NOTA CIENTÍFICA

SUSCEPTIBILIDAD A INSECTICIDAS EN UNA POBLACION DE Aedes aegypti (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) PROCEDENTE DE TABASCO, MEXICO

Saúl Sánchez Soto¹, J. Concepción Rodríguez Maciel², Angel Lagunes Tejeda², Hussein Sánchez Arroyo² y David Mota Sánchez²

¹Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad, Campus Tabasco, Apartado Postal 24, 86500, H. Cárdenas, Tabasco, México. E-mail: ssanchez_soto@hotmail.com ²Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad, Campus Montecillo, 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México

La aplicación de insecticidas ha sido hasta ahora el método más comúnmente empleado para el control del mosquito *Aedes aegypti*, transmisor del dengue y de la fiebre amarilla urbana. Sin embargo, el control de éste se ha visto impedido muchas veces por su resistencia a los insecticidas. En varios casos, la resistencia de este vector ha estado asociada con las aplicaciones de insecticidas que se realizan para combatir plagas agrícolas. Los casos de dengue hemorrágico ocurridos recientemente en algunos estados de la República Mexicana, incluyendo Tabasco, constituyen una evidencia de la necesidad de conocer el estado de la susceptibilidad a insecticidas en las poblaciones de *Ae. aegypti* de las zonas urbanas y rurales de alto riesgo epidémico. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la susceptibilidad de una población de *Ae. aegypti* procedente de una zona cacaotera de La Chontalpa, Tabasco, a diferentes insecticidas. Los bioensayos se realizaron con larvas del cuarto instar temprano. Se evaluaron los insecticidas: diclorvós, fentión, fenvalerato, malatión, naled, permetrina, pirimifós metílico, propoxur y temefós. Los resultados indican que dicha población es susceptible a todos los productos evaluados. Esta susceptibilidad se debe muy probablemente a que en esa región no se realizan aplicaciones de insecticidas en forma rutinaria contra este vector. No obstante, existe la probabilidad de que los insecticidas que se aplican en las plantaciones de cacao ejerzan, de manera indirecta, cierta presión de selección en *Ae. aegypti*. **Palabras clave:** *Aedes aegypti*, Culicidae, susceptibilidad, insecticidas.

Susceptibility to insecticides in a population of Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae)

from Tabasco, Mexico. The use of insecticides has been the most common method to control the mosquito Aedes aegypti, vector of dengue and urban yellow fever. However, the control of this species has been hampered by its ability to develop insecticide resistance. In several cases, resistance of Ae. Aegypti has been associated with the use of agricultural insecticides. Recent cases of dengue hemorrhagic fever have been documented in some mexican states, including Tabasco. Therefore it is of paramount importance to know susceptibility to insecticides in the Ae. Aegypti populations from urban and rural areas with high risk of infection. The aim of this study was to determine the susceptibility to insecticides in a population of Ae. Aegypti from an area of cocoa producing of La Chontalpa, Tabasco. Early fourth instar larvae were biossayed with the following insecticides: dichlorvos, fenthion, fenvalerate, malathion, naled, permethrin, pirimiphos-methyl, propoxur and temephos. Ae. Aegypti population is susceptible to all the insecticides. This susceptibility might be due to the fact that few applications of insecticides are made to control Ae. Aegypti. However, there is posibility of indirect selection of Ae. Aegypti by insecticides used to control cocoa pests.

Key words: Aedes aegypti, Culicidae, susceptibility, insecticides

Introducción

En años recientes los casos de dengue se han incrementado en América, al grado que ha llegado a ser la enfermedad arboviral de mayor impacto en la salud pública de este continente (Pinheiro, 1989; Nathan, 1993). La historia documentada reciente de la transmisión de dengue en México comenzó en 1978 en la frontera con Guatemala. Desde entonces se ha propagado de tal forma, que para principios de la presente década ya era endémico en 29 de los 32 estados del país (Gómez, 1991). Actualmente la importancia de dicha enfermedad es mayor en este país debido a que también se presenta en su forma hemorrágica, conocida como dengue hemorrágico, que puede ser mortal (Gratz, 1991).

Desafortunadamente aún no se dispone de una vacuna contra el dengue. Por lo tanto, el control del vector, Aedes aegypti, sigue siendo la única opción para prevenir, interrumpir o reducir la transmisión de esta enfermedad. Tomando en cuenta los hábitos domésticos de Ae. aegypti, un método de control adecuado consiste en eliminar o reducir los sitios de cría de las larvas de este mosquito. Aunque muchos países han incluido este método en sus programas de control, por diversos motivos no se ha adoptado de manera satisfactoria. Por otro lado, se ha visto que esta y otras medidas no aseguran la rápida reducción de la población de adultos de Ae. aegypti necesaria cuando amenaza o surge una epidemia. Por lo que en situaciones de emergencia, el uso de insecticidas aplicados especialmente en volúmenes ultra-bajos, parece ser la medida de combate más adecuada (Gratz, 1991; Nelson, 1991; Nathan, 1993; Tidwell et al., 1994).

Debido a la alta capacidad de Ae. aegypti para desarrollar resistencia a insecticidas (Fox y García, 1961; Brown, 1986; Georghiou y Lagunes, 1991; Mekuria et al., 1991), todo programa de control que involucre el uso de estos productos debe apoyarse en evaluaciones periódicas que indiquen el grado de susceptibilidad de las poblaciones de este vector hacia tales productos. Estas evaluaciones no sólo deben hacerse con los insecticidas empleados de manera rutinaria, sino también con aquellos productos que se podrían usar en situaciones de emergencia, pues la susceptibilidad a insecticidas puede verse afectada en poblaciones de Ae. aegypti que son seleccionadas indirectamente por los insecticidas que se aplican para combatir otras plagas, tanto en ambientes urbanos como agrícolas (Pinto, 1956; Flynn et al., 1964; Kerr et al., 1964; Schliessmann, 1964; Stutz et al., 1964; Pant et al., 1977; Mekuria et al., 1991; Nathan, 1993).

Varios productos que legalmente pueden ser empleados en México para el combate de *Ae. Agypti* pertenecen a los mismos grupos toxicológicos de los insecticidas que se utilizan para el combate de plagas en cultivos agrícolas de La Chontalpa, Tabasco (Moscoso *et al.*, 1993; Sánchez y Rodríguez, 1993). Esto indica que comparten básicamente los mismos mecanismos de resistencia (Lagunes y Rodríguez, 1989). Por lo tanto, ante la amenaza o aparición de un brote de dengue en esta región, se corre el riesgo de que las poblaciones de *Ae. aegypti* posiblemente seleccionadas con esos productos agrícolas, no puedan ser combatidas eficazmente con uno o más insecticidas autorizados contra esta especie; incluyendo productos que aún no se han empleado contra la misma.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la susceptibilidad a diferentes insecticidas en una población de *Ae. aegypti* procedente de una zona productora de cacao de La Chontalpa.

Materiales Y Metodos

Se colectaron alrededor de 700 larvas de mosquitos en diciembre de 1994 y enero de 1995. Las colectas se hicieron en contenedores de desecho y en abrevaderos artificiales en un área cacaotera ubicada a unos 5 km al oeste de la ciudad de Cárdenas, Tabasco. El material colectado se llevó a las cámaras de cría del Programa de Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Estado de México. El material biológico se analizó cuidadosamente para desechar todos los organismos que no correspondieran a la especie *Aedes aegypti*. La cría en laboratorio se inició a partir de ese material purificado y se reprodujo por lo menos hasta la cuarta generación con la finalidad de obtener suficiente cantidad de larvas para realizar los estudios de susceptibilidad a insecticidas.

Ae. aegypti se crío en laboratorio siguiendo el procedimiento propuesto por Casanges et al. (1949), con ligeras modificaciones. Para que las hembras ovipositaran, se colocaron dos tiras de papel bond de 22 x 8 cm en un recipiente que contenía aproximadamente 0.5 L de agua corriente. Los huevecillos adheridos al papel se colectaron cada dos días y se sometieron a un proceso de secado a temperatura ambiente por un mínimo de cuatro días antes de ponerlos a eclosionar. Se colocaron muestras aleatorias de aproximadamente 1000 huevecillos en bandejas de plástico de 23 x 18 x 9 cm, que contenían 2 L de agua corriente, desinfectada con plata coloidal estable, a una temperatura de 27°C. Diariamente se les proporcionó a las larvas 0.5 g de alimento constituido por dieta para roedor de laboratorio Bluebonnet® en mezcla con alga espirulina en una proporción 4:1. Las pupas se colectaron diariamente y se colocaron en jaulas de 36 x 25 x 25 cm para la emergencia de los adultos. Se utilizaron alrededor de 600 adultos de ambos sexos como parentales de la generación subsecuente. Cada dos días se introdujo un hámster a la jaula para que las hembras obtuvieran sangre y pudieran desarrollar sus huevecillos. Además, se proporcionó agua azucarada al 10% para la alimentación de ambos sexos. Las cámaras de cría se mantuvieron a 27±2°C de temperatura, 50-60% de humedad relativa y un fotoperíodo de 14 h de luz de día simulada y 10 horas de obscuridad. Este mismo procedimiento de cría se realizó con una población susceptible de laboratorio, con la cual se hicieron también los bioensayos como punto de comparación.

Para los bioensayos se utilizaron los siguientes insecticidas: diclorvós (93%, Química Lucava), fentión (96.7%, Bayer), fenvalerato (Belmark 100, 10%, Shell), malatión (95%, Química Lucava), naled (85%, Química Lucava), permetrina (Ambush 50, 50%, ICI), pirimifós metil (Actellic 50, 50%, ICI), propoxur (99.2%, Bayer) y temefós (Abate 50, 50%, Helios). Estos insecticidas se usan para el combate de mosquitos adultos, excepto el temefós que se usa para el combate de larvas. Para preparar las concentraciones deseadas, se usaron como diluyentes acetona grado técnico para los productos técnicos y agua destilada para los productos comerciales.

Para cada bioensayo se usaron por lo menos cuatro concentraciones del insecticida, las cuales fueron determinadas previamente en la búsqueda de concentraciones que causaran una mortalidad entre el 0% y 100%. Se colocaron grupos de 20 larvas del cuarto instar temprano en vasos de plástico desechables que contenían 99 ml de agua destilada. A cada vaso se le aplicó 1 ml de la concentración respectiva del insecticida. Al testigo se le agregó 1 ml de acetona o de agua destilada, según el caso. La mortalidad se registró a las 24 h de la aplicación y se ajustó por mortalidad en el testigo mediante el uso de la ecuación de Abbott (Abbott, 1925). Cuando la mortalidad en el testigo excedió el 10%, la repetición respectiva se desechó. Cada juego de concentraciones de insecticidas se repitió cinco veces, cada una en día diferente pero a la misma hora.

Los datos del bioensayo se procesaron con el análisis probit usando el programa Raymond (Raymond, 1985). La respuesta relativa a cada insecticida se obtuvo dividiendo la CL50 ó CL95 de la población de campo entre la CL50 ó CL95 de la población de laboratorio. Como criterio para determinar si las líneas de respuesta log dosisprobit de la población de campo y la población susceptible eran similares en un nivel de mortalidad determinado, se compararon, a ese nivel, los límites de confianza. Si los límites de confianza se traslapaban, se tomó como indicación de que no había diferencia significativa en la respuesta, al nivel de mortalidad comparado.

Resultados y Discusion

El análisis comparativo de la respuesta a los insecticidas evaluados, revela que la población de campo de *Ae. aegypti* es susceptible (Cuadro 1).

Esta susceptibilidad se puede explicar por el hecho de que en la región donde se colectó Ae. aegypti, generalmente no se hacen aplicaciones de insecticidas con la intención de combatir larvas de esta especie u otros artrópodos que conviven en el mismo hábitat. Tampoco se realiza un control químico rutinario a gran escala para combatir las poblaciones adultas de este vector. Sin embargo, existe la posibilidad de que los insecticidas que se aplican para el combate de las plagas del cacaotero ejerzan, de manera indirecta, cierta presión de selección en larvas de Ae. aegypti. Esta consideración se deriva del hecho de que las plantaciones de cacao se ubican comúnmente muy próximas a las casashabitación. Además en dichas plantaciones, cerca de las casas, es común encontrar montículos de cáscaras de frutos de cacao conocidos como "quebraderos". Para otras regiones se sabe que los "quebraderos", al retener el agua de lluvia, sirven como críaderos de larvas de mosquitos de la familia Culicidae (Soria y Santos, 1980). Sin embargo, en Tabasco no se han explorado estos contenedores como posibles sitios de cría de larvas de Ae. aegypti. Por otro lado, la cantidad de insecticidas que se aplican en el cultivo de cacao de esta región disminuyó notoriamente durante los últimos años.

Las aplicaciones intradomiciliarias de DDT que realiza la Secretaría de Salud para el combate del mosquito *Anopheles albimanus* Wiedemann, principal transmisor del paludismo en la región (Fernández, 1988), pudieran constituir un factor de selección indirecta importante para las poblaciones adultas de *Ae. aegypti*. De hecho, desde 1956, año en que se inició la campaña nacional para la erradicación del paludismo en México, ya se esperaba que las aplicaciones de DDT contra los vectores de esta enfermedad contribuyeran en gran medida en la eliminación del *Ae. aegypti*, cuya campaña de erradicación en México, realizada entre 1947 y 1963, se había interrumpido en 1955 (Pinto, 1956; Kerr *et al.*, 1964).

Estudios realizados en *Ae. aegypti* y otras especies de artrópodos, han revelado que la resistencia al DDT puede conferir resistencia cruzada a los piretroides a través de dos mecanismos: insensibilidad en el sitio de acción y oxidasas de función mixta (Chadwick *et al.*, 1977; Prasittisuk y Busvine, 1977). Debido a que la población de campo es susceptible a los piretroides evaluados (permetrina y fenvalerato), es probable que también sea susceptible al DDT. Aunque la susceptibilidad al DDT no se evaluó en este estudio, en caso que existiera

196 Soto et al.

Cuadro 1. Susceptibilidad a insecticidas en larvas del cuarto instar temprano de Aedes aegypti.

Insecticida	Pob. ^a	n	b±s	CL50 ^b (mg/litro)	CL95 (mg/litro)		R ⁰ CL95	X ² (GL)
Fosforados:	,							13
Diclorvós	С	498	6.2±1.0	0.016 (0.014-0.020)	0.030 (0.027-0.043)	1.3	0.8	10.7(3)
	S	482	3.7±0.4	0.012 (0.011-0.013)	0.035 (0.030-0.044)	1.0	1.0	1.6(3)
Fentión	С	489	9.2±2.7	0.0035 (0.0029-0.0042)	0.0053 (0.0035-0.0081)	1.1	0.9	30.9(3)
	S	579	5.6±0.5	0.0031 (0.0029-0.0032)	0.0060 (0.0054-0.0069)	1.0	1.0	5.5(4)
Malatión	С	587	5.4±3.0	0.098 (0.054-0.17)	0.19 (0.067-0.57)	1.5	1.3	137.7(4
	S	482	5.3±1.0	0.066 (0.048-0.088)	0.14 (0.081-0.23)	1.0	1.0	15.9(3)
Naled	С	392	2.2±0.5	0.042 (0.022-0.081)	0.23 (0.039-1.62)	1.3	1.6	8.5(2)
	S	384	2.6±0.6	0.032 (0.016-0.065)	0.14 (0.0012-0.016)	1.0	1.0	9.6(2)
Pirimifós Metílico	С	498	4.0±1.0	0.017 (0.012-0.026)	0.045 (0.015-0.13)	1.2	1.4	29.8(3)
	S	586	4.7±0.6	0.014 (0.012-0.016)	0.031 (0.023-0.042)	1.0	1.0	11.3(4
Temefós	С	392	4.4±0.4	0.00023 (0.00021-0.00025)	0.00053 (0.00047-0.00064)	1.1	1.1	3.4(2)
	S	398	4.3±0.9	0.00020 (0.00012-0.00032)	0.00048 (0.00022-0.00110)	1.0	1.0	10.2(2)
Carbamato:								
Propoxur	С	491	2.5±0.3	1.052 (0.94-1.20)	4.71 (3.34-8.21)	1.5	2.9	0.9(3)
	S	499	4.6±0.5	0.70 (0.62-0.76)	1.60 (1.42-1.90)	1.0	1.0	5.2(3
Piretroides:								
Fenvalerato	С	499	2.9±0.3	0.020 (0.018-0.022)	0.070 (0.055-0.099)	1.7	1.5	1.8(3)
	S	499	2.7±0.2	0.012 (0.010-0.013)	0.048 (0.039-0.064)	1.0	1.0	6.6(3)
Permetrina	С	400	2.9±0.4	0.0051 (0.0045-0.0060)	0.019 (0.013-0.033)	1.5	3.9	5.2(2)
	S	389	10.3±16	0.0033 (0.00060-0.018)	0.0048 (0.00033-0.070)	1.0	1.0	440(2)

^a Población de campo (C) proveniente de La Chontalpa, Tabasco, Méx., y población susceptible (S) de laboratorio.

^b Los límites de confianza (95%) se indican entre paréntesis debajo de cada CL50 y CL95.

[°] Respuesta relativa = CL50 ó CL95 de C÷ CL50 ó CL95 de S.

resistencia a este producto ésta probablemente se debe a la participación de la enzima deshidroclorasa, la cual no confiere resistencia cruzada a los piretroides (Chadwick *et al.*, 1977; Prasittisuk y Busvine, 1977).

La respuesta al malatión en la población de campo y a la permetrina en la población susceptible no ajustó a una línea recta (P≥0.05). La falta de ajuste se debió básicamente a la existencia de un punto que se desviaba significativamente de la línea recta. Debido a que no se observó una plataforma clara en la línea de respuesta, no se puede afirmar que la falta de ajuste se deba a la presencia de individuos cuya respuesta al insecticida sea muy diferente de la del resto de los individuos de la población a la que pertenecen. Probablemente esta diferencia se debe a variaciones ambientales (Cuadro 1). El hecho de que las líneas de respuesta log dosis-probit de ambas poblaciones fueron significativamente diferentes para el propoxur al nivel de la CL50 y CL95, y para el fenvalerato y diclorvós al nivel de la CL50, no significa que la población de campo es resistente a estos productos, pues sus respectivos valores de respuesta relativa son bajos (Cuadro 1); sin embargo, considerando que estos insecticidas son comercializados comúnmente en la región en forma de aerosol para el combate de plagas domésticas y de jardin, esas diferencias podrían indicar una tendencia de la población de campo hacia la tolerancia de estos productos, debido a la posible presión de selección ejercida por los mismos sobre mosquitos adultos.

El análisis de la pendiente de las líneas log dosis-probit indica que la homogeneidad en la respuesta a los insecticidas evaluados es más o menos la misma en las dos poblaciones estudiadas: la de laboratorio y la de campo (Cuadro 1).

CONCLUSIÓN

La población de *Aedes aegypti* procedente de La Chontalpa, Tabasco, es susceptible a los insecticidas evaluados: diclorvós, fentión, fenvalerato, malatión, naled, permetrina, pirimifós metílico, propoxur y temefós.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness an insecticide. Journal of Economic Entomology 18:265-267.
- BROWN, A.W.A. 1986. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. Journal of the American Mosquito Control Association 2(2):123-140.

- CASANGES, A.H., McGOVRAN, E.R. and CHILES, J.V. 1949. Rearing of *Anopheles quadrimaculatus* Say and *Aedes aegypti* (L.) in the laboratory. Mosquito News 9(3):112-117.
- CHADWICK, P.R., INVEST, J.F. and BROWN, M.J. 1977. An example of cross-resistance to pyrethroids in DDT-resistant *Aedes aegypti*. Pesticide Science 8:618-624.
- FERNANDEZ de C., P.J. 1988. Panorama histórico y epidemiológico del paludismo en México. México. Secretaría de Salud. 132 p.
- FLYNN, A.D., SCHOOF, H.F., MORLAN, H.B. and PORTER, J.E. 1964. Susceptibility of seventeen strains of *Aedes aegypti* (L.) from Puerto Rico and the Virgin Islands to DDT, dieldrin and malathion. Mosquito News 24(2):118-123.
- FOX, I. and GARCIA, I. 1961. Multi-resistant *Aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgin Islands. Science 133:646-647.
- GEORGHIOU, G.P. and LAGUNES T., A. 1991. The ocurrence of resistance to pesticides in arthropods. An index of cases reported through 1989. Rome. FAO. 318 p.
- GOMEZ, H. 1991. The dengue control program in Mexico and perspectives for the future. Journal of the American Mosquito Control Association 7(4):644-645.
- GRATZ, N.G. 1991. Emergency control of *Aedes aegypti* as a disease vector in urban areas. Journal of the American Mosquito Control Association 7(3):353-365.
- KERR, J.A., CAMARGO, S. and ABEDI, Z.H. 1964. Eradication of *Aedes aegypti* in Latin America. Mosquito News 24(3):276-282.
- LAGUNES T., A. y RODRIGUEZ M., J.C. 1989. Grupos toxicológicos de insecticidas y acaricidas. Los mecanismos de resistencia como base para el manejo de insecticidas y acaricidas agrícolas. México. Centro de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. 228 p.
- MEKURIA, Y., GWINN, T.A., WILLIAMS, D.C. and TIDWELL, M.A. 1991. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. Journal of the American Mosquito Control Association 7(1):69-72.
- MOSCOSO R., P.A., RODRIGUEZ L., D.A. y SANCHEZ S., S. 1993. Análisis del uso de insecticidas por grupos toxicológicos en el cultivo de cítricos en la región Sabana de Huimanguillo, Tabasco. *In* Congreso Nacional de Horticultura, 5, Veracruz, México, 1993. Memoria, México. Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas p. 101.
- NATHAN, M.B. 1993. Critical review of *Aedes aegypti* control programs in the Caribbean and selected neighboring countries. Journal of the American Mosquito Control Association 9(1):1-7.
- NELSON, M.J. 1991. Utility of ultra-low volume application of insecticides for the control of *Aedes aegypti* during dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics. Journal of the American Mosquito Control Association 7(4):642.
- PANT, C.P., FONTAINE, R.E. and GRATZ, N.G. 1977. A review

198

- of the World Health Organization vector biology and control program. Mosquito News 37(4):595-603.
- PINHEIRO, F.P. 1989. Dengue in the Americas. 1980-1987. Epidemiological Bulletin PAHO 10:1-8.
- PINTO S., O. 1956. Eradication of the *Aedes aegypti* mosquito from the Americas. Mosquito News 16(2):115-121.
- PRASITTISUK, C. and BUSVINE, J.R. 1977. DDT-resistant mosquito strains with cross-resistance to pyrethroids. Pesticide Science 8:527-533.
- RAYMOND, M. 1985 Présentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinnateur. Cahiers. ORSTOM, Série. Entomologie Médicale et Parasitologie 22(2):117-121.
- SANCHEZ S., S. y RODRIGUEZ L., D.A. 1993. Análisis del uso de insecticidas por grupos toxicológicos en el cultivo de cacao en Tabasco, México. Agrotrópica (Brasil) 5(2):31-36.

- SCHLIESSMANN, D.J. 1964. The *Aedes aegypti* eradication program of the U.S. Mosquito News 24(2):124-132.
- SORIA, S. de J. e SANTOS, G.V. 1980. Ocorrência de mosquitos e maruins em cacaual baiano, Brasil: observações sobre o método de captura e altura de vôo. Revista Theobroma (Brasil) 10(4):225-234.
- STUTZ, F.H., PORTER, J.E., HEIDT, J.H. and HILL, C.C. 1964. An analysis of aircraft applications of mediterranean fruit fly spray on indices of *Aedes aegypti* (L.). Mosquito News 24(4):396-402.
- TIDWELL, M.A., WILLIAMS, D.C., GWINN, T.A., PEÑA, C.J., TEDDERS, S.H., GONZALVEZ, G.E. and MEKURIA, Y. 1994. Emergency control of *Aedes aegypti* in the Dominican Republic using the Scorpion™ 20 ULV forced-air generator. Journal of the American Mosquito Control Association 10(3):403-406.