

¿EL IBUPROFENO Y FENOBARBITAL INFLUYEN EN LA TOLERANCIA DEL VECTOR DEL DENGUE AL LARVICIDA TEMEFOS?

DO IBUPROFEN AND PHENOBARBITAL INFLUENCE DENGUE VECTOR TOLERANCE TO THE LARVICIDE TEMEFOS?

Richar J. Morales-Rodríguez¹, Judith Roldán-Rodríguez² y Karina Salvador-Herrera³

Resumen

La liberación de productos farmacéuticos se ha incrementado en ecosistemas terrestres y acuáticos poniendo en riesgo a la biota, pudiendo generar múltiples impactos en los organismos, desde modificar la expresión enzimática hasta el impacto intergeneracional en los organismos expuestos. Este estudio evaluó la influencia del fenobarbital e ibuprofeno sobre tolerancia al insecticida temefos en dos poblaciones de *Aedes aegypti*, La Esperanza (LE) y Rockefeller (Rock). Las larvas I fueron expuestas a 17.7 µg/ml de ibuprofeno y 200 µg/ml de fenobarbital hasta alcanzar el estadio III; posteriormente, se determinó la mortalidad larvaria al temefos (0.005, 0.025 y 0.050 µg/ml) y la actividad enzimática de las esterasas. Se encontró que el fenobarbital favorece una mayor tolerancia a 0.025 µg/ml de temefos, a las 24 horas de exposición, en la población LE (44.00 ± 6.93% de mortalidad) a diferencia de la Rock (97.33 ± 2.67% de mortalidad); además, disminuye la actividad enzimática de las alfa esterasas en los especímenes Rock y LE (0.3892 ± 0.0756 y 0.1722 ± 0.0194, densidad óptica, respectivamente). Asimismo, el ibuprofeno reporta una menor DL₉₀ (0.024 µg/ml temefos) que el testigo (DL₉₀ = 0.039 µg/ml de temefos) a las 2 horas de exposición. Se concluye que el fenobarbital aumenta la tolerancia de larvas de *Aedes aegypti* al temefos, y el ibuprofeno estimula la actividad de las alfa y beta-esterasas.

Palabras clave: detoxificación, *Aedes aegypti*, esterasas, temefos, tolerancia, insecticida, ibuprofeno, fenobarbital.

Abstract

The release of pharmaceutical products has increased in terrestrial and aquatic ecosystems, putting the biota at risk, being able to generate multiple impacts on organisms, from modifying enzymatic expression to intergenerational impact on exposed organisms. This study evaluated the influence of phenobarbital and ibuprofen on tolerance to the insecticide temephos in two populations of *Aedes aegypti*, La Esperanza (LE) and Rockefeller (Rock). Larvae I were exposed to 17.7 µg/ml ibuprofen and 200 µg/ml phenobarbital until reaching stage III; subsequently, larvae mortality to temephos (0.005, 0.025 and 0.050 µg/ml) and the enzymatic activity of esterases were determined. Phenobarbital was found to favor a higher tolerance to 0.025 µg/ml of temephos, at 24 hours of exposure, in the LE population (44.00 ± 6.93% mortality) as opposed to Rock (97.33 ± 2.67% mortality); furthermore, it decreased enzymatic activity of alpha esterases in Rock and LE specimens (0.3892 ± 0.0756 and 0.1722 ± 0.0194, optical density, respectively). Also, ibuprofen reports a lower LD₉₀ (0.024 µg/ml temephos) than the control (DL₉₀ = 0.039 µg/ml temephos) at 2 hours of exposure with temephos. It is concluded that phenobarbital increases the tolerance of *Aedes aegypti* larvae to temephos, and ibuprofen stimulates the activity of alpha- and beta-esterases.

Key words: detoxification, *Aedes aegypti*, esterases, temephos, tolerance, insecticide, ibuprofen, phenobarbital.

Introducción

Los riesgos potenciales asociados con la liberación de productos farmacéuticos humanos al ambiente se han convertido en un tema cada vez más importante en la salud ambiental (Pereira *et al.*, 2020). Los analgésicos y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) se encuentran en los contaminantes emergentes más frecuentes en cuerpos de agua (Žur *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2020; Adeleye *et al.*, 2021) y la toxicidad ha comenzado a manifestarse en diferentes componentes biológicos de los ecosistemas (Muñiz-González, 2021). Asimismo, los barbitúricos pueden

inducir enzimas de desintoxicación en invertebrados (Kotze *et al.*, 2014).

El reporte de ibuprofeno en los ecosistemas se debe a la liberación del fármaco no metabolizado en la orina y la directa eliminación de pastillas no utilizadas u obsoletas en las aguas residuales (Buser *et al.*, 1999; Hernando *et al.*, 2006). Parolini (2020) demostró que la exposición al ibuprofeno induce daño celular y genético moderado en el mejillón cebrá *Dreissena polymorpha*. Los AINE pueden tener consecuencias peligrosas para toda la cadena trófica de agua dulce afectando la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas. Willoughby *et al.*

(2006) determinaron en poblaciones de *Drosophila melanogaster* que el barbitúrico fenobarbital induce la expresión de varios genes asociados al citocromo P450 y Glutación-S-Transferasa (GST).

La aparición de poblaciones resistentes se puede considerar un proceso inevitable debido a la continua presión de selección de moléculas tóxicas como los insecticidas (Brattsten, 1990). Sin embargo, la exposición a contaminantes emergentes, en dosis subletales, tienen un efecto desconocido y a largo plazo sobre la diversidad específica presente en los ecosistemas (Austin, 1998).

Riaz *et al.* (2009) demostraron la tolerancia a insecticidas en larvas de *Aedes aegypti* expuestas a dosis subletales de glifosato y benzo[a]pireno, posiblemente debido a la inducción cruzada de genes que codifican enzimas de desintoxicación. Asimismo, similares resultados obtuvieron Poupardin *et al.* (2008) al exponer larvas de *Ae. aegypti* a permetrina previa exposición al fluoranteno y cobre, y al temefos después de la exposición a la atrazina y al cobre. Se ha demostrado que las colinesterasas EST-13 y EST-14 encontradas en larvas pretratadas con fenobarbital están involucradas en la tolerancia al temefos (Sousa-Polezzi & Bicudo, 2004b).

Por otro lado, la exposición de larvas de *Ae. albopictus* al benzotiazol y al pentaclorofenol aumentaron la tolerancia a diferentes tipos de insecticidas como carbaril, rotenona y temefos (Suwanchaichinda & Brattsten, 2001, 2002).

Los contaminantes emergentes son sustancias no monitoreadas en el ambiente y su impacto en los ecosistemas aún no están descritos (Geissen *et al.*, 2015). Por ello, surge la necesidad de monitorear el impacto de dichos contaminantes en el metabolismo de los insecticidas. El presente trabajo tuvo por objetivo determinar la variación en la tolerancia al larvicida temefos en poblaciones de *Aedes aegypti* expuestas a los fármacos ibuprofeno y fenobarbital, así como evaluar los efectos en la actividad enzimática de las esterasas.

Materiales y métodos

Insectos

Para la realización de los experimentos se utilizaron colonias de *Ae. aegypti* criadas en el Laboratorio de Artropodología Parasitaria de la Universidad Nacional de Trujillo (La Libertad / Perú). Los estadios inmaduros se colocaron en recipientes con agua destilada estéril y alimento balanceado estéril, a 26.5 ± 1.0 °C, $60 \pm 5\%$ de humedad relativa y fotoperiodo de luz (12 h): oscuridad (12 h). La población Rockefeller (Rock, cepa susceptible de referencia) fue proporcionada por el Instituto Nacional de Salud (INS), Lima / Perú. La población silvestre La Esperanza (LE) fue colectada del Distrito La Esperanza, Provincia Trujillo, Región La Libertad, Perú.

Fármacos e Insecticida

Dos fármacos fueron usados en los ensayos: i) Fenobarbital Sódico® que contiene 200 mg/ 2 ml del ingrediente activo fenobarbital fabricado por CIPA S.A. (Lima, Perú), y, ii) Fredol® que contiene 400 mg del ingrediente activo ibuprofeno fabricado por Laboratorios Naturales y Genéricos S.A.C. (Lima, Perú). El insecticida utilizado fue Tecnilarv G® que contiene 1% del ingrediente activo temefos fabricado por Tecnología Química y Comercio S.A. (Lima, Perú).

Exposición de las larvas a los fármacos

Se establecieron tres grupos: dos experimentales IBU (ibuprofeno 17.7 µg/ml) y PB (fenobarbital 200 µg/ml) y un testigo S/F (sin fármaco). La elección de las concentraciones de los fármacos se basó en las bajas concentraciones reportadas en cuerpos de agua, asimismo en la concentración plasmática del ibuprofeno (Villalva-Rojas *et al.*, 2007) y en la concentración usada por Sousa-Polezzi & Bicudo (2004a).

Para cada grupo, se utilizó un litro de solución donde se expusieron 1 000 larvas I a fin de obtener larvas III que fueron utilizadas en la determinación de la tolerancia al insecticida. A las 48 y 72 h de iniciado la exposición, se le añadió 500 ml más de cada solución. Las soluciones de los fármacos fueron preparadas con agua destilada estéril.

Determinación de la tolerancia al larvicida temefos

El método de la OMS (WHO, 2005) se usó para medir la tolerancia al insecticida. Las larvas III de cada tratamiento fueron expuestas al larvicida temefos (0.005, 0.025 y 0.050 µg/ml) y agua destilada (como solución control). Los ensayos se realizaron por triplicado, bajo condiciones controladas similares a la crianza. La mortalidad se registró a las 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12 y 24 h. Las larvas se consideraron muertas cuando no presentaron movimiento al ser tocadas con un estilete en el sifón o región cervical.

Determinación de las esterasas

Para determinar las alfa- y beta-esterasas se utilizó el método propuesto por Rodríguez *et al.* (2001, 2003). Este protocolo se realizó en las larvas III que sobrevivieron en los ensayos con el insecticida. Las densidades ópticas se determinaron a 630 nm en un lector de microplaca Stat Fax® Modelo 3200 (Awareness Technology; Florida, USA).

Análisis de datos

El porcentaje de mortalidad se expresó como la media \pm error estándar. La actividad enzimática de las esterasas de las poblaciones expuestas a fármacos se evaluó mediante la prueba de comparación no paramétrica Kruskal-Wallis, seguido de la prueba post hoc Bonferroni y se expresaron como la media \pm error estándar. Los análisis estadísticos se desarrollaron con el software OriginPro® 2021 (OriginLab Corporation, USA) y el nivel de significancia se definió como $p \leq 0.05$ para todas las comparaciones.

La dosis letal media (DL₅₀), la dosis letal 90 (DL₉₀) y los límites de confianza al 95% con la prueba de bondad de ajuste de Pearson se calcularon mediante el modelo PROBIT. Este análisis se realizó mediante el software SPSS 22.0 (IBM SPSS Statistics, USA).

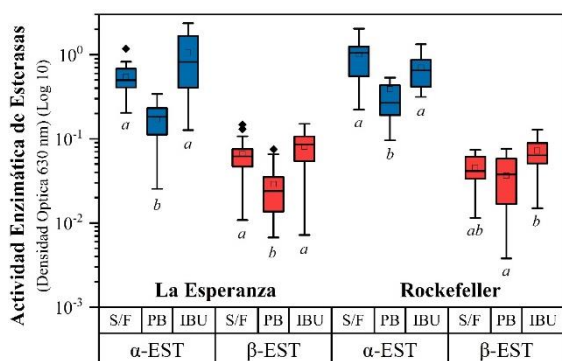
Resultados

En las larvas pretratadas con IBU (17.7 µg/ml) y PB (200 µg/ml) no se encontró mortalidad en las poblaciones de *Ae. aegypti* silvestre LE y de referencia Rock.

En la Figura 1 se muestra la variación del porcentaje de mortalidad de larvas III expuestas al larvicida temefos en las poblaciones LE y Rock de *Ae. aegypti* pretratadas con ibuprofeno 17.7 µg/ml y fenobarbital 200 µg/ml.

En la población LE expuesta al fenobarbital (LE-PB) y en la población Rock expuesta al fenobarbital (Rock-PB) se evidencia un aumento en la tolerancia al temefos. Al comparar las curvas de mortalidad generadas por temefos se observaron similares patrones entre la población LE expuestas al ibuprofeno (LE-IBU) y la población LE sin fármaco (LE-S/F). Asimismo, las curvas de mortalidad frente al temefos fueron diferentes al comparar las poblaciones Rock expuestas al ibuprofeno (Rock-IBU) y Rock sin fármaco (Rock-S/F).

En la Figura 2 se muestra la actividad enzimática de las alfa y beta-esterasas de las poblaciones LE y Rock. La actividad de las alfa-esterasas en la población LE-PB y LE-IBU muestran diferencias significativas ($p < 0.001$), al igual que la población Rock-PB y Rock-IBU. Las densidades ópticas de la actividad de las beta-esterasas fueron diferentes entre las poblaciones LE-PB y LE-IBU ($p < 0.001$) y Rock-PB y Rock-IBU ($p < 0.008$). El PB disminuye la actividad de las alfa-esterasas y el IBU aumenta las beta-esterasas de la población silvestre LE al ser comparadas con el grupo S/F.



α-EST, alfa-esterasas. β-EST, beta-esterasas. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de comparaciones por pares de Bonferroni ($p \leq 0.05$).

Figura 2. Actividad enzimática de las esterasas presentes en larvas de *Ae. aegypti* tratadas con ibuprofeno y fenobarbital.

En la Tabla 1 se muestra la toxicidad del larvicida temefos (DL₅₀, DL₉₀ y los respectivos límites de confianza al 95%) de las poblaciones ensayadas. La DL₉₀ de LE-IBU y LE-S/F muestran valores similares; sin embargo, al analizar la DL₉₀ de la población Rock-IBU tiende a ser menor en comparación con el grupo Rock-S/F.

Discusión

La tolerancia de las larvas LE y Rock expuestas a pretratamiento al IBU y PB concuerda con lo reportado por Hu *et al.* (2017), quienes al realizar un tratamiento continuo de huevos con 0.2 mg/ml de solución acuosa de PB hasta el cuarto estadio y con un tratamiento discontinuo de larvas con 0.26 mg/ml en solución acuosa expuestas por 30 h antes de utilizarlos en los ensayos con un biolarvicida, en ambos no tuvieron mortalidad larvaria.

La mortalidad de larvas LE-IBU ($9.0 \pm 0.58\%$) expuestas al organofosforado temefos a la concentración de 0.005 µg/ml fue similar al grupo LE-S/F ($8.0 \pm 0.58\%$) hasta las 24 horas. Estos resultados podrían atribuirse a las características que tiene una población procedente de padres silvestres cuyos hábitats contienen ciertas dosis de fármacos y/u otros contaminantes, pues se ha reportado que cada año un gran número de compuestos farmacéuticos son consumidos y luego de su metabolismo parcial y desecho, ingresan al alcantarillado de las plantas de tratamiento (Marchlewicz *et al.*, 2015). Sin embargo, la eliminación de estos compuestos no es eficiente, y se reportan en plantas de tratamiento de aguas residuales, aguas superficiales e incluso en agua de consumo humano (Zur *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2020; Adeleye *et al.*, 2021). Además, el ibuprofeno es uno de los AINE de alto consumo en el mundo y ha sido detectado en el medio ambiente en el rango de concentración de ppt a ppb (Murdoch & Hay, 2015; Marchlewicz *et al.*, 2017; Zur *et al.*, 2018).

Las DL₅₀ y DL₉₀ de las poblaciones LE-IBU y LE-S/F fueron similares con las de Rock-IBU y Rock-S/F, hasta las 3 h de evaluación. Esto se debería a que la cepa Rock es susceptible a insecticidas (Costa-da-Silva *et al.*, 2017) y que por ser una población mantenida en laboratorio ha perdido rasgos originales o la adquisición de características atípicas de una población silvestre, lo que explicaría la diferencia en la respuesta de la población LE y Rock. Los resultados revelaron que el IBU no altera la respuesta en cuanto a la tolerancia al insecticida temefos.

La baja mortalidad al temefos (0.025 y 0.050 µg/ml) en larvas de la población LE-PB se debería a que este producto xenobiótico induce la producción de enzimas detoxificantes como el citocromo P450, GST, entre otras enzimas, con acción detoxificantes (Kotze, 1995). Según Hemingway *et al.* (2004) la resistencia metabólica generalmente implica el aumento de la actividad de cualquiera de los tres grupos principales de

enzimas de desintoxicación: carboxilesterasas, oxidasas multifunción (MFO) y GST en *Ae. aegypti*.

El sistema enzimático del citocromo P450 juega un papel importante en el metabolismo de una amplia gama de productos químicos endógenos y exógenos, pues están implicados en la resistencia de los insectos a los plaguicidas organofosforados y carbamatos. Se ha demostrado que el PB promueve la resistencia a los insecticidas al inducir la sobreexpresión del citocromo P450 (Hu *et al.*, 2017), lo que respaldaría los resultados encontrados.

Se han implicado tres familias de enzimas metabólicas en el metabolismo de insecticidas: estererasas, GST y P450, dado que la resistencia a los insecticidas en una población de mosquitos podría verse afectada simultáneamente por más de un mecanismo (Kasai *et al.*, 2014).

En la población LE-IBU hubo mayor diversidad en la respuesta a la producción de alfa estererasas en comparación con LE-S/F; sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellas, pero sí con la población LE-PB donde hubo una menor densidad óptica en comparación con las anteriores. Estos resultados concuerdan con lo comunicado por Sousa-Polezzi & Bicudo (2004b), quienes investigaron el efecto de PB en la inducción de tolerancia al insecticida organofosforado temefos en larvas de *Ae. aegypti* encontrando un aumento de tolerancia, lo que sugiere que las oxidasas no están involucradas en el proceso de tolerancia y que PB induce la expresión de estererasas que están involucradas en la tolerancia a temefos, mecanismo responsable del desarrollo de resistencia a insecticidas.

Asimismo, se evidenció la reducción del tamaño en las larvas de *Ae. aegypti* pre expuestas a los fármacos durante la ejecución de los bioensayos; estos resultados también han sido reportados por Sousa-Polezzi & Bicudo (2004a) quienes determinaron el efecto del PB sobre la emergencia y la longevidad de los adultos.

El PB aumenta la tolerancia al temefos en el mosquito *Ae. aegypti*, a diferencia del IBU. Estos resultados indican que los contaminantes emergentes deben ser considerados en los programas de vigilancia de susceptibilidad vectorial a insecticidas para evitar resistencia por preexposición a dosis subletales. Asimismo, se deben realizar estudios con otros xenobióticos frecuentemente encontrados en cuerpos de agua y con otros modelos animales de interés médico-veterinario.

Conclusiones

El presente estudio determinó que existe variación en la tolerancia al temefos en las poblaciones de *Aedes aegypti* La Esperanza y Rockefeller pretratadas con fenobarbital e ibuprofeno; encontrándose un incremento de la tolerancia en las poblaciones expuestas a fenobarbital. Asimismo, se determinó que

el ibuprofeno estimula la actividad de las alfa y beta-esterasas.

Agradecimientos

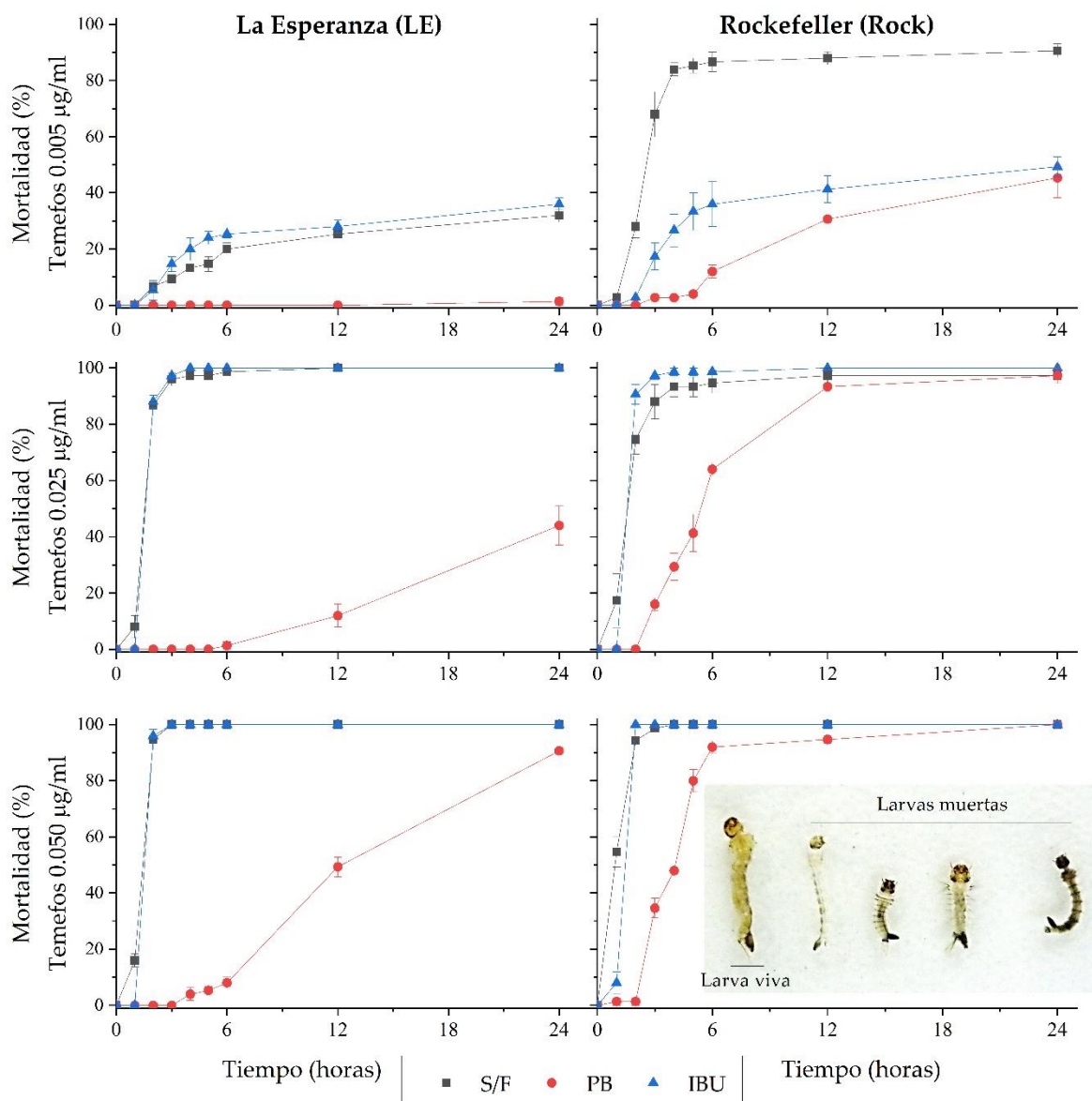
En memoria al Dr. Hermes Escalante Añorga por permitir el uso de equipos para la determinación de la actividad enzimática de las poblaciones evaluadas.

Literatura citada

- Adeleye A.S., Xue J., Zhao Y., Taylor A.A., Zenobio J. E., Sun Y., Han Z., Salawu O.A. & Zhu Y. 2021. Abundance, fate, and effects of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments. *Journal of Hazardous Materials*, 424-B: 127284. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127284>.
- Austin B. 1998. The effects of pollution on fish health. *Journal of applied microbiology*, 85(S1): 234S-242S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1998.tb05303.x>.
- Brattsten, L.B. 1990. Resistente mechanisms to carbamate and organophosphate insecticide (Chapter 3). *In: Green M.B., LeBaron H.M. & Moberg W.K. (eds.) Managing resistance to agrochemicals*. 42-60. ACS Symposium Series Vol. 421. American Chemical Society. Washintong, D.C. DOI: 10.1021/bk-1990-0421.ch003.
- Buser H.-R., Poiger T. & Müller M.D. 1999. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental Science & Technology*, 33(15): 2529-2535. <https://doi.org/10.1021/es981014w>.
- Costa-da-Silva A.L., Ioshino R.S., Araújo H.R.C.d., Kojin B.B., Zanotto P.M.d.A., Oliveira D.B.L., Melo S.R., Durigon E.L. & Capurro M.L. 2017. Laboratory strains of *Aedes aegypti* are competent to Brazilian Zika virus. *PLoS one*, 12(2): e0171951. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171951>.
- Geissen V., Mol H., Klumpp E., Umlauf G., Nadal M., Van der Ploeg M., Van de Zee S.E. & Ritsema C.J. 2015. Emerging pollutants in the environment: a challenge for water resource management. *International Soil and Water Conservation Research*, 3(1): 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.iswcr.2015.03.002>.
- Hemingway J., Hawkes N.J., McCarroll L. & Ranson H. 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34(7): 653-665. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2004.03.018>.
- Hernando M.D., Mezcuca M., Fernández-Alba A.R. & Barceló D. 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69(2): 334-342. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.037>.
- Hu X., Guo Y., Wu S., Liu Z., Fu T., Shao E., Rebeca C.-L., Zhao G., Huang Z., Gelbič I., Guan X., Zou S., Xu L. & Zhang L. 2017. Effect of proteolytic and detoxification enzyme inhibitors on *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* tolerance in the mosquito *Aedes aegypti*. *Biocontrol Science and Technology*, 27(2): 169-179. <https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1253828>.

- Kasai S., Komagata O., Itokawa K., Shono T., Ng L.C., Kobayashi M. & Tomita T. 2014. Mechanisms of pyrethroid resistance in the dengue mosquito vector, *Aedes aegypti*: target site insensitivity, penetration, and metabolism. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(6): e2948. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002948>.
- Kotze A. 1995. Induced insecticide tolerance in larvae of *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) following dietary phenobarbital treatment. *Australian Journal of Entomology*, 34(3): 205-209. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.1995.tb01319.x>.
- Kotze A.C., Ruffell A.P. & Ingham A.B. 2014. Phenobarbital induction and chemical synergism demonstrate the role of UDP-glucuronosyltransferases in detoxification of naphthalophos by *Haemonchus contortus* larvae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(12): 7475-7483. <https://doi.org/10.1128/AAC.03333-14>.
- Marchlewicz A., Guzik U. & Wojcieszynska D. 2015. Over-the-counter monocyclic non-steroidal anti-inflammatory drugs in environment—sources, risks, biodegradation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(10): Article number 355. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2622-0>.
- Marchlewicz A., Guzik U., Hupert-Kocurek K., Nowak A., Wilczyńska S. & Wojcieszynska D. 2017. Toxicity and biodegradation of ibuprofen by *Bacillus thuringiensis* B1 (2015b). *Environmental Science and Pollution Research*, 24(8): 7572-7584. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8372-3>.
- Muñiz-González A.-B. 2021. Ibuprofen as an emerging pollutant on non-target aquatic invertebrates: Effects on *Chironomus riparius*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 81: 103537. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103537>.
- Murdoch R.W. & Hay A.G. 2015. The biotransformation of ibuprofen to trihydroxyibuprofen in activated sludge and by *Variovorax* Ibu-1. *Biodegradation*, 26(2): 105-113. <https://doi.org/10.1007/s10532-015-9719-4>.
- Parolini M. 2020. Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review. *Science of The Total Environment*, 740: 140043. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140043>.
- Pereira A., Silva L., Laranjeiro C., Lino C. & Pena A. 2020. Selected pharmaceuticals in different aquatic compartments: Part II—Toxicity and environmental risk assessment. *Molecules*, 25(8): 1796. <https://doi.org/10.3390/molecules25081796>.
- Poupardin R., Reynaud S., Strode C., Ranson H., Vontas J. & David J.-P. 2008. Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*: impact on larval tolerance to chemical insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(5): 540-551. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2008.01.004>.
- Riaz M.A., Poupardin R., Reynaud S., Strode C., Ranson H. & David J.-P. 2009. Impact of glyphosate and benzo (a) pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics. *Aquatic Toxicology*, 93(1): 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.03.005>.
- Rodríguez M.M., Bisset J.A., Díaz C. & Soca L.A. 2003. Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducido por la selección con el insecticida organofosforado malation. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 55(2): 105-111. <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v55n2/mtr08203.pdf>.
- Rodríguez M.M., Bisset J.A., Molina D., Díaz C. & Soca L.A. 2001. Adaptación de los métodos en placas de microtitulación para la cuantificación de la actividad de esterasas y glutatión-s-transferasa en *Aedes aegypti*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 53(1):32-36. <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v53n1/mtr06101.pdf>.
- Sousa-Polezzi R.d.C. & Bicudo H.E.M.d.C. 2004a. *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae): a new system to study impaired biological effects of phenobarbital. *Arq Ciênc Saúde*, 11(2): 128-132. https://repositorio-racs.famerp.br/racs_ol/Vol-11-2/ac14%20-%20id%2054.pdf.
- Sousa-Polezzi R.d.C. & Bicudo H.E.M.d.C. 2004b. Effect of phenobarbital on inducing insecticide tolerance and esterase changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Genetics and Molecular Biology*, 27(2): 275-283. <https://www.scielo.br/j/gmb/a/T3Qt5PmDG4kXskQznNmCFGv/?format=pdf&lang=en>.
- Suwanchaichinda C. & Brattsten L. 2001. Effects of exposure to pesticides on carbaryl toxicity and cytochrome P450 activities in *Aedes albopictus* larvae (Diptera: Culicidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 70(2): 63-73. <https://doi.org/10.1006/pest.2001.2544>.
- Suwanchaichinda C. & Brattsten L.B. 2002. Induction of microsomal cytochrome P450s by tire-leachate compounds, habitat components of *Aedes albopictus* mosquito larvae. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, 49(2): 71-79. <https://doi.org/10.1002/arch.10009>.
- Villalva-Rojas O., Grande-Ortiz M., Ortiz J., Isasi J., Yantas D. & Fiestas V. 2007. Estudio de bioequivalencia del ibuprofeno genérico 400 mg tabletas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 24(4): 356-362. <https://rpmpesp.ins.gob.pe/index.php/rpmpesp/article/view/1134>.
- WHO. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO (World Health Organization). WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69101/WHO_CDS?sequence=1.
- Willoughby L., Chung H., Lumb C., Robin C., Batterham P. & Daborn P.J. 2006. A comparison of *Drosophila melanogaster* detoxification gene induction responses for six insecticides, caffeine and phenobarbital. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36(12): 934-942. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2006.09.004>.
- Xie H., Chen J., Huang Y., Zhang R., Chen C.-E., Li X. & Kadokami K. 2020. Screening of 484 trace organic contaminants in coastal waters around the Liaodong Peninsula, China: Occurrence, distribution, and ecological risk. *Environmental Pollution*, 267: 115436. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115436>.

Żur J., Piński A., Marchlewicz A., Hupert-Kocurek K., Wojcieszńska D. & Guzik U. 2018. Organic micropollutants paracetamol and ibuprofen—toxicity, biodegradation, and genetic background of their utilization by bacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(22): 21498-21524. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2517-x>.



LE, población La Esperanza. Rock, población Rockefeller. S/F, sin fármaco. PB, fenobarbital. IBU, ibuprofeno. Media ± Error Estándar.

Figura 1. Curvas de mortalidad al larvicida temefos (0.005, 0.025 y 0.050 µg/ml) de dos poblaciones de *Aedes aegypti* expuestas a ibuprofeno 17.7 µg/ml y fenobarbital 200 µg/ml.

Tabla 1. Toxicidad del larvicida temefos de dos poblaciones de *Aedes aegypti*.

Grupo	La Esperanza				Rockefeller			
	DL ₅₀ (µg/ml, LC95%)	DL ₉₀ (µg/ml, LC95%)	Intercepto ± ES	X ² (gl = 10)	DL ₅₀ (µg/ml, LC95%)	DL ₉₀ (µg/ml, LC95%)	Intercepto ± ES	X ² (gl = 7)
Sin Fármaco (S/F)								
2da hora	0.013 (0.011 - 0.016)	0.032 (0.027 - 0.041)	6.228 ± 0.574	10.458 (p = 0.164)	0.010 (0.008 - 0.012)	0.039 (0.029 - 0.056)	4.350 ± 0.471	8.194 (p = 0.316)
3ra hora	0.010 (0.008 - 0.012)	0.019 (0.016 - 0.025)	8.878 ± 0.942	2.585 (p = 0.921)	0.002 (0.000 - 0.006)	0.021 (0.011 - 0.116)	3.576 ± 0.536	14.981 (p = 0.036)
Fenobarbital (PB)								
2da hora	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
3ra hora	NS	NS	NS	NS	0.095 (0.061 - 0.248)	0.617 (0.239 - 6.279)	1.611 ± 0.538	2.999 (p = 0.885)
Ibuprofeno (IBU)								
2 hora	0.013 (0.011 - 0.016)	0.030 (0.025 - 0.038)	6.748 ± 0.622	10.792 (p = 0.148)	0.013 (0.011 - 0.015)	0.024 (0.020 - 0.029)	8.953 ± 0.907	3.669 (p = 0.817)
3 hora	0.009 (0.007 - 0.010)	0.017 (0.014 - 0.023)	8.841 ± 1.038	1.979 (p = 0.961)	0.008 (0.007 - 0.010)	0.017 (0.014 - 0.023)	8.600 ± 1.028	3.566 (p = 0.828)

DL₅₀, concentración letal que afecta al 50% de la población. DL₉₀, concentración letal que afecta el 90% de la población. ES, Error estándar. LC95%, límite de confianza al 95%. Prueba de bondad de ajuste de Pearson. X², Chi-cuadrado. gl, grados de libertad. NS, no se encontró mortalidad.

¹ Filiación actual: Universidad Nacional Agraria La Molina \ Facultad de Ciencias \ Departamento de Biología. Av. La Molina s/n, La Molina / Lima / Perú. Filiación cuando se desarrolló el trabajo: Universidad Nacional de Trujillo \ Facultad de Ciencias Biológicas \ E.A.P. Microbiología y Parasitología. Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo / La Libertad / Perú). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7216-0658>. Correspondencia: rmorales@lamolina.edu.pe.

² Filiación actual: Universidad Nacional de Trujillo \ Facultad de Ciencias Biológicas \ Departamento de Microbiología y Parasitología. Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo / La Libertad / Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1283-6951>.

³ Filiación actual: Centro De Salud Villa Primavera Sullana / Subregión de Salud Luciano Castillo Colonna. Villa Primavera s/n, Sullana / Piura / Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5922-8275>.