ARTÍCULO ORIGINAL

Nivel de resistencia a tres formulaciones de insecticidas en *Aedes aegypti* de la región occidental de Cuba

Resistance of western Cuba *Aedes aegypti* mosquitoes to three insecticide formulations

Juan Andrés Bisset Lazcano, ¹ María Magdalena Rodríguez Coto, ¹ Luis Augusto Piedra O'farrill, ¹ Jorge Rey, ¹¹ María del Carmen Marquetti Fernández, ¹ Gladys Gutiérrez Bugallo ¹

RESUMEN

Objetivo: determinar la susceptibilidad en *Aedes aegypti* (L.) a tres formulaciones de insecticidas a través del bioensayo de botellas impregnadas, estandarizado por el Centro para el Diagnóstico y Control de enfermedades (*CDC*, por sus siglas en inglés).

Métodos: se evaluaron poblaciones de campo de *Ae. aegypti*, colectadas en La Habana y Pinar del Río, para tres de los insecticidas más comúnmente utilizados para el control de *Ae. aegypti* en Cuba, Galgotrin 25 EC (cipermetrina), Aqua kothrine 2 EW (deltametrina) y Clorcide 44 EC (clorpirifos) a través del método de botellas impregnadas del CDC. Se evaluaron además tres cepas de referencia resistentes a insecticidas y la susceptible de referencia Rockefeller. Se determinó además el tiempo en que se pueden utilizar las botellas efectivamente después de impregnadas con cada insecticida.

Resultados: la mayoría de las poblaciones de campo evaluadas resultaron resistentes a Aqua k-othrine 2 EW y Clorcide 44 EC, sin embargo, todas mostraron susceptibilidad a Galgotrin 25 EC. Las cepas de *Ae. aegypti* de referencia resistentes a temefos, deltametrina y propoxur mostraron alta resistencia a los formulados evaluados en este estudio, y la cepa Rockefeller mostró susceptibilidad. Las botellas pueden utilizarse eficazmente entre 4 y 15 días después de impregnadas y reutilizarse hasta 5 veces, en dependencia del tiempo de almacenamiento.

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

II Universidad de Florida. USA.

Conclusiones: el bioensayo de botellas del CDC puede ser una herramienta útil para evaluar la susceptibilidad de las formulaciones de insecticidas en poblaciones de campo de *Ae. aegypti* de Cuba. Galgotrin 25 EC resulta aun efectivo para el control de *Ae. aegypti* en Cuba.

Palabras clave: Aedes aegypti; bioensayo de botellas de CDC; Cuba; resistencia a insecticidas; vigilancia; formulaciones insecticidas.

ABSTRACT

Objective: determine the susceptibility of *Aedes aegypti* (L.) mosquitoes to three insecticide formulations using the impregnated bottle bioassay, standardized by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Methods: an evaluation was conducted of *A. aegypti* field populations collected in Havana and Pinar del Río in relation to three of the insecticides most commonly used for *A. aegypti* control in Cuba: Galgotrin 25 EC (cypermethrin), Aqua k-othrine 2 EW (deltamethrin) and Clorcide 44 EC (chlorpyrifos) using the CDC impregnated bottle method. Analysis was also performed of three insecticide resistant reference strains and the Rockefeller susceptible reference strain. Determination was made of the time when the bottles may be effectively used after impregnation with each insecticide.

Results: most of the field populations evaluated were found to be resistant to Aqua k-othrine 2 EW and Clorcide 44 EC, and all of them showed susceptibility to Galgotrin 25 EC. The reference *A. aegypti* strains resistant to temephos, deltamethrin and propoxur showed high resistance to the study formulations, whereas the Rockefeller strain showed susceptibility. The bottles may be used effectively 4-15 days after impregnation, and be reused up to 5 times, depending on the storage time.

Conclusions: the CDC bottle bioassay may be a useful tool to evaluate the susceptibility of insecticide formulations in Cuban *A. aegypti* field populations. Galgotrin 25 EC is still effective for *A. aegypti* control in Cuba.

Keywords: *Aedes aegypti*; CDC bottle bioassay; Cuba; insecticide resistance; surveillance; insecticide formulations.

INTRODUCCIÓN

El Programa Nacional para el Control de *Ae. aegypti* en Cuba se inició después de la epidemia de dengue ocurrida en 1981. El programa emplea vigilancia regular, reducción de criaderos del vector, uso intensivo de larvicidas y adulticidas y campañas educativas para prevenir la formación de nuevos sitios de cría.¹ Aunque con las actividades del programa se ha logrado controlar este vector en muchas áreas del país, las poblaciones de *Ae. aegypti* siguen incrementándose en ambientes urbanos.² Por lo que permanece el riesgo potencial de ocurrencia de brotes y epidemias de dengue, los que han ocurrido intermitentemente en Cuba desde 2001 hasta la actualidad. También se han diagnosticado casos de chikungunya importados y casos autóctonos de Zika.³

Se ha demostrado que las poblaciones de vectores que sobreviven a la acción del control químico portan genes de resistencia a los insecticidas, que pasan a las nuevas generaciones de mosquitos, lo que afecta el éxito posterior de las estrategias de control.⁴ Cuba tiene un programa de control de *Ae. aegypti* bien estructurado. El monitoreo sistemático de la resistencia a los insecticidas se realiza normalmente a través de ensayos larvarios de laboratorio utilizando la metodología de la OMS⁵ y en adultos a través de papeles impregnados,⁶ pero actualmente es a través de bioensayos de botellas impregnadas del Centro para el Diagnóstico y Control de enfermedades (*CDC, por sus siglas en inglés*),⁷ utilizando las dosis diagnósticas (DD) determinadas para *Ae. aegypti* de Cuba.⁸

La evaluación de las formulaciones de insecticidas en Cuba se realiza mediante ensayos de campo a pequeña escala. ^{9,10} Sin embargo, el bioensayo de botellas impregnadas es una técnica simple, rápida y confiable que puede utilizarse para este propósito y puede complementar los ensayos de campo. El presente estudio se realizó para evaluar la susceptibilidad de *Ae aegypti* para los insecticidas más utilizados en Cuba a través del bioensayo de botellas impregnadas del CDC y también para demostrar la utilidad de este método como una alternativa para evaluar la eficacia de las formulaciones de insecticidas por el programa de control de *Ae. aegypti* en Cuba.

MÉTODOS

CEPAS DE REFERENCIA DE AF. AFGYPTI

Rockefeller: cepa susceptible a insecticidas, se colonizó durante la década de 1930 y fue suministrada por el laboratorio del CDC en San Juan, Puerto Rico.

SAN-F6: cepa resistente a temefos, colonizada en 1997, procedente de Santiago de Cuba y seleccionada por seis generaciones con temefos.¹¹

SAN-F12: cepa resistente a la deltametrina colonizada en 1997, procedente de Santiago de Cuba y seleccionada por 12 generaciones con deltametrina.¹²

SAN-F15: cepa resistente al propoxur colonizada en 1997, procedente de Santiago de Cuba y sometida a presión de selección con propoxur por 13 generaciones de selección.¹³

Estas cepas de referencia de *Ae. aegypti* resistentes a insecticidas se han mantenido en el laboratorio bajo presión de selección, utilizando la concentración que causa 90 % de mortalidad (CL₉₀) del insecticida correspondiente.

POBLACIONES DE CAMPO DE AE. AEGYPTI

Se realizaron colectas de larvas y se trasladaron al insectario del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), y se desarrollaron las colonias de cada área de colecta para realizar los ensayos.

CUBA LIBRE y HERMANOS BARCON: larvas colectadas en el 2015 de dos zonas de la parte más occidental de la isla, municipio y provincia de Pinar del Río.

BOYEROS, SAN MIGUEL DEL PADRON y ARROYO NARANJO: colectadas en el 2012 en la parte occidental de la isla, la capital, La Habana, de los municipios Boyeros, San Miguel del Padrón y Arroyo Naranjo.

CAPDEVILA, WAJAY y ARMADA: colectadas en 2016 en la parte occidental de la isla, la capital, La Habana, del municipio de Boyeros. Las colonias fueron establecidas en el laboratorio para los ensayos.

INSECTICIDAS

En los ensayos se utilizaron los siguientes formulados: Aqua k-othrine 2 EW (el ingrediente activo es deltametrina, producido por Bayer SA de Alemania), Clorcide 44 EC [el ingrediente activo es clorpirifos, producido por el Centro de Higiene y Protección de Radiaciones (CPHR de Cuba)], y Galgotrin 25 EC (el ingrediente activo es cipermetrina producida por Chemotécnica SA de Argentina).

BIOENSAYOS CON BOTELLAS IMPREGNADAS

Se utilizó para evaluar la eficacia de las formulaciones de insecticidas siguiendo las recomendaciones del CDC. Las soluciones de los formulados para impregnar las botellas se prepararon en acetona como se describe en la guía del CDC, teniendo en cuenta la DD del ingrediente activo de cada formulado y determinadas previamente para *Ae. aegypti* (cipermetrina: 13,5 µg/mL, deltametrina: 6,5 µg/mL y clorpirifos: 90,0 µg/mL). El tiempo de diagnóstico se fijó en 30 min. Veinte hembras no alimentadas con sangre, de 3-5 días de nacidas se introdujeron en botellas de 250 mL tratadas con cada formulación de insecticida (4 réplicas) y 1 control, tratado solo con acetona.

Se realizaron tres réplicas para cada ensayo. El número de mosquitos muertos se registró a intervalos de 5 min durante 1 h. Los ensayos anteriores se repitieron tres veces y se calcularon los valores de mortalidad y desviación estándar de mortalidad para cada intervalo de lectura utilizando SPSS Statistics para Windows, versión 11.5 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EE. UU.).

CRITERIOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE RESISTENCIA

Las poblaciones se clasificaron como resistentes o susceptibles utilizando las directrices actualizadas de la OMS.¹⁴ Mortalidad entre 98 y 100 % indica susceptibilidad; en el rango entre 90 y 97 % sugiere que la resistencia puede estar en desarrollo, y menos del 90 % indica resistencia.

PERIODO DE VALIDEZ Y REUTILIZACIÓN DE LAS BOTELLAS IMPREGNADAS

La efectividad y el tiempo de uso efectivamente (100 % de mortalidad en 30 min en la cepa Rockefeller) en diferentes períodos de tiempo de almacenamiento de las botellas se determinó para cada formulación de insecticida, siguiendo la metodología propuesta por el CDC y descrita anteriormente. Todas las botellas fueron tratadas el mismo día y almacenadas en ambiente oscuro, seco y fresco, para preservar la estabilidad del insecticida. Se realizaron tres réplicas de un

conjunto de cinco botellas (cuatro tratadas y un control) para cada formulación insecticida.

RESULTADOS

BIOENSAYOS CON BOTELLAS IMPREGNADAS

Los resultados sobre la evaluación de las cepas resistentes de referencia, utilizando el método de botellas impregnadas, indicaron que la cepa Rockefeller fue susceptible a Aqua k-othrine, Clorcide y Galgotrin, lo que mostró una mortalidad del 100 % en 30 min de exposición a estas formulaciones. Las cepas resistentes, a temefos (SAN-F6), a deltametrina (SAN-F12) y a propoxur (SAN-F15), mostraron una alta resistencia (mortalidad inferior al 90 %) a los tres insecticidas evaluados (tabla 1).

En la <u>tabla 1</u> se muestran los resultados de los bioensayos del CDC para la evaluación de poblaciones de campo de *Ae. aegypti* de los municipios de La Habana y de la provincia de Pinar del Río. Los tres municipios de La Habana muestreados en 2010 y 2012 (CAPDEVILA, SAN MIGUEL DEL PADRÓN y ARROYO NARANJO) mostraron resistencia a Aqua k-othrine 2 EW (< 90 %) y susceptibilidad (mortalidad entre 98 y 100 %) a Galgotrin 25 EC. Solo la población SAN MIGUEL DEL PADRÓN resultó susceptible a Clorcide en ambos años evaluados. Las dos poblaciones de la provincia de Pinar del Río, CUBA LIBRE y HERMANOS BARCON en 2015 fueron resistentes a Aqua k-othrine y Clorcide 44 EC y susceptibles a Galgotrin 25 EC. Las tres poblaciones del municipio de Boyeros de La Habana, colectadas en 2016 (CAPDEVILA, WAJAY y ARMADA) fueron resistentes a Aqua k-othrine 2 EW y susceptibles a Galgotrin 25 EC, pero solo la población de WAJAY resultó susceptible a Clorcide 44 EC.

PERIODO DE VALIDEZ Y REUTILIZACIÓN DE LAS BOTELLAS IMPREGNADAS

Para asegurar los resultados del bioensayo del CDC se determinó la efectividad de la botella tratada en cada tiempo de almacenamiento para cada insecticida evaluado. Las botellas tratadas con Aqua k-othrine 2 EW y Galgotrin 25 EC se pueden utilizar eficazmente hasta 15 días después de la impregnación. Las botellas tratadas con Aqua k-othrine 2 EW y almacenadas de 1 a 3 días se pueden utilizar eficazmente tres veces y una vez de 4 a 15 días de almacenamiento. Las botellas tratadas con Galgotrin 25 EC, almacenadas por 1 día, se pueden utilizar cinco veces, de 2 a 8 días cuatro veces y tres veces de 8 a 15 días. Las botellas impregnadas con Clorcide 44 EC fueron efectivas solo hasta 4 días de almacenamiento y pueden ser usadas efectivamente 2 veces cuando se almacena por 1 día y una vez entre 2 y 4 días de almacenamiento (tabla 2).

Tabla 1. Nivel de resistencia a insecticidas, expresado como valor medio de mortalidad, en una cepa susceptible de referencia Rockefeller, tres cepas de referencia resistentes a insecticidas y poblaciones de campo de *Ae. aegypti*, colectadas en La Habana, en el período 2010, 2012 y 2016 y de la provincia de Pinar del Río, colectadas en el 2016

Localidad / insecticida	Aqua k-othrine 2 EW	Galgotrin 25 EC	Clorcide 44 EC
•	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
Rockefeller (cepa susceptible)	100 ± 0,28**	100 ±0,33**	100 ±0,25**
SAN-F6	11,25 ± 3,53**	1,25 ± 0,83**	8,75 ± 1,75**
SAN-F12 (resistente a deltametrina)	10 ± 0,98**	36,64 ±1,76**	17,5 ±1,32**
SAN-F15 (resistente a propoxur)	51,25 ± 0,88**	68,75 ±1,24**	52,5 ± 0,78**
CAPDEVILA (La Habana) 2010	78,3 ± 1,4**	99,7 ± 0,1**	58,2 ± 1,01**
SAN MIGUEL (La Habana) 2010	89 ± 0,0**	92,2 ± 0,5**	100 ± 0,0
ARROYO NARANJO (La Habana) 2010	85,2 ± 2,8**	99,8 ± 2,3**	66,2 ± 0,4**
CAPDEVILA (La Habana) 2012	77,9 ± 1,3**	100 ± 0,2**	60,2 ± 1,04**
SAN MIGUEL (La Habana) 2012	82 ± 0,0**	98,4 ± 3,4**	98,7 ± 1,3
ARROYO NARANJO (La Habana) 2012	68 ± 0,0**	98,0 ± 2,2**	77,2 ± 2,6**
CUBA LIBRE (P. del Río) 2015	23,75 ± 1,8**	100 ± 2,2**	76.31± 1,7**
HEMANOS BARCON (P. del Río) 2015	88,89 ± 3,2**	100 ± 0,9**	25 ± 1,5**
CAPDEVILA (La Habana) 2016	77,03 ± 1,9**	100 ± 0,0**	64,3 ± 0,2**
WAJAY (La Habana) 2016	79,8 ± 0,0**	98,4 ± 3,4**	99,7 ± 1,5
ARMADA (La Habana) 2016	79 ± 0,0**	99,0 ± 1,2**	79,5 ± 2,6**

^{**}Valor medio de mortalidad ± desviación estándar. N= 300 mosquitos adultos fueron evaluados para cada formulación por cepa.

Tabla 2. Efectividad de las botellas impregnadas con Aqua k-othrine 2 EW, Galgotrin 25 EC y Clorcide 44 EC y su tiempo de uso efectivamente en diferentes períodos de almacenamiento, utilizando la cepa de *Ae. aegypti* de referencia susceptible a insecticidas, Rockefeller

	Tiempo de almacenamiento (días)	Veces que puede utilizarse la botella efectivamente después de impregnadas
Aqua k-othrine 2 EW	1-3	3
	4-7	1
	8-15	1
Galgotrin 25 EC	1	5
	2-8	4
	9-15	3
Clorcide 44 EC	1	2
	2-4	1

DISCUSIÓN

Los resultados proporcionan información al programa de control de *Ae. aegypti* en Cuba, necesaria para establecer estrategias para el uso correcto de los adulticidas durante las campañas intensivas de control de mosquitos en caso de brotes o epidemias de dengue, zika o chikungunya. En este estudio se utilizó por primera vez en Cuba el bioensayo de botellas impregnadas para evaluar la resistencia a formulados, lo que se realiza generalmente a través de ensayos de campo, que son costosos y requieren mucho tiempo y una inversión significativa de recursos humanos.

Utilizando el método del CDC, tres cepas de referencia de *Ae. aegypti* resistentes a temefos, deltametrina y propoxur mostraron alta resistencia a todos los formulados evaluados y la cepa susceptible mostró una mortalidad del 100 % en 30 min para todos los insecticidas evaluados, lo que demuestra la sensibilidad del método. Todas las poblaciones de campo de *Ae. aegypti* mostraron susceptibilidad a Galgotrin 25 EC, pero la mayoría de ellas mostraron resistencia a Aqua k-othrine 2 EW y Clorcide 44 EC, incluyendo las dos cepas del municipio de Pinar del Río (CUBA LIBRE y HERMANOS BARCON). En un estudio previo se demostró que estas dos poblaciones de mosquitos mostraron susceptibilidad a los ingredientes activos de los formulados evaluados en este estudio, cipermetrina, deltametrina y clorpirifos.¹⁵

Los insecticidas piretroides se han utilizado en Cuba desde 1986, cuando el organofosforado malation fue reemplazado por cipermetrina y este ha sido el insecticida piretroide más empleado hasta la fecha. Ya se ha demostrado que *Ae. aegypti* de Cuba mantiene susceptibilidad a cipermetrina y clorpirifos. 9,10,16

La resistencia a Aqua k-othrine 2 EW puede atribuirse a la resistencia cruzada a insecticidas. *Ae. aegypti* de Santiago de Cuba sometido a presión de selección con temefos durante seis generaciones también exhibió resistencia cruzada a deltametrina. Ya existe evidencia de resistencia a Aqua K-Othrine 2 EW en Pinar del Río, la parte más occidental de Cuba y susceptibilidad a Galgotrin y Clorcide. ¹⁵

La vigilancia de la resistencia a los insecticidas es un componente importante de los programas de control de vectores y es esencial para el desarrollo de estrategias de uso de insecticidas para preservar la eficacia del limitado número de estos disponibles para salud pública. Ya se ha demostrado en otros países que Ae. aegypti tiene potencialidades para el desarrollo de resistencia a insecticidas como en Costa Rica donde se demostró que esta especie era resistente a deltametrina y susceptible a clorpirifos y cipermetrina. Fan México Ae. aegypti resultó resistente a cipermetrina y clorpirifos. También se notificó el desarrollo de resistencia a cipermetrina en Ae. aegypti de China. Susceptibilidad a deltametrina también se ha notificado en Ae. aegypti de California.

En este estudio se demostró que Galgotrin resulta aún efectivo para el control de *Ae. aegypti* en Cuba, sin embargo, se evidenció el desarrollo de resistencia a Clorcide 44 EC y Aqua k-othrine 2 EW. El bioensayo de botellas de CDC es una herramienta práctica para la evaluación de la suscetibilidad de formulados en poblaciones de campo de *Ae. aegypti* de Cuba.

Conflictos de interés

Los autores no declaran conflictos de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Kraemer MUG, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQN, Shearer FM, Barker CM, et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. Elife. 2015;4:e08347.
- 2. MINSAP. Manual de Normas y Procedimientos técnicos. Vigilancia y Lucha Antivectorial. La Habana: Ministerio Salud Publica; 2012.
- 3. PAHO-WHO. Zika epidemiological report. Cuba, 2016 [cited 2016 Nov 27]. Available from: http://www.paho.org
- 4. Bisset JA. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Rev Cubana Med Trop. 2002;54:202-19.
- 5. World Health Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Geneva: WHO; 1981.
- 6. World Health Organization. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides. Establishment of the base-line. Geneva: WHO; 1981a.

- 7. Guideline CDC. Guideline for Evaluating Insecticide Resistance in Vectors Using the CDC Bottle Bioassay. 2010 [cited 2016 Nov 27]. Available from: https://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir manual/ir cdc bioassay en.pdf
- 8. Rodríguez MM, Crespo A, Bisset JA, Hurtado D, Fuentes I. Diagnostic doses of insecticides for adult *Aedes aegypti* to assess insecticide resistance in Cuba. J Am Mosq Control Assoc. 2017;33:142-4.
- 9. Montada D, Leyva M, Castex M, Silva Y. Eficacia de los tratamientos intradomiciliarios con cipermetrina, lambdacialotrina y clorpirifos en el control de *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana. Rev Cubana Med Trop. 2010;62:230-6.
- 10. Montada D, Bisset JA, Castex M, Leyva M, San Blas O, González I. Efectividad del sipertrin en el control de *Aedes aegypti* en Santa Clara, Villa Clara. Rev Cubana Med Trop. 2012;65:350-60.
- 11. Rodríguez MM, Bisset JA, Ruiz M, Soca A. Cross-Resistance to Pyrethroid and Organophosphorus Insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. J Med Entomol. 2002;39:882-8.
- 12. 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;21:437-45.
- 13. Bisset JA, Rodríguez MM, Fernandez D. Selection of insensitive acetylcholinesterase as a resistance mechanism in *Ae.aegypti* (Diptera: Culicidae) from Santiago de Cuba. J Med Entomol. 2006;43:1185-9.
- 14. World Health Organization. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. Geneva: WHO; 2013.
- 15. Rodríguez MM, Bisset JA, Hurtado D, Montada D, Leyva M, Castex M, et al. Estudio sobre la susceptibilidad a insecticidas en *Aedes aegypti* del Área de Salud Raúl Sánchez, Pinar del Río. Rev Cubana Med Trop. 2016;68(2):125-35.
- 16. Bisset JA, Rodríguez MM, Moya M, Ricardo R, Montada D, Gato R, et al. Efectividad de formulaciones de insecticidas para el control de adultos de *Aedes aegypti* en La Habana, Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2011;63:166-70.
- 17. Bisset JA, Marín R, Rodríguez MM, Severson DW, Ricardo Y, French L, et al. Insecticide Resistance in Two *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Strains from Costa Rica. J Med Entomol. 2013;50:352-61.
- 18. Flores AE, Ponce G, Silva BG, Gutierrez SM, Bobadilla C, Lopez B, et al. Wide spread cross resistance to pyrethroids in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Veracruz state Mexico. J Econ Entomol. 2013;106:959-69.
- 19. Li CX, Kaufman PE, Xue RD, Zhao MH, Wang G, Yan T, et al. Relationship between insecticide resistance and kdr mutations in the dengue vector *Aedes aegypti* in Southern China. Parasit Vectors. 2015;12:325.

20. Cornel AJ, Holeman J, Nieman CC, Lee Y, Smith C, Amorino M, et al. Surveillance, insecticide resistance and control of an invasive *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) population in California. Version 2. F1000Res. 2016;5:194.

Recibido: 2 de agosto de 2016. Aceptado: 14 de agosto de 2017.

Juan Andres Bisset Lazcano. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Apartado Postal 601, Marianao 13. La Habana, Cuba. Correo electrónico: jabisset20@gmail.com, jabisset@yahoo.com