintla (figura 8) o que en cualquier otro lugar de Guatemala. Las investigaciones revelaron la existencia de campos de algodón muy extensos (33 km²) que colindaban con las zonas de cría de los mosquitos, donde se realizaban frecuentes fumigaciones aéreas con insecticidas.

Varios lugares estudiados presentaron diferencias interesantes en las fre-

cuencias de los dos mecanismos de resistencia. Por ejemplo, en Escuintla no se encontraron homocigotos resistentes en la distribución de frecuencia resultante del microensayo de la esterasa elevada, mientras que el mecanismo de la acetilcolinesterasa insensible tuvo una frecuencia relativamente alta. Por el contrario, en San Marcos el mecanismo de la acetilcolinesterasa insensible tuvo una frecuencia relativamente baja, mientras que se identificaron homocigotos resistentes con una frecuencia relativamente alta.

Figura 4. Datos de los microensayos de la esterasa elevada correspondientes a cuatro departamentos guatemaltecos con uso intenso de plaguicidas en la agricultura. Las frecuencias (a una absorbancia de 550 nm) se basaron en cuatro repeticiones del ensayo por mosquito. (n = tamaño de la muestra; r = nivel de resistencia por microensayo, que fue determinado por los criterios descritos)

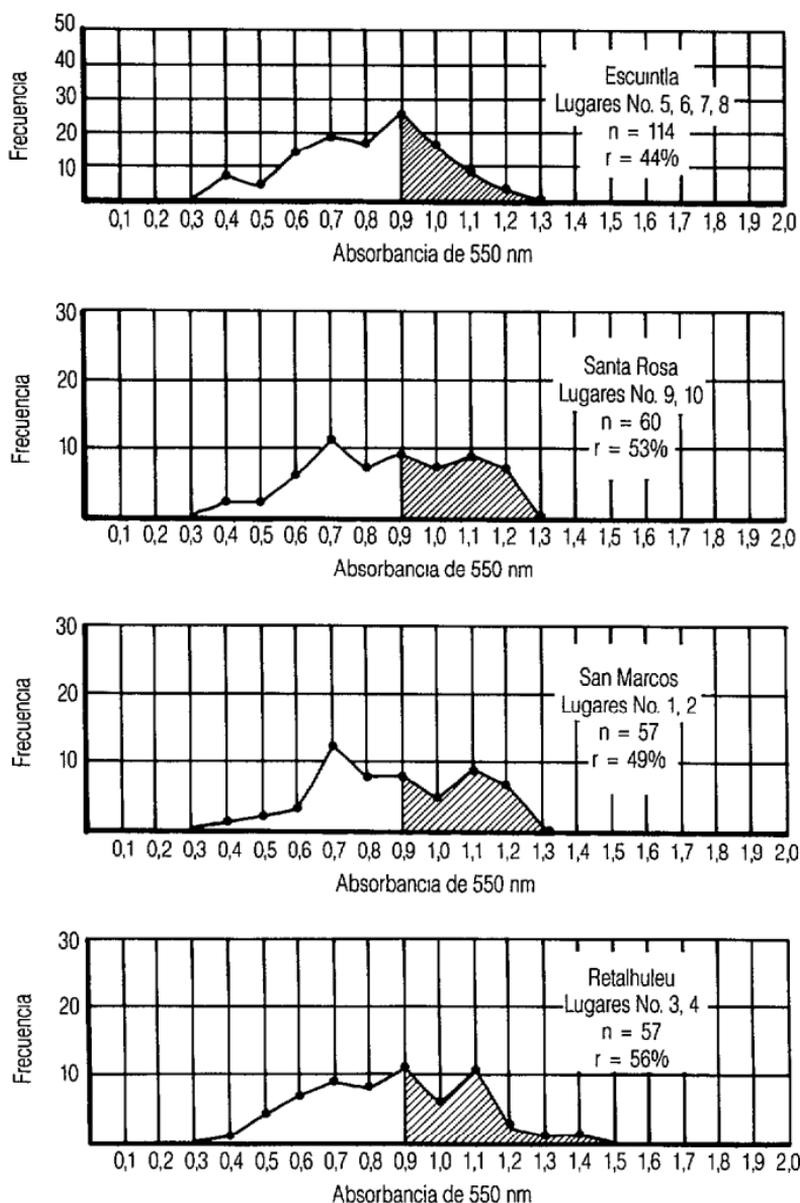


Figura 5. Datos de los microensayos de la acetilcolinesterasa insensible correspondientes a cuatro departamentos guatemaltecos con uso intenso de plaguicidas en la agricultura. Las frecuencias (a una absorbancia de 410 nm) se basaron en tres repeticiones del ensayo y una repetición de control por mosquito. (n = tamaño de la muestra; r = nivel de resistencia por microensayo, que se determinó por los criterios descritos)

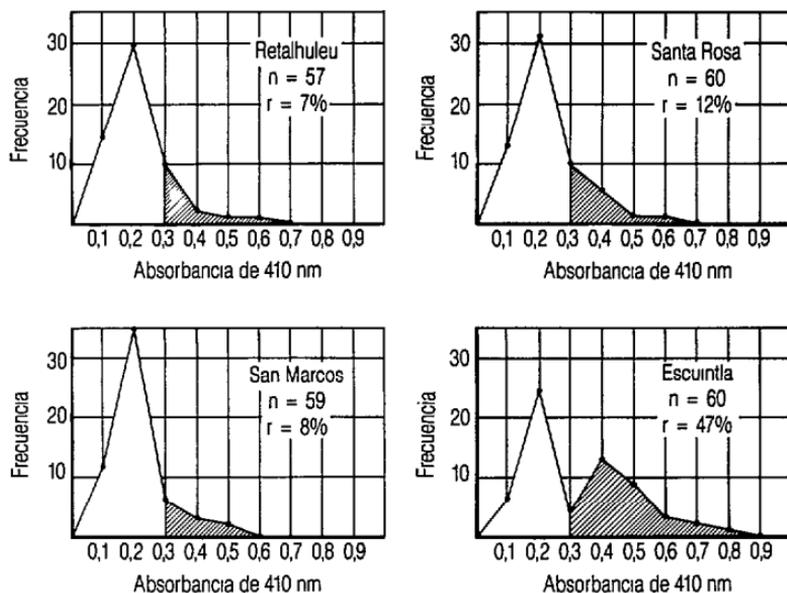


Figura 6. Datos del microensayo de la esterasa elevada para las zonas de la costa del Pacífico. Las frecuencias (a una absorbancia de 550 nm) se basaron en cuatro repeticiones del ensayo por mosquito. (n = tamaño de la muestra; r = nivel de resistencia por microensayo, que fue determinado por los criterios descritos)

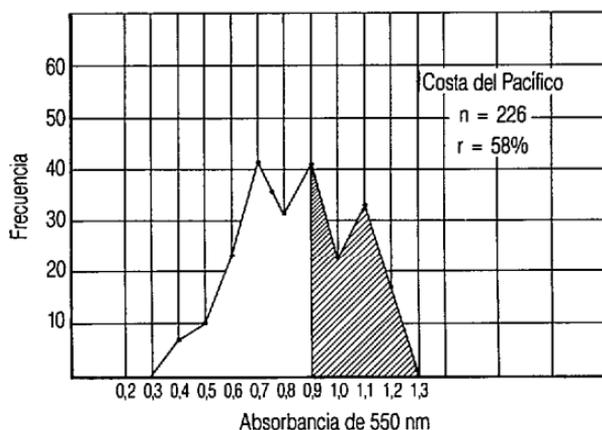
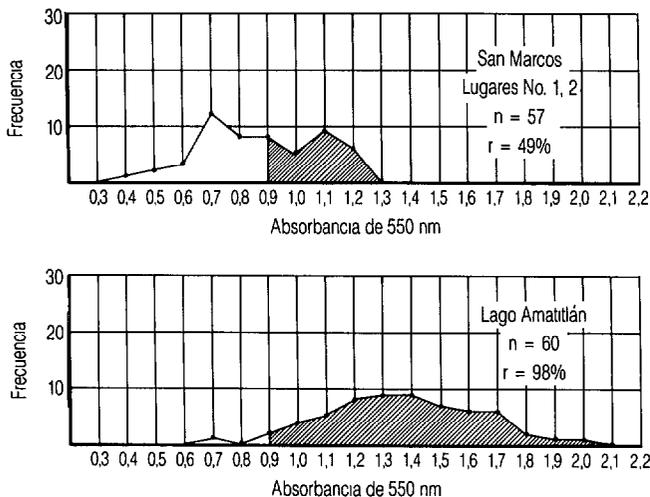


Figura 7. Comparación de las frecuencias y niveles de absorbanza de los microensayos de la esterasa elevada realizados en dos lugares de recolección de *Anopheles albimanus* en Guatemala. Las frecuencias (a una absorbanza de 550 nm) se basaron en cuatro repeticiones del ensayo por mosquito. (n = tamaño de la muestra; r = nivel de resistencia por microensayo, que fue determinado por los criterios descritos)



DISCUSION

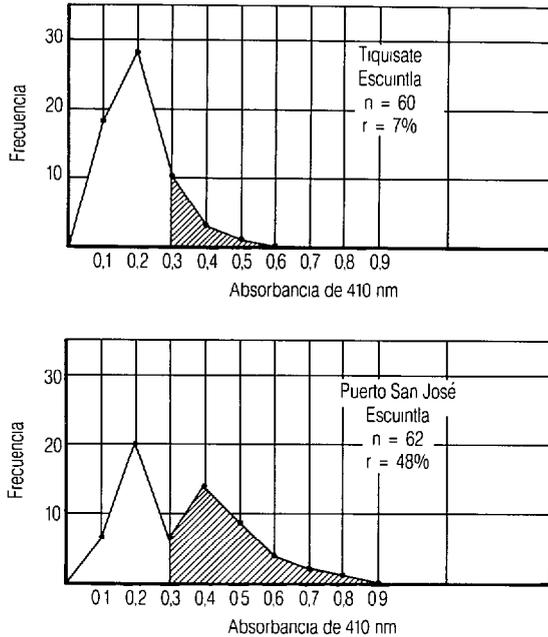
Hasta el presente estudio, el único mecanismo conocido de resistencia a los organofosforados y carbamatos en *A. albimanus* centroamericano era el relacionado con la acetilcolinesterasa insensible (24). Recientemente, se ha identificado un mecanismo de la esterasa elevada en *A. albimanus* haitiano similar al detectado en Guatemala, aunque no se ha registrado en ningún otro anofeles. No obstante, se ha observado la presencia de este mecanismo en estudios de campo de *A. crucians* en Haití y de *A. pseudopunctipennis* en Guatemala (Brogdon y Beach, datos no publicados). Otros investigadores han observado que los anticuerpos dirigidos contra las es-

terasas resistentes del *Culex* no reaccionaban frente a las esterasas de varios anofeles, aunque no se conocen los epitopos que estudiaron y además es posible que no sean generalmente aplicables al diagnóstico de las esterasas resistentes (25).

Tanto los mosquitos heterocigotos como los homocigotos resistentes y susceptibles se detectaron mediante el ensayo de la esterasa elevada. Sin embargo, hay que ser muy cauto al analizar datos aislados de un único genotipo, dado que copias múltiples de los genes de resistencia pueden complicar el análisis de los genes de resistencia dominantes únicos (26, 27). En los ensayos de la acetilcolinesterasa insensible se identificaron pocos genotipos homocigotos resistentes, lo cual era de esperar para unos niveles de resistencia tan bajos.

Los dos mecanismos estudiados en Guatemala parecen estar estrechamente asociados con la existencia de zonas de ex-

Figura 8. Comparación de las frecuencias y niveles de absorbancia de los microensayos de la acetilcolinesterasa insensible realizados en dos lugares de recolección de *Anopheles albimanus* en Escuintla, Guatemala. Las frecuencias (a una absorbancia de 410 nm) se basaron en tres repeticiones del ensayo y una repetición de control por mosquito. (n = tamaño de la muestra; r = nivel de resistencia por microensayo, que fue determinado por los criterios descritos)



plotación agrícola intensa, que son también las zonas con mayor densidad de mosquitos y las de mayor utilización de insecticidas por parte de los organismos de salud pública. Se precisan más estudios para definir los papeles relativos que desempeñan las aplicaciones de plaguicidas por los sectores de la agricultura y de la salud pública en la formación de los patrones de resistencia que se observan en lugares y épocas determinados. En este sentido, en estudios de campo de *A. albimanus* en Haití y de *A. culicifacies* en Sri Lanka se ha atribuido la selección de mosquitos resistentes a los rociamientos de insecticidas por las autoridades de salud pública (18).

El problema más importante de carácter operativo que se deduce de los datos del estudio de Guatemala es la heterogeneidad de la distribución de la resistencia. En primer lugar, la selección de los dos mecanismos de resistencia parece ocurrir en forma independiente, a pesar de que ambos están asociados con zonas cultivadas. Las zonas donde es común uno de los dos me-

canismos no tienen necesariamente altos niveles del otro, tal como se desprende por los datos recogidos en San Marcos y Puerto San José. Asimismo, la resistencia debida a uno u otro mecanismo puede estar sumamente localizada; ejemplos de ello son las comparaciones entre Tiquisate y Puerto San José, y entre el lago Amatitlán y San Marcos. Por último, las pautas de utilización local de insecticidas se asocian con los focos de resistencia, tal como se ilustra en los datos obtenidos en el lago Amatitlán y en Puerto San José.

Nuestros métodos de ensayo de microplaca facilitaron la identificación de estas diferencias en la distribución de la resistencia (10) y podrían, por medio de futuros estudios, ayudar a solventar los problemas de la resistencia en el campo (11). La capacidad de descubrir genotipos de resistencia de baja frecuencia para mecanismos específicos posibilitará la detección precoz de resistencia y la realización de estudios microepidemiológicos de resistencia exactos. Aun más importante, estos métodos harán asequibles para el personal de campo de los programas de control de la malaria las técnicas de lucha contra la resistencia del vector.

REFERENCIAS

- 1 Davidson, G. DDT-resistance and dieldrin resistance in *Anopheles albimanus*. *Bull WHO* 28:25-33, 1963.
- 2 Ariaratnam, V. y Georghiou, G. P. Carbamate resistance in *Anopheles albimanus*. Cross-resistance spectrum and stability of resistance. *Bull WHO* 51:655-659, 1974.
- 3 Ayad, H. y Georghiou, G. P. Resistance to organophosphates and carbamates in *Anopheles albimanus* based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase. *J Econ Entomol* 68:295-297, 1975.
- 4 Breeland, S. G. et al. Observations on malathion-resistant adults of *Anopheles albimanus* Weidemann in coastal El Salvador. *Bull WHO* 43:627-631, 1970.
- 5 Georghiou, G. P. Studies on resistance to carbamate and organophosphorous insecticides in *Anopheles albimanus*. *Am J Trop Med Hyg* 21:797-806, 1972.
- 6 Hemingway, J. y Georghiou, G. P. Studies on the acetylcholinesterase of *Anopheles albimanus* resistant and susceptible to organophosphate and carbamate insecticides. *Pestic Biochem Physiol* 19:167-171, 1983.
- 7 Herath, P. R. J. y Davidson, G. Multiple resistance in *Anopheles albimanus*. *Mosq News* 41:535-538, 1981.
- 8 Brown, A. W. A. Insecticide resistance in mosquitos: a pragmatic review. *J Am Mosq Control Assoc* 2:123-140, 1986.
- 9 Chapin, G. y Wasserstrom, R. Agricultural production and malaria resurgence in Central America and India. *Nature* 293:181-185, 1981.
- 10 Brogdon, W. G. y Dickinson, C. M. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Anal Biochem* 131:499-503, 1983.
- 11 Brogdon, W. G. A proposed new method under development for field detection and evaluation of insecticide resistance. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1984. Documento mimeografiado VBC/84.859.
- 12 Brogdon, W. G. New methods for biochemical field studies of insecticide resistance. Trabajo inédito presentado en la reunión anual de la American Mosquito Control Association, Sacramento, California, en 1982.
- 13 Hemingway, J. et al. Field and laboratory detection of the altered acetylcholinesterase resistance genes which confer organophosphate and carbamate resistance in mosquitos (Diptera Culicidae). *Bull Entomol Res* 76:559-565, 1986.

- 14 Brown, T. M. y Brogdon, W. G. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann Rev Entomol* 32:145-162, 1987.
- 15 Pasteur, N. y Georghiou, G. P. Filter-paper test for rapid determination of phenotypes with high esterase activity in organophosphate-resistant mosquitos. *Mosq News* 41:181-183, 1981.
- 16 Rees, A. T. *et al.* A simple method of identifying organophosphate resistance in adults of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc* 1:21-27, 1985.
- 17 Villani, F. *et al.* Inheritance and activity of some esterases associated with organophosphate resistance in mosquitos of the complex of *Culex pipiens* L. (Diptera Culicidae). *Bull Entomol Res* 73:153-170, 1983.
- 18 Hemingway, J. *et al.* Pesticide resistance mechanisms produced by field selection pressures on *Anopheles nigerrimus* and *A. culicifacies* in Sri Lanka. *Bull WHO* 64:755-758, 1985.
- 19 Breeland, S. G. Studies on the diurnal resting habits of *Anopheles albimanus* and *A. pseudopunctipennis* in El Salvador. *Mosq News* 32:99-106, 1972.
- 20 Sexton, J. D. *et al.* Comparison of an experimental updraft ultraviolet light trap with the CDC miniature light trap and biting collections in sampling for *Anopheles albimanus* in Haiti. *J Am Mosq Control Assoc* 2:168-173, 1986.
- 21 Brogdon, W. G. y Barber, A. M. Microplate assay of acetylcholinesterase inhibition kinetics in single mosquito homogenates. *Comp Biochem Physiol* (en prensa).
- 22 Brogdon, W. G. Mosquito protein microassay. I. Protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comp Biochem Physiol [B]* 79:457-459, 1984.
- 23 Brogdon, W. G. Mosquito protein microassay. II. Modification for potential field use. *Comp Biochem Physiol [B]* 79:461-464, 1984.
- 24 Organización Mundial de la Salud. *Resistencia de los vectores y reservorios de enfermedades a los plaguicidas. Décimo informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial.* Ginebra, 1986. Serie de Informes Técnicos 737.
- 25 Hemingway, J. *et al.* The use of ELISA demonstrates the absence of *Culex* organophosphate-resistance associated esterase in *Anopheles* species. *Pestic Biochem Physiol* 25:327-335, 1986.
- 26 Devonshire, A. L. *et al.* Quantitative and qualitative variation in the mRNA for carboxylesterases in insecticide-susceptible and resistant *Myzus persicae* (Sulz.). *Insect Biochem* 16:659-665, 1986.
- 27 Mouches, C. *et al.* Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a California *Culex* mosquito. *Science* 233:778-780, 1986.

SUMMARY

MICROPLATE ASSAY ANALYSIS OF THE DISTRIBUTION OF ORGANOPHOSPHATE AND CARBAMATE RESISTANCE IN GUATEMALAN *ANOPHELES ALBIMANUS*

Simple microplate assay methods for determining the frequency of insecticide resistance in single mosquitos were used to study the distribution and localization of organophosphate and carbamate resistance in field populations of *Anopheles albimanus* Weidemann in Guatemala, where such resistance, caused by heavy use of agricultural pesticides, has long been assumed to be

widespread. Areas of complete susceptibility to organophosphates and carbamates were observed, as well as areas where the resistant phenotypes represented up to 98% of the population. Overall, the resistance levels were lower and more localized than expected. Two mechanisms of resistance were identified by the microassay methods. These were the elevated esterase (nonspecific esterase) and insensitive acetylcholinesterase mechanisms which were selected independently, the former (documented for the first time in Central American anophelines) being predominant. These methods represent a promising new technology for the detection and assessment of resistance and will facilitate improved control strategy decisions.

Nuevo boletín sobre el SIDA

El Programa Global de la OMS sobre el SIDA, en colaboración con la Oficina de Higiene y Enfermedades Tropicales, publica desde septiembre de 1988 un nuevo boletín mensual que contiene síntesis de trabajos de investigación recientes en materia de SIDA. *AIDS Technical Bulletin* divulga resúmenes con comentarios de expertos de los más importantes artículos y documentos especializados. La Redacción invita asimismo a enviar copias de publicaciones sobre el SIDA o el VIH que no llegan a un público muy numeroso, para incluirlas en su boletín, de distribución gratuita, que pronto se editará también en español y francés, y que va dirigido principalmente a los trabajadores de la salud de los países en desarrollo. *Información:* WHO AIDS Technical Bulletin, Bureau of Hygiene and Tropical Diseases, Keppel street, London WC1E 7HT; teléfono: 01-636 8636; facsímil: 01-436 5589.