

Eficacia del pyriproxyfeno en cepas de referencia de *Aedes aegypti* susceptible y resistente a temefos

Efficacy of pyriproxyfen in reference strains of *Aedes aegypti* susceptible and resistant to temephos

Dr. C. María Magdalena Rodríguez Coto,^I MSc. María del Carmen Terán Zavala,^{II} Dr. C. Juan Andrés Bisset Lazcano,^I MSc. Yanelys Ricardo Leyva,^I MSc. Leidys French Pacheco,^I Lic. Ilario Fuentes López^I

^I Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

^{II} Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical. Ciudad de Guayaquil, Ecuador.

RESUMEN

Introducción: el uso intensivo del larvicida químico temefos (abate) en Cuba, ha generado el desarrollo de mecanismos de resistencia en *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762). Por esta razón, apremia la necesidad de evaluar otras alternativas de control, como el pyriproxyfeno, inhibidor de crecimiento.

Objetivos: determinar la eficacia de pyriproxyfeno como larvicida, pupicida y adulticida en cepas de referencia de *Aedes aegypti* y establecer su efecto sobre la reproducción.

Métodos: para el estudio se utilizó una cepa de *Aedes aegypti* de referencia susceptible (Rockefeller) y otra resistente (SANtemF13) a temefos. La evaluación de pyriproxyfeno se realizó a través de bioensayos recomendados por la Organización Mundial de la Salud. Se determinó el efecto en la reproducción, midiendo la fecundidad y viabilidad de los huevos (fertilidad) en larvas de la cepa Rockefeller, sobrevivientes a dosis subletales de pyriproxyfeno.

Resultados: en Rockefeller, pyriproxyfeno manifestó actividad larvicida en 32 %, pupicida en 21 % y adulticida solo 1 %. En SANtem F13, resultó larvicida en 31 %, pupicida 12 % y adulticida 1 %. El análisis de varianza entre rangos de dosis letales para larvas, pupas y adultos de las cepas referenciales, Rockefeller y SANtem F13, no mostró diferencias significativas ($p= 0,000001$). El pyriproxyfeno resultó ser un excelente inhibidor de la emergencia de adultos en las cepas de *Aedes aegypti* estudiadas a concentraciones bajas, inferiores a las recomendadas por la Organización Mundial de la Salud en mosquitos del género *Aedes*. También tuvo fuerte efecto subletal y afectó la fertilidad de los adultos, en condiciones de laboratorio.

Conclusión: el inhibidor de crecimiento pyriproxifeno representa una buena alternativa a incluir dentro de las estrategias de control integrado de *Aedes aegypti* en Cuba, sin afectarse su eficacia por la resistencia que esta especie ha desarrollado al larvicida temefos.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, pyriproxifeno, resistencia, temefos.

ABSTRACT

Introduction: intensive use of chemical larvicide temephos (abate) in Cuba has resulted in the development of resistance mechanisms in *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762). Therefore, there is an urgent need to consider other control alternatives, such as pyriproxifen, a growth inhibitor.

Objectives: determine the efficacy of pyriproxifen as larvicide, pupicide and adulticide in reference strains of *Aedes aegypti* and establish its effect on reproduction.

Methods: the study was based on a strain of reference *Aedes aegypti* susceptible to temephos (Rockefeller) and a strain resistant to temephos (SANtemF13). Pyriproxifen was evaluated with bioassays recommended by the World Health Organization. Determination was made of the effect of pyriproxifen on reproduction by measuring fecundity and egg viability (fertility) in larvae of the Rockefeller strain surviving sublethal doses of pyriproxifen.

Results: in the Rockefeller strain, pyriproxifen was larvicidal in 32 %, pupicidal in 21 % and adulticidal in a mere 1 %. In the SANtem F13 strain, it was larvicidal in 31 %, pupicidal in 12 % and adulticidal in 1 %. Analysis of variance between ranges of lethal doses for larvae, pupas and adults of the reference strains Rockefeller and SANtem F13 did not show any significant differences ($p=0.000001$). Pyriproxifen was found to be an excellent inhibitor of adult emergence in the strains of *Aedes aegypti* studied when used at low concentrations, below those recommended by the World Health Organization for mosquitoes of the genus *Aedes*. It also showed a strong sublethal effect and affected the fertility of adults in laboratory conditions.

Conclusion: growth inhibitor pyriproxifen is a good alternative to be included among integrated control strategies against *Aedes aegypti* in Cuba without affecting its efficacy, due to the resistance that this species has developed to larvicide temephos.

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

INTRODUCCIÓN

El control del vector del dengue es aún la única medida disponible para disminuir la emergencia y transmisión de esta enfermedad viral. El control integrado de vectores (CIV) es la estrategia más importante que se debe considerar a la hora de decidir o ejecutar las acciones de control de *Aedes aegypti* L, 1762.¹ La estrategia de CIV incluye la utilización de diferentes métodos, saneamiento ambiental, control químico, control biológico y la introducción de métodos genéticos más modernos.

A pesar de que se implementen varias medidas de control, en ocasiones no es suficiente, dando paso a la ocurrencia de brotes o epidemias de dengue; resultando el control químico la medida más eficaz para controlar la transmisión de dengue. El insecticida organofosforado temefos ha sido el larvicida más utilizado en Cuba por el Programa de Control de *Ae. aegypti*, el cual se ha aplicado en formulaciones granuladas a una concentración de 1 ppm. El primer diagnóstico de resistencia a temefos en Cuba fue en Santiago de Cuba, con la ocurrencia del brote de dengue en este municipio, en 1997² y, posteriormente, en La Habana.³⁻⁶ De aquí la necesidad de evaluar otros métodos de control que sean eficaces para controlar poblaciones de *Ae. aegypti*, que ya hayan desarrollado resistencia a temefos.

Pyriproxifeno, regulador de crecimiento, constituye otra alternativa como parte del CIV. Es un análogo de la hormona juvenil que inhibe la producción de huevos y la metamorfosis, su poder de acción es principalmente contra los insectos chupadores y tiene poco efecto en los himenópteros; también es efectivo contra las larvas de mosquitos y aunque puede ser tóxico para los organismos acuáticos, la dosis diferencial entre la mayoría de estos y las pupas de los mosquitos es tan grande, que lo convierte en una buena elección para el control de mosquitos en ambientes sensibles.⁷

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar diferentes dosis de pyriproxifeno para conocer su eficacia como larvicida, pupicida y adulticida, así como determinar su efecto sobre la fecundidad y fertilidad en *Ae. aegypti* de 2 cepas de referencia, susceptible y resistente a temefos.

MÉTODOS

Cepas de Aedes aegypti utilizadas en el trabajo

ROCKEFELLER: cepa de referencia, susceptible a insecticidas, suministrada por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC) de San Juan, Puerto Rico.

SANtem F13: cepa de referencia resistente a temefos, generada en el laboratorio por un proceso de selección con este insecticida, a partir de una cepa de Santiago de Cuba.

Cría y mantenimiento de las larvas

Para la cría de las larvas se utilizaron cubetas plásticas con 2,5 L de agua y 0,7 g de harina de pescado como alimento. Al pasar al estadio de pupa se colocaron en vasos de precipitados dentro de una doble jaula (30 cm x 30 cm x 30 cm) hasta que emergieron los adultos. Los machos fueron alimentados con solución azucarada y las hembras con ratones. En un vaso de precipitado que se colocó dentro de la jaula, se dispuso en su borde interior una tira de papel de 4 a 5 cm de ancho para la recogida de los huevos. Una vez puestos, las tiras de papel se retiraron y se guardaron debidamente rotuladas. Se utilizaron ratones OF-1 heterocigóticos para el desarrollo de la hematofagia, para su uso se han tenido en cuenta las regulaciones de los principios éticos nacionales e internacionales para la experimentación animal.⁸

Bioensayos utilizando pyriproxifeno

Insecticida: pyriproxifeno, 97 % de pureza, suministrado por *Jiangsu Flag Chemical Industry Co., LTD.*

Procedimiento: para los bioensayos con reguladores de crecimiento,⁹ en este caso el pyriproxifeno, se utilizaron larvas en tercer estadio de 2 cepas con distintos niveles de resistencia a temefos, para evaluar la posibilidad de que esto influyera de alguna manera en la efectividad del producto. Se evaluaron las cepas de referencia Rockefeller y SANtem F13. Se colocaron 25 larvas por cada recipiente con 200 mL de agua de clorinada. Se montaron 3 réplicas por concentración e igual número de controles, a los cuales se les añadió 1 ml de acetona, que fue el solvente utilizado. Debido al tiempo de duración del experimento se le proporcionó a cada frasco una pequeña cantidad de alimento (harina de pescado 10 mg/L) en intervalos de 2 días, hasta que se realizó el conteo final. Todos los recipientes fueron cubiertos con gasa para evitar el escape de los adultos al medio. El conteo de la mortalidad o supervivencia se registró diariamente hasta la emergencia completa de los adultos en el control. Los recipientes se mantuvieron a una temperatura entre 25 y 28 °C y con un fotoperíodo de 12L: 12D.

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. El porcentaje de inhibición de la emergencia (IE%) se calculó sobre la base del número de larvas expuestas, utilizando la fórmula siguiente:

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

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

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

En estos porcentajes entran las larvas y pupas moribundas o muertas, así como lo adultos que no estaban completamente separados de la exuvia pupal.

Los valores de IE obtenidos para cada concentración se analizaron mediante el programa Probit-logaritmo para determinar el IE₅₀ e IE₉₅.¹⁰ Para corregir la mortalidad en los controles en los bioensayos con larvas se utilizó la fórmula de Abbot (1925).¹¹

$$\text{Mortalidad (\%)} = \frac{X - Y}{X} \times 100$$

Donde: X= porcentaje de sobrevivientes en los controles.

Y= porcentaje de sobrevivientes en los recipientes tratados.

Se realizó un ANOVA para determinar diferencias entre las medias y prueba de Tukey para determinar medias que difieren entre las cepas analizadas.

Efectos del pyriproxyfeno sobre la reproducción

Larvas del tercer a cuarto estadio temprano provenientes de la cepa Rockefeller fueron tratadas a la concentración que causó 95 % de mortalidad en esta cepa (CL_{95}), calculado por los bioensayos descritos anteriormente. Se evaluó en 5 % de sobrevivientes el efecto en la reproducción, midiendo la fecundidad y viabilidad de los huevos (fertilidad). Los sobrevivientes a la dosis aplicada fueron sexados y transferidos por parejas a cajas individuales, estos se etiquetaron como grupo tratado; de igual manera se hizo con ejemplares provenientes de la colonia no tratada que se etiquetaron como grupo control. Estos se mantuvieron en jaulas limpias, con azúcar, agua y tiras de papel filtro blanco como sustrato de oviposición, las hembras fueron alimentadas con ratones a las 48 h. Después de 4 días, los huevos puestos por hembras se contaron, se pusieron a madurar por 1 día en un lugar seco, después se mantuvieron en cajas limpias con agua durante 3 días más; finalmente, los papeles se retiraron, y el número total de huevos eclosionados y no eclosionados se contaron y registraron en tablas.

La fecundidad media de hembras adultas (tanto tratadas como no tratadas) fue expresada como el número promedio de huevos/hembra. La viabilidad o fertilidad de los huevos se presentó como el porcentaje de huevos/hembra que eclosionaron, que se transformaron a arcoseno para luego efectuar el análisis estadístico al aplicar la prueba t de Student.

RESULTADOS

Se analizaron varias concentraciones de pyriproxyfeno para determinar las dosis en que se manifestó la inhibición de la emergencia en las cepas Rockefeller y SANtemF13, así como el rango de dosis a la cual este regulador de crecimiento mostró mayor actividad larvícida, pupicida y adulticida. La actividad larvícida en Rockefeller se observó en concentraciones entre 0,005 y 0,1 ppb (32 %), en SANtem F13 de 0,01 a 0,1 ppb (31 %); ambas cepas presentaron mayor mortalidad a 0,1 ppb (Fig. 1).

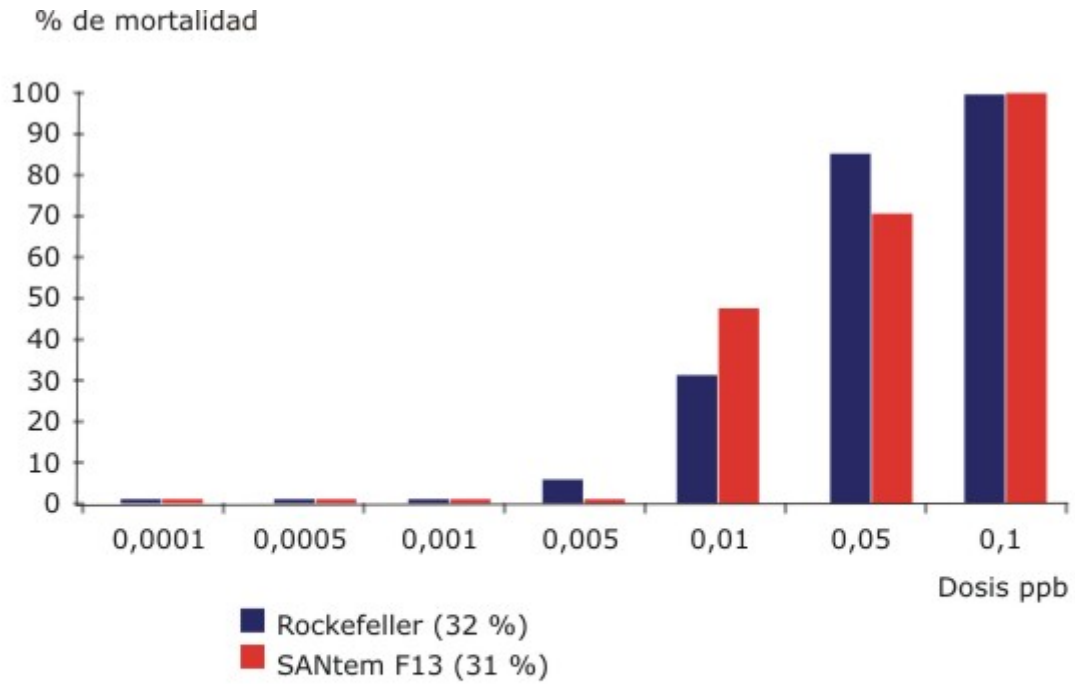


Fig. 1. Dosis a las cuales el pyriproxyfeno mostró mayor actividad larvica en *Aedes aegypti* de las cepas de referencia susceptible (Rockefeller) y resistente a temefos (SANtemF13).

La actividad pupicida se manifestó en un rango entre 0,0001 y 0,05 ppb (21 %) y 0,001-0,05 (12 %) ppb, para Rockefeller y SANtem F13, respectivamente, y más activa a 0,01 ppb en la cepa susceptible y 0,001 ppb en la resistente (Fig. 2).

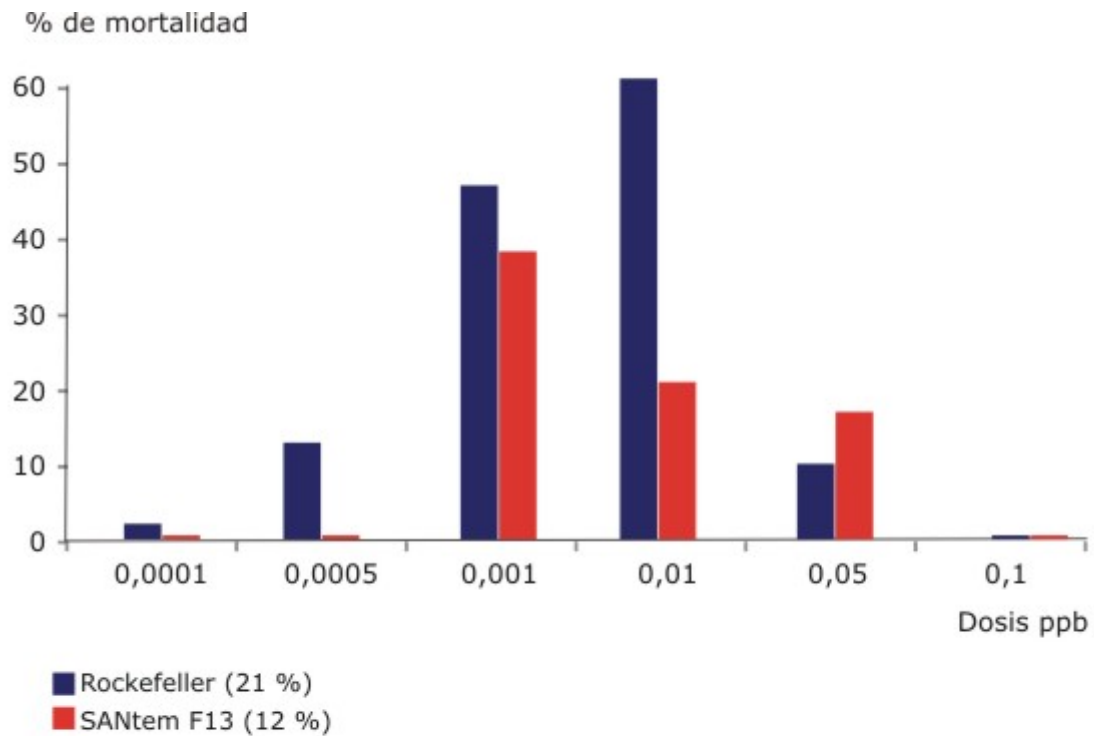


Fig. 2. Dosis a las cuales el pyriproxifeno mostró mayor actividad pupicida en *Aedes aegypti* de las cepas de referencia susceptible (Rockefeller) y resistente a temefos (SANtemF13).

La actividad adulticida, tanto en Rockefeller como en SANtem F13, resultó escasamente perceptible y se observaron entre 0,0005 y 0,005 ppb (1 %), así como 0,0005 y 0,01 ppb (1 %), respectivamente (Fig. 3); de igual manera coincide su más alta mortalidad a 0,001 ppb. Los efectos entre la mortalidad/cepas y la mortalidad/dosis de las cepas estudiadas indicaron una mayor actividad larvicida y pupicida, sin embargo, la actividad adulticida fue mínima. No se encontraron diferencias significativas ($F [(9,22538)] = 7,5974$) al comparar la mortalidad, por dosis evaluada, para las larvas, pero sí para pupas y adultos entre las dos cepas de referencia; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los rangos de dosis letales para larvas, pupas y adultos de las cepas referenciales, Rockefeller y SANtem F13.

En la tabla 1 se muestran los valores de inhibición de la emergencia de adultos para ambas cepas, susceptible (ROCKEFELLER) y resistente a temefos (SANtemF13). El IE_{50} fue de 0,001 y 0,007 y el IE_{95} de 0,01 y 0,08, respectivamente. Los valores de IE_{50} e IE_{95} resultaron menores a los recomendados por la OMS para el género *Aedes* en Rockefeller y en la cepa SANtem F13, que tuvo valores de IE_{95} dentro del rango recomendado.

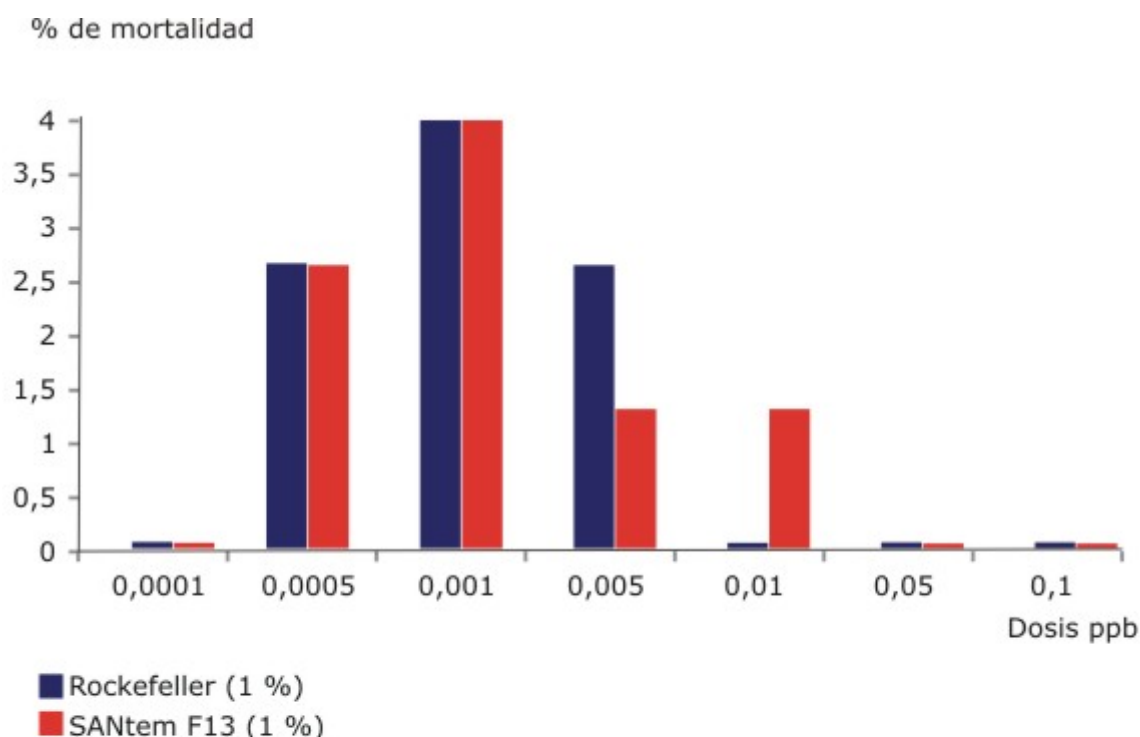


Fig. 3. Dosis a las cuales el pyriproxyfeno mostró mayor actividad adulticida en *Aedes aegypti* de las cepas de referencia susceptible (Rockefeller) y resistente a temefos (SANtemF13).

Tabla 1. Eficacia del pyriproxyfeno en larvas del mosquito *Aedes aegypti* de las cepas Rockefeller y SANtem F13, dado por las dosis que causan 50 y 95 % de adultos no viables, expresado como índice de inhibición de la emergencia (IE₅₀ IE₉₅)

Cepas	^a IE ₅₀ (ppb) (LC)	^a IE ₉₅ (ppb) (LC)	^b b (± DE)
Rockefeller	0,001 (0,0014-0,0023)	0,01 (0,011-0,022)	1,84 (± 0,15)
SANtem F13	0,007 (0,0045-0,011)	0,08 (0,054-0,011)	1,52 (± 0,12)

Número de larvas evaluadas: 825 en cada cepa. ^a: inhibición de la emergencia (IE₅₀ e IE₉₅) en ppb, 95% límites de confianza (LC). ^b: pendiente de la recta probit-log, desviación estándar (± DE).

Efectos del pyriproxyfeno sobre la reproducción

Se analizaron 36 parejas de *Ae. aegypti* sobrevivientes a soluciones tratadas y 36 no tratadas (control) y se realizó el conteo total de huevos por hembra y de ellos cuantos eclosionaron (tabla 1). La fecundidad promedio de las hembras tratadas (45 huevos por hembra), no difirió estadísticamente (p=0,45) de las no tratadas (57 huevos/hembra). La fertilidad (viabilidad de los huevos/hembra) medida como

el porcentaje de huevos eclosionados, presentó diferencias significativas ($p=0,0001$), entre el grupo tratado (50,9 %) y el grupo control (89,4 %) (tabla 2).

Tabla 2. Fecundidad de hembras de *Aedes aegypti* de la cepa Rockefeller y fertilidad de sus huevos en el grupo tratado con pyriproxifeno (0,01 ppb) y en el grupo control

	Fecundidad	Fertilidad
Hembras tratadas	45 huevos/hembra	50,9 %
Grupo control	57 huevos/hembra	89,4 %

DISCUSIÓN

Los resultados de la actividad larvicida, pupicida y adulticida, demostraron que pyriproxifeno resultó eficaz para el control de larvas y pupas de *Ae. aegypti*, pero no para adultos en ambas cepas, tanto la susceptible como la resistente a temefos. Ante la presencia de un análogo de la hormona juvenil (HJ) en larvas de cuarto estadio, que presentan niveles bajos de la HJ endógena, el regulador de crecimiento interfiere en la metamorfosis mediada por ecdysona y por consiguiente en el desarrollo, lo que resulta en la muerte de la pupa o en el adulto emergente.¹² No se descarta la posibilidad de que aquellos adultos que sobrevivan podrían continuar bajo efectos subletales del regulador de crecimiento.¹³ Otros trabajos han demostrado que los análogos de la HJ son más eficaces en la etapa inicial de la metamorfosis y la embriogénesis en los insectos, como son las larvas de últimos estadios, pupas y huevos recién depositados.¹⁴⁻¹⁵

La IE_{50} de las cepas resultó a concentraciones de 0,001 ppb; 0,007 ppb; para Rockefeller y SANtem F13, respectivamente, lo que demuestra que pyriproxifeno resultó efectivo a dosis bajas. Estas resultaron inferiores a las obtenidas por otros autores, *Hatakoshi* y otros¹⁶ (CL_{50} de 0,023 ppb), *Itoh* y otros¹⁷ (CL_{50} de 0,056 ppb), así como *Estrada* y *Mulla*¹⁸ (CL_{50} de 0,33 ppb y CL_{95} de 2,6 ppb). Los valores de IE_{50} y de IE_{95} , para ambas cepas de referencia, resultaron inferiores al rango de dosis recomendadas por la OMS para prevenir la emergencia en mosquitos del género *Aedes* (la CL_{50} o IE_{50} de 0,01 ppb a 0,33 ppb y la IE_{95} entre 0,052 ppb y 2,6 ppb).¹⁹ Al ser este producto tan efectivo a dosis tan bajas, favorece su costo-efectividad para su uso en los programas de control de *Ae. aegypti*.

El pyriproxifeno ha sido evaluado a nivel de laboratorio y con buenos resultados en otros países como en Argentina,²⁰ Brasil,²¹ Perú,² entre otros.

En esta investigación no se detectó algún tipo de malformaciones visibles en los adultos emergidos, sin embargo hay trabajos que han demostrado la presencia de malformaciones y anomalías en adultos de *Ae. aegypti* que lograron emerger después de que las larvas habían sido expuestas a una concentración subletal de pyriproxifeno.²² Sí se encontraron efectos subletales en forma de reducción de la viabilidad de los huevos (fertilidad), sin embargo, no se observó afectación de la fecundidad. Resultados similares se obtuvo en otros estudios, en los cuales se encontró que la fecundidad no fue afectada, pero la subsecuente eclosión de los huevos que estos mosquitos pusieron decreció entre 70 y 90 %.²

Debido a su actividad larvicida, pupicida y su efecto sobre la fertilidad, el IC pyriproxifeno, representa una buena alternativa a incluir dentro de las estrategias de control integrado contra *Ae. aegypti* en Cuba, sin afectarse su eficacia por la resistencia que esta especie ha desarrollado al larvicida temefos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. OMS: Geneva, World Health Organization; 2012.
2. 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.
3. 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 *Ae. aegypti* en Ciudad de La Habana, 2001-2002. Rev Cubana Med Trop. 2004;56:61-6.
4. Bisset JA, Rodríguez MM, Ricardo Y, Ranson H, Perez O. Temephos resistance and esterase activity in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Havana city increased dramatically between 2006 and 2008. J Med Veterinary Entomol. 2011;25:233-9.
5. 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;56:54-60.
6. Rodríguez MM, Bisset JA, Pérez O, Montada D, Moya M, Ricardo Y, et al. Estado de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos en *Aedes aegypti* en el municipio Boyeros. Rev Cubana Med Trop. 2009;61(2).
7. 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 Medical Entomol. 2005;42:620-30.
8. Pérez O, Bisset JA, Leyva M, Rodríguez J, Fuentes O, García I, et al. Manual de indicaciones técnicas para insectarios; 2004. p. 16-53.
9. Organización Mundial de la Salud. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13: 7-19.
10. Raymond M. Present d' un programme d' analyse log-probit pour microordinateur Cahiers Orstrom. Sér. Ent Med Parasitol. 1985;23:117-21.
11. Abbott W S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Economic Entomol. 1925;18:265-7.
12. Wilson TG. The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: how these compounds kill insects. J Insect Physiology. 2004;50:111-21.
13. Boina D, Rogers M, Wang N, Stelinski L. Effect of pyriproxyfen, a juvenile hormone mimic, on egg hatch, nymph development, adult emergence and reproduction of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. Pesticide Management Science. 2010;349-57.
14. Liu TX, Chen TY. Effects of a juvenile hormone analog pyriproxyfen on apterous form of *Lipaphis erysimi* (Homoptera: Aphididae). Entomología Experimentalis Applicata. 2001;98:295-301.

15. Liu TX, Chen TY. Susceptibility of immature stages of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) to pyriproxyfen, a juvenile hormone analog. *J Applied Entomology*. 2002;126:125-9.
16. 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. *Japanese J Sanitary Zoology*. 1987; 38:271-4.
17. Itoh T. Utilization of blood fed females of *Aedes aegypti* as a vehicle for the transfer of the insect growth regulator, pyriproxyfen to larval habitats. *J American Mosquito Control Association*. 1994;36:243-8.
18. Estrada JG, Mulla MS. Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. *J American Mosquito Control Association*. 1986;2:57-60.
19. Organización Mundial de la Salud. Review of the insect growth regulator pyriproxyfen GR. In Report of the 4th WHOPES Working Group Meeting, 2000 December 4-5, Geneva Switzerland: World Health Organization; 2001. p. 50-67.
20. Seccacini E, Lucia A, Harburguer L, Zerba E, Licastro S, Masuh H. Effectiveness of Pyriproxyfen and Diflubenzuron formulations as larvicides against *Aedes aegypti*. *J American Mosquito Control Association*. 2008;24:398-403.
21. Carvalho M, Gama R. Persistence and efficacy of growth regulator pyriproxyfen in laboratory conditions for *Aedes aegypti*. *Rev Sociedade Brasileira Med Trop*. 2006;39:72-6.
22. Oviedo M, Suárez J, González A, Álvarez L. Teratogénesis en poblaciones de *Aedes aegypti* emergidas de larvas tratadas con pyriproxyfen en condiciones de laboratorio. En: Memorias del XX Congreso Venezolano de Entomología. San Cristóbal: Sociedad Venezolana de Entomología; 2007. p. 137.

Recibido: 22 de febrero de 2013.

Aprobado: 3 de junio de 2013.

María Magdalena Rodríguez Coto. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km. 6 ¹/₂. AP 601, Marianao 13. La Habana, Cuba. Correo electrónico: mrodriguez@ipk.sld.cu