

Estado de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos en *Aedes aegypti* en el municipio Boyeros

Situation of the insecticidal resistance and its mechanisms in *Aedes aegypti* in Boyeros municipality

María Magdalena Rodríguez^I; Juan A. Bisset^{II}; Omayda Pérez^{III}; Domingo Montada^{IV}; Mayra Moya^V; Yanelys Ricardo^{VI}; Vivian Valdéz^{VII}

^I Doctora en Ciencias de la Salud. Investigadora Auxiliar. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II} Doctor en Ciencias Biológicas. Profesor Titular. Investigador Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{III} Médica Veterinaria. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{IV} Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

^V Licenciada en Tecnología de la Salud de Higiene y Epidemiología. Matanzas, Cuba.

^{VI} Licenciada en Biología. Matanzas, Cuba.

^{VII} Licenciada en Biología. Centro Municipal Higiene y Epidemiología, Municipio Boyeros, Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: el control de *Aedes aegypti* continúa siendo la única medida disponible para poder disminuir la transmisión de dengue. Desafortunadamente *Ae. aegypti* ha demostrado la habilidad de desarrollar resistencia a una gran variedad de tóxicos.

OBJETIVO: evaluar la resistencia a insecticidas químicos en larvas y adultos del municipio Boyeros, Ciudad de La Habana, así como los mecanismos que contribuyeron a esta.

MÉTODOS: se evaluó la resistencia a insecticidas químicos en larvas y adultos a través de metodologías de la OMS. Los mecanismos de resistencia se determinaron a través de sinergistas y pruebas bioquímicas. Se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida para la visualización de enzimas estererasas.

RESULTADOS: en larvas se observó susceptibilidad a los insecticidas organofosforados evaluados. Resistencia se observó a los piretroides cipermetrina y deltametrina. Los bioensayos en larvas con el producto comercial de temefos mostraron 100 % de mortalidad con recambio diario de agua hasta 10 d. Se demostró que ni las estererasas, ni la enzima glutatión transferasa, desempeñaron un papel importante en la resistencia a insecticidas en larvas. Se observó la presencia

de la esterasa A4 amplificada a baja frecuencia en las muestras estudiadas. En el estado adulto, la cepa Boyeros resultó resistente a los piretroides ciflutrina y lambdacialotrina, en verificación a deltametrina, y resultó susceptible a cipermetrina; también resultó ser resistente al organofosforado clorpirifos y al organoclorado DDT.

CONCLUSIONES: estos resultados corroboran que aun el piretroide cipermetrina, a pesar de su uso en el municipio Boyeros, continúa siendo efectivo para el control de *Ae. aegypti*.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, resistencia a insecticidas, esterasas, glutatión transferasa.

ABSTRACT

INTRODUCTION: the control of *Aedes aegypti* remains the only available measure to reduce dengue transmission. Unfortunately, this vector has proved that it is capable of developing resistance to a great variety of toxic substances.

OBJECTIVE: to evaluate the resistance to chemical insecticides in larvae and adult vectors in Boyeros municipality, City of Havana as well as those mechanisms supporting it.

METHODS: insecticide resistance of mosquito larvae and adults was evaluated with the WHO methodologies. The resistance mechanisms were determined through synergy and biochemical tests. Polyacrylamid gel electrophoresis was applied to visualize esterases.

RESULTS: larvae were susceptible to the evaluated organophosphate insecticides whereas resistance to pyrethroids, cypermethrin and deltamethrin was observed. Bioassays performed in larvae with temephos-made commercial product showed 100 % mortality up to 10 days, with daily change of water. It was proved that neither esterases nor glutathione transferase played an important role in larval insecticide resistance. Low frequency amplified esterase A4 was present in the studied samples. In adult stage, Boyeros strain was resistant to pyrethroids ciflutrin and Lambdacyalothrine, in verification to deltamethrine and susceptible to cypermethrine; it was also resistant to organophosphate chlorpiriphos and organochlorate DDT.

CONCLUSIONS: these results confirm that although the pyrethroid cypermethrine has been widely used in Boyeros municipality, it continues being effective for *Ae. aegypti* control.

Key words: *Aedes aegypti*, resistance to chemical insecticides, esterases, glutathione transferase.

INTRODUCCIÓN

El control de *Aedes aegypti* continúa siendo la única medida disponible hasta el momento para poder disminuir la transmisión de dengue en las Américas. La campaña nacional para el control de *Aedes aegypti*, iniciada en Cuba, con la epidemia ocurrida en 1981, está basada en la vigilancia y destrucción de los sitios

de cría de este vector a través de un intenso uso de larvicidas y adulticidas, así como campañas educacionales para la prevención de la formación de nuevos sitios. A pesar de que se ha logrado la eliminación del vector en muchas áreas, las poblaciones de *Ae. aegypti* continúan incrementándose en algunas, principalmente en las provincias Ciudad de La Habana y Santiago de Cuba, lo cual constituye un peligro potencial para la ocurrencia de brotes o epidemias de dengue, como se ha evidenciado en 1997, 2001-2002, así como una alta infestación del vector ocurrida en 2006.

El municipio Boyeros ha sido uno de los implicados con la presencia de altos índices de *Ae. aegypti* en estos años, es altamente urbanizado, con una densidad poblacional de 1406,2 habitantes por km², de ahí que las principales actividades de control estén encaminadas hacia la reducción y el tratamiento de los criaderos del vector. Las acciones de control se han basado en el uso de temefos granulado 1 % como larvicida y tratamiento espacial adulticida con el organofosforado clorpirifos y los piretroides cipermetrina o lambdacialotrina. Desafortunadamente *Ae. aegypti* ha demostrado la habilidad de desarrollar resistencia a una gran variedad de tóxicos.¹ Los mecanismos responsables de esta resistencia son enzimas que se alteran de manera cuantitativa o cualitativamente;²⁻⁵ de ahí la importancia de evaluar la resistencia de los insecticidas químicos tanto en larvas como en adultos en este municipio, así como los mecanismos de resistencia que contribuyen a esta. Con esos resultados se aporta información que puede contribuir al mejor uso de insecticidas para el control de este vector en el municipio.

MÉTODOS

Cepas

ROCKEFELLER: cepa de referencia de *Ae. aegypti* susceptible a insecticidas, suministrada por el CDC, San Juan, Puerto Rico.

Boyeros: cepa de *Ae. aegypti*, colectada del municipio Boyeros, en una de las áreas de mayor infestación del vector en 2006.

F13 deltametrina: cepa colectada en 1997 en Santiago de Cuba y sometida a presión de selección con deltametrina durante 13 generaciones, es una cepa de referencia resistente a este piretroide.

F12 temefos: cepa colectada en 1997 en Santiago de Cuba y sometida a presión de selección con deltametrina durante 12 generaciones, es una cepa de referencia resistente a este organofosforado.

Insecticidas evaluados

Organoclorado: DDT.

Organofosforados: malation, fenitrotion, pirimifos metil, temefos, fention y clorpirifos.

Piretroides: deltametrina, lambdacialotrina, ciflutrina y cipermetrina.

Bolsitas de temefos 1 % de 20 g suministradas por la firma canadiense PROACTIVE: 1. Bolsitas con nomenclatura DEXTER: posee papel normal de sachet y 2. Bolsitas nomenclatura HS-800 micro: posee papel hidrosoluble.

Bioensayos en larvas

Las larvas de *Ae. aegypti* en tercer estadio tardío o cuarto estadio temprano, fueron evaluadas a través de los bioensayos de susceptibilidad de la OMS (1981),⁶ para determinar las concentraciones letales de 50 y 90 % de la población (CL₅₀-CL₉₀) frente a insecticidas. Se aplicaron 5 concentraciones o más de cada insecticida, disueltos en acetona, y 5 réplicas por cada concentración, que causaron mortalidades entre 2 y 98 %. La mortalidad se determinó 24 h después del tratamiento con los insecticidas y los resultados se analizaron mediante el programa Probit-logaritmo de *Raymond* y otros, 1985.⁷ Se calculó el FR₅₀ y FR₉₀ (factor de resistencia), se compararon los valores de las cepas de campo con la cepa ROCKEFELLER.

Bioensayos para evaluar la efectividad de 2 tipos de bolsitas de temefos nombradas: DEXTER y HS-800 micro

Se evaluó la efectividad de 2 tipos de bolsas de la firma PROACTIVE en la cepa Boyeros. La duración de los bioensayos estuvo en dependencia de la mortalidad alcanzada (< 75 % mortalidad). La frecuencia de realización fue diaria con las 2 bolsitas de temefos, excepto algunos días que no pudo evaluarse por falta de material biológico. En todos los casos, con recambio total diario del volumen de agua utilizada en tanques de 200 L. Se utilizaron 50 larvas de tercer estadio/recipiente (1 control y 4 réplicas). La lectura de la mortalidad se efectuó a las 24 h.

Determinación in vivo de los mecanismos de resistencia

Se realizaron bioensayos de susceptibilidad utilizando sinergistas. La acción del trifenil fosfato (TFF), inhibidor de esterasas y del ácido etacrínico (AE), inhibidor de la enzima glutatión transferasa (GST), se determinó exponiendo las larvas de *Ae. aegypti* a dosis subletales de estos tóxicos, durante 4 h. Inmediatamente después se aplicaron las diferentes dosis de insecticidas, y después de 24 h de exposición se determinó la mortalidad. Se hallaron los valores de concentración letal 50 y 90 (CL₅₀ y CL₉₀) mediante el programa Probit-logaritmo. Se calculó el factor de sinergismo (FS).

Ensayos bioquímicos: se determinó la actividad de esterasas en larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano, de acuerdo con el método estandarizado para *Ae. aegypti*.⁸ Se homogeneizó cada larva en 200 µL de buffer fosfato 0,01 M, pH 7,5. En una placa de microtitulación de ELISA, a 20 µL del homogenato se le añadió 200 µL del sustrato (0,7 mM de bb-naftil acetato). Se dejó transcurrir la reacción por 10 min y se añadieron 40 µL de *fast blue*. Se leyó la densidad óptica (DO) a 570 nm en lector de placas de ELISA. La actividad enzimática se expresó como densidad óptica.

La actividad de glutatión-S-transferasa (GST): se determinó de acuerdo con el método de Booth y otros (1961),⁹ y modificado para *Ae. aegypti*.⁸ A 20 µL de cada homogenato de larva se le añadió 250 µL de una mezcla de reacción de 1-cloro-2, 4 dinitrobenzeno 50 mM; y de glutatión reducido 20 mM. Se dejó transcurrir la reacción por 3 min y se leyó la DO a 340 nm. La actividad enzimática se expresó como densidad óptica.

Un estimado de la frecuencia de los mecanismos de esterasas y GST fue calculado a partir del número de individuos susceptibles para cada ensayo, el cual se determinó por el valor de corte establecido en esta especie,⁸ asumiendo que la población se encontraba en equilibrio de Hardy- Weinberg.

Bioensayos para adultos

Se realizaron siguiendo las normas de la OMS (1981) para mosquitos adultos. Las hembras fueron expuestas a papeles impregnados con insecticidas, a dosis diagnóstica y tiempo de exposición, sugeridos por la OMS. Cada uno de los insecticidas fue evaluado mediante 4 réplicas y 1 control, cada una con 25 mosquitos. La mortalidad se leyó a las 24 h y los resultados fueron analizados sobre la base de criterios de resistencia a insecticidas según la OMS (1992).¹⁰

RESULTADOS

Las larvas de la cepa Boyeros resultaron susceptibles a todos los insecticidas organofosforados evaluados, con valores de factor de resistencia ($FR_{50} < 5x$) calculado a partir de la concentración letal media (CL_{50}). Se observó alta resistencia ($FR_{50} > 10x$) a deltametrina (53,75x) y moderada resistencia (FR_{50} entre 5 y 10x) a cipermetrina (8,46x), sin embargo, las larvas resultaron susceptibles a los piretroides ciflutrina y lambdacialotrina (tabla 1).

Tabla 1. Nivel de susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas organofosforados y a piretroides en larvas de *Aedes aegypti*, de la cepa de campo del municipio Boyeros y de la cepa de referencia susceptible Rockefeller

Insecticidas	Cepas					
	Boyeros			Rockefeller		
	^a CL ₅₀	^b FR ₅₀	B	CL ₅₀	FR ₅₀	B
	(límites de confianza)		(± DE)	(límites de confianza)		(± DE)
Clorpirifos	0,0039 (0,030,051)	3,54	1,05 (± 0,17)	0,0011 (0,0010-0,0013)	-	4,52 (± 0,50)
Temefos	0,0048 (0,0012-0,0091)	4,0	0,85 (± 0,17)	0,0012 (0,00092-0,0015)	-	1,27 (± 0,33)
Fention	0,0014 (0,0003-0,00256)	0,15	1,47 (± 0,33)	0,0088 (0,0062-0,016)	-	1,16 (± 0,18)
Fenitrotion	0,0035 (0,0021-0,0048)	0,21	1,55 (± 0,24)	0,017 (0,012-0,030)	-	1,86 (± 0,31)
Pirimifos metil	0,019 (0,015-0,027)	1,0	1,15 (± 0,18)	0,019 (0,015-0,027)	-	1,15 (± 0,18)
Malation	0,0039 (0,0017-	0,014	0,95 (±	0,27 0,20-0,42	-	1,54 (±

	0,0061)		0,19)			0,22)
Ciflutrina	0,00095	0,73	1,17	0,0013	-	4,11
	(0,00011- 0,0021)		(± 0,28)	0,0011- 0,0015		(± 0,52)
Cipermetrina	0,011	8,46	0,64	0,0013	-	1,53
	(0,00003- 0,0030)		(± 0,19)	(0,00076- 0,0018)		(± 0,24)
Deltametrina	0,0043	53,75	1,09	0,00008	-	2,86
	(0,0024- 0,0060)		(± 0,17)	(0,00007- 0,00008)		(± 0,28)
Lambdacialotrina	0,00033	0,30	0,91	0,0011	-	2,26
	(0,00009- 0,00061)		(± 0,17)	(0,00084- 0,0012)		(± 0,23)

^a: concentración letal media (CL₅₀) en mg/L; 95 %, límites de confianza (LC) están entre paréntesis, ^b: factor de resistencia (FR₅₀): CL₅₀ cepa a evaluar/ CL₅₀ cepa ROCKEFELLER b: es la pendiente de la recta probit-log, desviación estándar (± DE).

Al ser el temefos el insecticida utilizado en Cuba como larvicida para el control de *Ae. aegypti* y mostrar susceptibilidad en los ensayos de laboratorio en la cepa Boyeros, se utilizó también en condiciones de semi-campo con el producto comercial de este insecticida en esta cepa. En la tabla 2 se muestran las mortalidades obtenidas en los tanques de 200 L con 2 tipos de bolsitas que contienen un producto comercial de temefos 1 %, con recambio diario de agua. Con las bolsitas llamadas DEXTER se obtuvo 100 % de mortalidad hasta el recambio número 10 y con las HS 800 -Micro hasta el 9, a partir de aquí disminuyó la mortalidad.

Tabla 2. Efectividad de 2 bolsitas de temefos (DEXTER y HS-800 Micro) en una cepa de *Aedes aegypti*, colectada del campo (Boyeros), utilizando tanques de 200 L y con recambio de agua 100 % diario

Días	Fecha	Cepa Boyeros	
		DEXTER	HS-800 MICRO
		% de mortalidad	
1	4/6/08	100	100
2	5/6/08	100	100
3	6/6/08	100	100
4	7/6/08	-	-
5	8/6/08	100	100
6	9/6/08	100	100
7	10/6/08	100	100
8	11/6/08	100	100
9	12/6/08	100	100
10	13/6/08	-	-
11	14/6/08	-	-
12	15/6/08	-	-

13	16/6/08	-	-
14	17/6/08	100	100
15	18/6/08	-	-
16	19/6/08	100	81
17	20/6/08	79,79	76,28
18	21/6/08	-	-
19	23/6/08	81	78,94
20	24/6/08	85	76
21	25/6/08	-	-
22	26/6/08	-	-
23	27/6/08	75	75
24	28/6/08	74	74

Como se mencionó antes, en larvas se detectó resistencia solo a deltametrina y moderada a cipermetrina, por lo que se determinó *in vivo* los posibles mecanismos que generaron resistencia a estos piretroides. Para ello se utilizaron los sinergistas TFF (trifenil fosfato), inhibidor de esterasas y AE (ácido etacrínico), inhibidor de la enzima glutatión transferasa (GST); se calcularon los valores de concentración letal media (CL₅₀) para cada uno de estos insecticidas y se compararon con estos valores después de añadirle el sinergista, se determinó el valor del factor de sinergismo (FS) ([tabla 3](#)). Como se observa en la tabla 2 los valores de FS resultaron bajos (FS<5), tanto para cipermetrina como deltametrina y para ambos sinergistas, lo cual indicó que estas enzimas no estuvieron asociadas con la resistencia detectada a estos piretroides.

Los resultados de determinación *in vitro* de los mecanismos de resistencia basados en la actividad incrementada de las esterasas y GST corroboraron los estudios *in vivo*, porque la frecuencia de estos mecanismos en la cepa Boyeros fue baja (< 40 %), resultó de 20 % para esterasas y 18 % para GST ([tabla 4](#)).

El examen visual de los geles ([Fig.](#)) reveló la presencia de un patrón de esterasas diferente para la cepa resistente a deltametrina (F13 deltametrina) y a temefos (F12 temefos), al compararlos con la cepa susceptible de referencia Rockefeller. La banda de esterasa A4 presente en la cepa resistente a temefos se observó en 3 larvas de las 5 presentes en el gel. No se observó el patrón de esterasas visto en la cepa F13 deltametrina en ninguna de las larvas del gel.

Los adultos fueron evaluados para los insecticidas piretroides deltametrina, ciflutrina, cipermetrina, lambdacialotrina, al organofosforado clorpirifos y al organoclorado DDT ([tabla 5](#)). De acuerdo con la categoría de la OMS, los adultos provenientes de la cepa Boyeros resultaron resistentes (mortalidad < 80 %) a los piretroides deltametrina y lambdacialotrina y al organoclorado DDT, en verificación a cipermetrina (mortalidad entre 80 y 98 %) y susceptible a ciflutrina y al organofosforado clorpirifos (mortalidad > 98 %).

DISCUSIÓN

En Cuba, desde el inicio de la campaña nacional para el control de *Ae. aegypti* en 1981 se utilizaron insecticidas organofosforados, entre ellos el temefos en tratamiento focal, fenitrothion y fenitrothion en tratamiento adulticida perifocal y malation en tratamiento adulticida intradomiciliario y extradomiciliario. Con malation se logró erradicar el mosquito *Ae. aegypti*, pero se incrementaron las densidades de otra especie de mosquito, causante de molestias públicas, *Culex quinquefasciatus*, elemental vector de la filariasis de Bancrofti, y que desempeña un papel importante en la transmisión de algunas encefalitis.¹¹ Esta especie ocupó los sitios de cría de *Ae. aegypti* mediante un reemplazo interespecífico.¹² Por el efecto adverso que causaba a la comunidad el uso de malation, así como la resistencia detectada en *Cx. quinquefasciatus*,¹³ este insecticida se sustituyó en 1986 por piretroides, los cuales han sido utilizados hasta la fecha para el control de *Ae. aegypti* en caso de epidemias o brotes de dengue.

La resistencia a insecticidas puede variar en el tiempo y en las diferentes áreas, de ahí la necesidad de hacer estudios específicos en las áreas de interés. En el caso de la cepa Boyeros evaluada en este trabajo se encontró que las larvas resultaron susceptibles a todos los insecticidas organofosforados, incluido el temefos que ha sido el larvicida utilizado en Cuba desde 1981 hasta la fecha. La susceptibilidad a temefos en la cepa Boyeros se confirmó además por las pruebas con un formulado comercial y por la baja frecuencia en que se encontró en la cepa el mecanismo de esterasas. En Cuba ya se ha identificado el mecanismo de esterasas como mecanismo de resistencia específico a este organofosforado en Santiago de Cuba,¹⁴ en Guanabacoa,¹⁵ y en el municipio Playa.¹⁶

La resistencia a temefos asociada con el mecanismo de esterasas ha sido identificada en otros países como Venezuela,¹⁷ Trinidad,¹⁸ Tailandia,^{19,20} y Brasil.²¹ La resistencia detectada en larvas a los piretroides no se asoció con las enzimas esterasas ni GST.

Existen trabajos que sí han encontrado una estrecha asociación entre el incremento de la frecuencia de estos mecanismos en las poblaciones de *Ae. aegypti* con la resistencia detectada a piretroides,^{5,22,23} sin embargo, en esta cepa la resistencia a piretroides pudiera estar asociada al gen Kdr, mutación que ya ha sido detectada en *Ae. aegypti* resistente a permetrina de México² y a deltametrina de Cuba.²⁴

En el caso del estado adulto el gen Kdr pudo además ser responsable de la resistencia tanto a DDT como a piretroides, estas mutaciones ya han sido detectadas en *Ae. aegypti* de Cuba, asociada con la resistencia cruzada entre DDT y piretroides.²⁴ Es importante conocer de forma precisa la mutación del gen Kdr asociada con la resistencia a DDT y piretroides para poder desarrollar métodos más específicos de detección, como ya ha sido desarrollado en *Anopheles gambiae* la técnica HOLA (*hot ligation oligonucleotide assays*), una técnica de ELISA sencilla y no costosa, que permite identificar mutaciones puntuales específicas del gen Kdr en esta especie.²⁵

Los resultados de este trabajo indicaron que las larvas de la cepa Boyeros continúan susceptibles al larvicida temefos, aunque ya hay presencia en la población de genotipos resistentes, pero a baja frecuencia; sin embargo, hay que continuar monitoreando la resistencia a los piretroides en el estado adulto, pues se está observando pérdida de susceptibilidad, lo cual puede afectar las operaciones de control de este vector.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World health Organization. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. Geneva: WHO; 1986. (Teca. Rep. Ser. 737)
2. Logjam N, McCarran L, Prapanthadara 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.
3. Brengues C, Hawkes NJ, Chandre F, Mccarroll L, Duchon S, Guillet P, et al. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol*. 2003;17:87-94.
4. Rodríguez MM, Bisset JA, De Armas Y, Ramos F. Pyrethroid insecticide-resistant strain of *Aedes aegypti* from Cuba induced by deltamethrin selection. *J Am Mosq Control Assoc*. 2005;21(4):437-45.
5. Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from some latin-american countries. *J Am Mosq Control Assoc*. 2007;24(3).
6. World Health Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Geneva: WHO; 1981. WHO/VBC/81.807.
7. Raymond M. Presentation d'une programme d'analyse log-probit pour microordinateur cahiers Orstrom Sér. Ent Méd Parasitol. 1985;23:117-21.
8. Rodríguez MM, Bisset JA, Molina DF, Lauzan L, Soca A. Detection of resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from Cuba and Venezuela. *J Med Entomol*. 2001;38:623-8.
9. Booth JE, Boyland E, Sims P. An enzyme from the rat liver catalyzing conjugation with glutathione. *Biochem J*. 1961;79: 516-23.
10. World Health Organizartion. Vector resisitance to pesticides.Fifteenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. Geneva: WHO; 1992. p. 62.
11. Subra R. Biology and control of *Culex pipiens quinquefasciatus*Say, 1823 (Diptera: Culicidae) with special reference to Africa. *Ins Scien Appl*. 1981;1:319-38.
12. Bisset JA, Navarro A, Marquetti MC, Mendizabal ME, González BM. La abundancia larval de mosquito urbano durante la campaña de erradicación de *Aedes aegypti* y del dengue en Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 1985; 37:161-8.
13. Bisset JA, Rodríguez MM, Díaz C, Ortíz E, Marquetti MC. The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Bull Entomol Research*. 1990;80:245-50.
14. Rodríguez MM, Bisset JA, Mila L, Calvo E, Díaz C, Soca LA. Niveles de Resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 1999;51:93-8.

15. Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D, Pérez O. Resistencia a insecticidas en larvas y adultos de *Aedes aegypti*: prevalencia de la esterasa A4 asociada con la resistencia a temefos. *Rev Cubana Med Trop.* 2004;56(1):54-60.
16. Bisset JA, Rodríguez MM, Fernández D, Pérez O. Estado de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en larvas del Municipio Playa, colectadas durante la etapa intensiva contra el *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, 2001-2002. *Rev Cubana Med Trop.* 2004;56:61-6.
17. Mazarri MB, Georghiou GP. 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.
18. Vaughan A, Chadee DD, French-Constant R. Biochemical monitoring of organophosphorus and carbamate insecticide resistance in *Aedes aegypti* mosquitoes from Trinidad. *Med Vet Entomol.* 1998;12:318-21.
19. Paeporn P, Komalamisra N, Deesin V, Rongsrivam Y, Eshita Y, Thongrungrat S. Temephos resistance in two forms of *Aedes aegypti* and its significance for the resistance mechanisms. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2003;34:786-92.
20. Saelim V, Brogdon WG, Rojanapremsuk J, Suvannadaba S, Pandii W, Jones JW, et al. Bottle and biochemical assays on temephos resistance in *Aedes aegypti* in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2005;36:417-25.
21. Marcoris M de L, Andrrighetti MT, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, Braco JE. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of Sao Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98:703-8.
22. Jean-Philippe D, Strode C, Vontas J, Nikou D, Vaughan A, Pignatelli PM, et al. The *Anopheles gambiae* detoxification chip: a highly specific microarray to study metabolic-based insecticide resistance in malaria vectors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:4080-4.
23. Clare S, Wondji CHS, Jean /Philippe D, Hawkes NJ, Lumjuan N, Nelson DR, et al. Genomic analysis of detoxification genes in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Molec Biol.* 2008;38:113-23.
24. Saavedra K, Urdaneta L, Rajatileka S, Moulton M, Flores AE, Fernández I, et al. Mutations in the voltage gated sodium channel gene associated with permethrin resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Molec Biol.* 2007;16:785-98.
25. Lynd A, Ranson H, McCall PJ, Randle NP, Black WC, Walker ED, Donnelly MJ. A simplified high-throughput method for pyrethroid knock-down resistance (Kdr) detection in *Anopheles gambiae*. *Malaria J.* 2005;14:16-20.

Recibido: 22 de agosto de 2008.
Aprobado: 20 de marzo de 2009.

Dra. C. *María Magdalena Rodríguez*. Departamento Control de Vectores, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". AP 601, Marianao 13. Telef.: 53-7.2020650. Fax: 53-7 2046051. Correo electrónico: mrodriguez@ipk.sld.cu