

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Eficacia del pyriproxyfeno para el control de *Aedes* (S) *aegypti* (Diptera: Culicidae) en cepas con diferentes niveles de resistencia a temefos

Yanelys Ricardo Leyva,¹ María Magdalena Rodríguez Coto,² Juan A. Bisset Lazcano,³ Omayda Pérez Insueta,⁴ y Lizet Sánchez Valdés⁵

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: el uso continuado del organofosforado temefos para el control de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762), ha propiciado la aparición de resistencia en varios países del mundo. El pyriproxyfeno es un análogo de la hormona juvenil recomendado por la Organización Mundial de la Salud como una de las alternativas para el control del vector del dengue en aguas de consumo humano. **OBJETIVO:** evaluar la eficacia del pyriproxyfeno en cepas con diferentes niveles de resistencia a temefos, para ser utilizado como una posible alternativa en el control de *Ae. aegypti*. **MÉTODOS:** para el estudio se utilizaron dos cepas de *Ae. aegypti* de referencia, una susceptible y otra resistente a temefos y tres cepas de campo colectadas en los municipios Boyeros, Cotorro y 10 de Octubre, todos pertenecientes a Ciudad de La Habana, Cuba. Para la evaluación de temefos y pyriproxyfeno, se utilizaron bioensayos recomendados por la Organización Mundial de la Salud. **RESULTADOS:** a concentraciones altas el pyriproxyfeno tuvo una acción larvívora. A concentraciones entre 0,01 y 1 ppb, se evidenció la inhibición de la emergencia, porque hubo un incremento en la mortalidad pupal y en menor medida en los adultos en el proceso de romper la exuvia pupal. Este regulador del crecimiento resultó efectivo a las mismas dosis en todas las cepas, independiente de su grado de resistencia a temefos, con valores de IE₅₀ dentro del rango reportado para el género *Aedes*. **CONCLUSIÓN:** según los resultados obtenidos, la eficacia del pyriproxyfeno no se vio afectada con el nivel de resistencia a temefos presente en las cepas de estudio y lo convierte en una herramienta útil para el control de *Ae. aegypti*.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, resistencia a temefos, pyriproxyfeno.

INTRODUCCIÓN

El dengue ha emergido como la principal enfermedad viral transmitida por artrópodos que afecta al hombre, causa entre 50 y 100 millones de casos y miles de muertes todos los años.¹ El control o la erradicación de su principal vector, *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762), continúa siendo la única opción para prevenir o evitar la transmisión de esta enfermedad.

Dentro de los insecticidas más utilizados para el control de *Ae. aegypti*, se encuentra el organofosforado temefos, pero su uso prolongado ha propiciado la aparición de poblaciones resistentes en todo el mundo.² En Cuba se reportó resistencia a temefos por primera vez en 1999,³ en una cepa de Santiago de Cuba, provincia oriental del país, la cual fue colectada durante el brote de dengue ocurrido en 1997.⁴

¹ Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Licenciada en Biología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

² Doctora en Ciencias de la Salud. Investigadora Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

³ Doctora en Ciencias Biológicas. Investigadora Titular. Profesor Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁴ Doctora en Medicina Veterinaria. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁵ Máster en Epidemiología. Doctora en Ciencias de la Salud. Licenciada en Matemática. Instructora. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado otras alternativas para el control de esta especie, entre las que se encuentra el regulador del crecimiento pyriproxifeno.⁵ Los reguladores de crecimiento en insectos se destacan por ser selectivos contra especies específicas, con una seguridad considerable hacia el medio ambiente y organismos no específicos, incluso los mamíferos.⁶ El pyriproxifeno es un análogo de la hormona juvenil (HJ) y a través de un desbalance hormonal, suprime la embriogénesis, la metamorfosis y la emergencia de adultos.⁷ En 2003, la OMS, recomendó su uso en aguas de consumo humano para el control focal de *Ae. aegypti*.⁸

Por primera vez en Cuba se trabaja con este regulador de crecimiento y por eso el objetivo de este trabajo fue evaluar su eficacia en cepas con diferentes niveles de resistencia a temefos, como posible alternativa para control del *Ae. aegypti*.

MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Toxicología y Genética del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK), Cuba, en el período de 2008 a 2009.

CEPAS DE MOSQUITOS UTILIZADAS EN EL TRABAJO

Rockefeller: cepa de laboratorio de referencia, susceptible a insecticidas, suministrada por el laboratorio del Centro de Control de Enfermedades de San Juan, Puerto Rico.

SANtem F13: cepa resistente a temefos, generada en el laboratorio del IPK por un proceso de selección a partir de una cepa colectada en Santiago de Cuba, región oriental del país, en 1997, cuyo factor de resistencia (FR_{50}) a temefos es de 51,2x.

Boyerros: cepa colectada en el municipio Boyeros de Ciudad de La Habana, Cuba, en 2008.

Cotorro: cepa colectada en el municipio Cotorro de Ciudad de La Habana, Cuba, en 2008.

10 de Octubre: cepa colectada en el municipio 10 de Octubre de Ciudad de La Habana, Cuba, en 2008.

INSECTICIDAS UTILIZADOS

Temefos grado técnico: 90 % de pureza, suministrado por American Cyanamid Co., Princeton, New Jersey.

Pyriproxifeno grado técnico: 97 % de pureza, suministrado por Jiangsu Flag Chemical Industry Co, LTD.

Bioensayos con temefos

Los bioensayos se realizaron según la metodología de la OMS.⁹ Se colocaron 5 réplicas de cada concentración del insecticida con 20 larvas por réplica. Todas las soluciones se ajustaron a un volumen final de 1 mL con acetona y en los controles se añadió la misma cantidad de este solvente. La lectura de las mortalidades se realizó a las 24 h de comenzado el experimento. Los resultados se analizaron en el programa Probit-log de Raymond¹⁰ para determinar la concentración letal (CL_{50}) y con esto el factor de resistencia (FR_{50}) mediante la fórmula siguiente:

$$FR_{50} = \frac{CL_{50} \text{ cepa problema}}{CL_{50} \text{ Rockefeller}}$$

Bioensayos con pyriproxifeno

El efecto regulador del crecimiento se evaluó según la metodología de la OMS,¹¹ mediante el cálculo de la concentración que causó la inhibición de la emergencia de los adultos. Se colocaron tres réplicas por cada concentración utilizada, que se ajustó a un volumen final de 1 mL con acetona, e igual número de controles con 200 mL de agua declorinada; a los cuales se les añadió 1 mL de este mismo solvente. Se colocaron 25 larvas de tercer estadio por cada recipiente. Se utilizó harina de pescado como alimento para las larvas a razón de 10 mg/L en intervalos de 2 d. El conteo de la mortalidad o supervivencia se realizó cada 3 d hasta la emergencia completa de los adultos en el control. Los recipientes fueron mantenidos en el laboratorio a una temperatura entre 25 y 28 °C. Al final del período de observación, el resultado se expresó como porcentaje de inhibición de la emergencia (IE %), basado en el número de larvas que

no se desarrollaron con éxito en adultos viables y se calculó con la fórmula siguiente:¹²

$$IE(\%) = 100 - \frac{T \times 100}{C}$$

Donde:

T= porcentaje de sobrevivientes o adultos emergidos en los recipientes tratados.

C= porcentaje de sobrevivientes o adultos emergidos en los controles.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó por sobreposición de los intervalos de confianza de los valores de CL_{50} en el caso del temefos y los valores de IE_{50} en el caso del pyriproxyfeno. Estos intervalos se calcularon mediante el programa Probit-log de Raymond.

Para corregir la mortalidad en los controles, cuando esta estuvo entre 5 y 20 %, se utilizó la fórmula de Abbot:¹³

$$\text{Mortalidad}(\%) = \frac{\% \text{ mortalidad observada} - \% \text{ mortalidad control}}{\% \text{ mortalidad control}} \times 100$$

RESULTADOS

EVALUACIÓN CON TEMEFOS

En la tabla 1 se muestran los valores de concentración que causaron 50 % (CL_{50}) de mortalidad

con el insecticida temefos, en las cepas evaluadas, entre ellas la susceptible a insecticidas utilizada como cepa de referencia.

Al comparar los valores obtenidos de CL_{50} en las cepas de estudio con la cepa Rockefeller, lo cual se expresó como factor de resistencia (FR_{50}), se pudo observar que todas mostraron alta resistencia a este organofosforado ($FR_{50} > 10x$). La cepa SANtem F13, que es una cepa de referencia generada en el laboratorio, mostró el más alto valor de FR_{50} (51,2x), seguida de 10 de Octubre, Boyeros y Cotorro con valores de 26,6x, 13,8x y 10,5x, respectivamente.

El análisis de los intervalos de confianza para el valor de CL_{50} mostró diferencias significativas entre todas las cepas evaluadas, entre ellas y con la cepa susceptible Rockefeller.

EVALUACIÓN CON PYRIPROXYFENO

A concentraciones mayores que 1 ppb, el pyriproxyfeno tuvo una acción larvicida. La inhibición de la emergencia de los adultos comenzó a evidenciarse a concentraciones más bajas (entre 0,01 y 1 ppb), con mortalidades entre 18,6 y 96 % (Fig.).

En la tabla 2 se muestran los valores de inhibición de la emergencia en 50 % de los adultos (IE_{50}) evaluados de la cepa de referencia susceptible (Rockefeller), la cepa de referencia resistente a temefos (SANtem F13) y las cepas de campo Boyeros, Cotorro y 10 de Octubre que resultaron resistentes a temefos según los bioensayos de susceptibilidad, así como la pendiente de las rectas.

TABLA 1. Concentración letal (CL_{50}) en larvas de *Ae. aegypti* de las cepas de estudio frente al insecticida organofosforado temefos, factor de resistencia (FR_{50}) comparado con la de referencia Rockefeller y pendiente de la recta

Cepas	^a CL_{50}	^b FR_{50}	^c b (\pm DE)
Rockefeller	0,006 (0,005–0,006)	-	5,16 (\pm 0,48)
SANtem F13	0,313 (0,252–0,363)	51,2	3,14 (\pm 0,41)
Boyeros	0,083 (0,076–0,091)	13,8	3,01 (\pm 0,19)
Cotorro	0,063 (0,057–0,071)	10,5	4,28 (\pm 0,44)
10 de Octubre	0,16 (0,14–0,19)	26,6	3,23 (\pm 0,25)

^a Concentración letal (CL_{50}) en mg/L, 95 % límites de confianza (LC) entre paréntesis.

^b Factor de resistencia (FR_{50}): CL_{50} cepa a evaluar/ CL_{50} cepa Rockefeller.

^c Pendiente de la recta probit-log, desviación estándar (\pm DE) entre paréntesis.

TABLA 2. Inhibición de la emergencia de adultos (IE_{50}) en cepas de *Ae. aegypti*, factor de resistencia (FR_{50}) para el regulador de crecimiento pyriproxyfeno y pendiente de la recta

Cepas	^a IE_{50} (ppb) (LC)	^b FR_{50}	^c b (\pm DE)
Rockefeller	0,023 (0,015–0,032)	-	1,02 \pm 0,12
SANtem F13	0,079 (0,054–0,118)	3,4	0,80 \pm 9,82
Boyerros	0,022 (0,014–0,030)	0,9	1,03 \pm 0,12
Cotorro	0,013 (0,005–0,023)	0,5	0,68 \pm 0,10
10 de Octubre	0,025 (0,003–0,047)	1,1	0,30 \pm 8,9

^a Inhibición de la emergencia (IE_{50}) en ppb, 95 % límites de confianza (LC) entre paréntesis.

^b Factor de resistencia (FR_{50}): IE_{50} cepa a evaluar/ IE_{50} cepa Rockefeller.

^c Pendiente de la recta probit-log, desviación estándar (\pm DE) entre paréntesis.

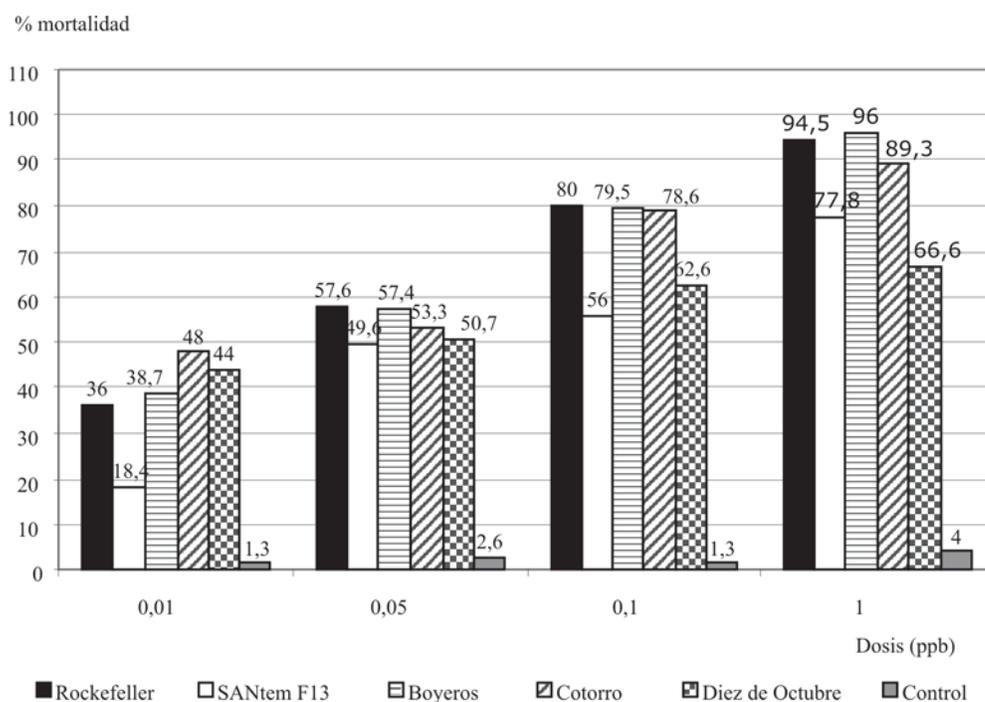


Fig. Mortalidad (%) obtenida en las cepas de *Ae. aegypti* tratadas con pyriproxyfeno.

El análisis de los intervalos de confianza de los valores de IE_{50} obtenidos en el caso de las cepas Boyeros, Cotorro y 10 de Octubre, no mostró diferencias significativas entre ellas y con la cepa de referencia susceptible Rockefeller. Estas cepas de campo, a pesar de expresarse como resistentes a temefos según los bioensayos de susceptibilidad realizados, mostraron valores muy bajos de FR_{50} frente al pyriproxyfeno (0,9x, 0,5x y 1,1x) respectivamente. El valor de IE_{50} obtenido en el caso de la cepa SANtem F13, sí mostró diferencias significativas frente a la cepa susceptible Rockefeller y al resto de las cepas de campo evaluadas, aunque

mostró un valor también bajo de FR_{50} frente al pyriproxyfeno que fue de 3,4x.

A pesar de esto, los valores de IE_{50} obtenidos en todos los casos se encuentran dentro del rango establecido por la OMS para prevenir la emergencia en mosquitos del género *Aedes* tratados con pyriproxyfeno, que es de 0,01 a 0,33 ppb.⁵

DISCUSIÓN

Durante los últimos años, en todo el mundo se ha venido controlando a *Ae. aegypti*, principalmente

a través de la reducción de sus criaderos con el uso del organofosforado temefos, lo que ha traído como consecuencia la aparición paulatina de poblaciones resistentes.¹⁴ En Cuba, este es el insecticida que más se ha utilizado desde la epidemia de dengue en 1981.

En un estudio de la resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti*, realizado por Rodríguez y otros,¹⁵ se demostró la elevada resistencia a temefos que mostraron cepas de Ciudad de La Habana y Santiago de Cuba, así como cepas de Costa Rica, Jamaica, Panamá, Venezuela y Perú. Varios son los reportes de resistencia a este organofosforado en todo el mundo,^{16,17} y esto, sin duda ha comenzado a limitar su uso, lo cual indica la necesidad de evaluarse otras alternativas de control larval.¹⁸

Las dosis de pyriproxifeno que causaron una inhibición en la emergencia de los adultos de las cepas utilizadas en este trabajo fueron similares a las dosis letales obtenidas por Hatakoshi y otros,¹⁹ ($IE_{50} = 0,023$ ppb), Itoh²⁰ (entre 0,011 y 0,056 ppb), Sihuincha y otros,²¹ (0,012 ppb), así como Seccacini y otros,²² (0,048 ppb) en larvas de *Ae. aegypti*.

La cepa SANtem F13, ha sido creada en el laboratorio por un proceso de selección, presionando generación tras generación, con una dosis subletal que solo permite que sobrevivan 10 % de los individuos expuestos, lo cual pudiera estar relacionado con el comportamiento de esta cepa frente al regulador de crecimiento pyriproxifeno. Hay que tener en cuenta además que, mientras esta cepa resultó ser 51 veces más resistente al temefos que la cepa susceptible, solo alcanzó un FR_{50} , 3,4 veces mayor comparada con la susceptible frente al pyriproxifeno.

Las diferencias en los resultados de los estudios mencionados antes son presumiblemente el resultado de diferencias entre las cepas trabajadas, formulaciones y condiciones experimentales.

Ninguna de las cepas de este estudio ha sido antes expuesta a pyriproxifeno y aunque no se ha reportado evidencia de resistencia en *Ae. aegypti*, otras especies de insectos vectores han desarrollado resistencia a este regulador de crecimiento.²³ Otros estudios realizados sugieren la posibilidad de resistencia cruzada entre temefos y pyriproxifeno.²⁴

El pyriproxifeno muestra un considerable potencial para el control de *Ae. aegypti* cuando se

aplica en envases de almacenamiento de agua bajo condiciones de campo.²¹ En Cambodia se logró controlar el vector del dengue durante la época de mayor transmisión en este país (mayo-noviembre), con el uso de este regulador del crecimiento.²⁵ Investigadores demostraron que en Argentina, el pyriproxifeno mostró una actividad larvicida mayor que el temefos en cepas de *Ae. aegypti*.²² Excelentes resultados se obtuvieron en ese mismo país, con una combinación de este regulador de crecimiento con el adulticida permetrina en una nueva formulación (ULV).²⁶

Los resultados de este trabajo mostraron la eficacia del pyriproxifeno frente a tres poblaciones cubanas con diferentes niveles de resistencia a temefos, con valores de IE_{50} dentro del rango reportado para el género *Aedes*, que lo convierten en una herramienta útil a tener en cuenta en las futuras estrategias de uso de larvicidas para el control de *Ae. aegypti*.

Effect of pyriproxifen for the *Aedes (S) aegypti* control (Diptera: Culicidae) in strains with various degrees of temephos resistance

ABSTRACT

INTRODUCTION: the continuous use of the organophosphate *temephos* for *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) has prompted the emergence of resistance to this product in several countries. Pyriproxifen is an analogue of the juvenile hormone recommended by the World Health Organization as one of the alternative regulators of the dengue vector in drinking waters. **OBJECTIVES:** to evaluate the efficacy of pyriproxifen in those strains with various degrees of temephos resistance, in order to be used as a possible regulator of *Ae. aegypti*. **METHODS:** for this study, two reference *Ae. aegypti* strains were used, one susceptible and the other resistant to temephos, and three field strains collected in Boyeros, Cotorro and 10 de Octubre municipalities, all of them from the City of Havana province, Cuba. For the temephos and pyriproxifen evaluation, the WHO recommended bioassays were used. **RESULTS:** at high concentrations, pyriproxifen showed larvicidal properties. At 0,01 and 1 ppb concentrations, inhibition of emergence due to increase of pupal mortality and to lesser extent in adults in the process of breaking the pupal exuvia was demonstrated. This growth regulator was effective at the same doses in all the strains, regardless of the degree of temephos resistance, being IE_{50} values within the range for *Aedes* genus. **CONCLUSIONS:** according to the results, the effectiveness of pyriproxifen was not affected by the degree of temephos resistance in the studied strains, and this is a useful tool in the *Ae. aegypti* control.

Key words: *Aedes aegypti*, resistance to temephos, pyriproxifen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Report of the Scientific Working Group on Dengue. Document WHO/TDR/SWG/08. Geneva: WHO; 2006.
2. Organización Mundial de la Salud. Vector resistance to pesticide. Fifteenth report of the expert committee on vector biology and control. WHO Tech Rep Ser. 1992;818:1-55.
3. Rodríguez MM, Bisset JA, Milá LH, Lauzán L, 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(2):83-8.
4. Valdes L, Guzman MG, Kouri G, Delgado J, Carbonell I, Cabrera MV, et al. La epidemiología del dengue y el dengue hemorrágico en Santiago de Cuba, 1997. Pan Am J Public Health. 1999;6:16-25.
5. Organización Mundial de la Salud. Review of the insect growth regulator pyriproxyfen GR. In Report of the 4th WHOPEA Working Group Meeting, 2000 December 4-5, Geneva Switzerland: WHO; 2001. p. 50-67.
6. Mulla MS, Thavara U, Tawatsin A, Chomposri MZ, Su T. Laboratory and field evaluation of novaluron, a new acylurea insect growth regulator, against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J Vect Ecol. 2003;28:241-254.
7. Koehler PG, Patterson RJ. Incorporation of pyriproxyfen in a German cockroach management program. J Econ Entomol. 1991;84:917-21.
8. Organización Mundial de la Salud. Pyriproxyfen in drinking water. Background document for preparation of WHO guidelines for drinking-water quality. WHO/SDE/WSH/03-04/113. Geneva: WHO; 2003.
9. Organización Mundial de la Salud. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.80. Geneva: WHO; 1981. p. 6.
10. Raymond M. Present d' un programme d' analyse log-probit pour microordinateur Cahiers Orstrom Sér Ent Med Parasitol. 1985;23:117-21.
11. Organización Mundial de la Salud. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPEA/GCDPP/2005.13:7-19. Geneva: WHO; 2005.
12. Mulla MS, Darwazeh HA. Activity and longevity of insect growth regulators against mosquitoes. J Econom Entomol. 1975;68:791-4.
13. Abbot WS. Method of computing the effectiveness of an insecticide. J Econ Ent. 1925;18:265-7.
14. Rawlins SC. Spatial distribution of insecticide resistance in Caribbean populations of *Aedes aegypti* and its significance. Rev Panam Salud Pub. 1998;4(4):243-51.
15. Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanism in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. J Am Mosq Control Assoc. 2007;23(4):420-9.
16. Seccacini E, Lucia A, Zerba E, Licastro S, Masuh H. *Aedes aegypti* resistance to temephos in Argentina. J Am Mosq Control Assoc. 2008;24(4):608-9.
17. Jirakanjanakit N, Saentharatip S, Rongnoparut P, Duchon S, Bellec C, Yoksan S. Trend of temephos resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes in Thailand during 2003-2005. Environ Entomol. 2007;36:506-11.
18. Ayesa P, Harrington L, Scott J. Evaluation of novel insecticides for control of dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 2006;43:55-60.
19. Hatakoshi M, Kawada H, Nishida S, Kisida H, Nakayama I. Laboratory evaluation of 2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxy]pyridine against larvae of mosquitoes and housefly. Jpn J Sanit Zool. 1987;38:271-4.
20. Itoh T. Utilisation of bloodfed females of *Aedes aegypti* as a vehicle for the transfer of the insect growth regulator, pyriproxyfen to larval habitats. Trop Med. 1994;36:243-8.
21. Sihuíncha M, Zamora E, Orellana W, Stancil J, López V, Vidal C, et al. Potencial use of pyriproxyfen for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Perú. J Med Entomol. 2005;42(4):620-30.
22. Seccacini E, Lucia A, Harburguer L, Zerba E, Licastro S, Masuh H. Effectiveness of pyriproxyfen and diflubenzuron formulations as larvicides against *Aedes aegypti*. J Am Mosq Control Assoc. 2008;24(3):398-403.
23. Crowder DW, Ellsworth PC, Tabashnik BE, Carrière Y. Effects of operational and environmental factors on evolution of resistance to pyriproxyfen in the sweetpotato whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae). Environ Entomol. 2008;37(6):1514-24.
24. Andrighetti MTM, Cerone F, Riguetti M, Galvani KC, Macoris ML. Effect of pyriproxyfen in *Aedes aegypti* populations with different levels of susceptibility to the organophosphate temephos. Dengue Bull. 2008;32:186-98.
25. Seng CM, Seta T, Nealon J, Socheat D, Nathan MB. Six months of *Aedes aegypti* control with a novel controlled-release formulation of pyriproxyfen in domestic water storage containers in Cambodia. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2008;39(5):822-6.
26. Lucia A, Harburguer L, Licastro S, Zerba E, Masuh H. Efficacy of a new combined larvicidal-adulticidal ultralow volume formulation against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), vector of dengue. Parasitol Res. 2009;104(5):1101-7.

Recibido: 13 de abril de 2010. Aprobado: 2 de mayo de 2010.
 Lic. Yanelys Ricardo Leyva. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Departamento Control de Vectores. Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½. Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba.
 Correo electrónico: yanelys@ipk.sld.cu