

Malation vs. *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) de diferentes regiones de Venezuela

Malathion vs. Aedes aegypti (Linnaeus, Diptera: Culicidae) from different regions of Venezuela

Darjaniva Molina de Fernández*, Danny M. Bastidas B. & Luisa Elena Figueroa Acosta

RESUMEN

En Venezuela, el malation ha sido ampliamente usado en forma continua en programas de control de *Aedes aegypti*. Por tal motivo se realizó un estudio en mosquitos provenientes de zonas urbanas con alta casuística de dengue de los estados: Amazonas, Aragua, Bolívar, Lara, Mérida y Zulia, para determinar el status de susceptibilidad en este vector al malati6n, en comparaci6n con la cepa susceptible referencial, Rockefeller (Rock). Se hicieron bioensayos en botellas tratadas con el insecticida malati6n evaluando la dosis diagn6stica 100ug/mL en 30 minutos y ensayos bioqu6micos en microplacas para determinar mecanismos metab6licos asociados al status frente al insecticida. Los resultados de los bioensayos mostraron que existe susceptibilidad a malati6n, lo cual fue confirmado por pruebas bioqu6micas. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre todas las cepas evaluadas con valores de $P < 0,005$ para esterases alfa (α), esterases beta (β) y acetilcolinesterasa normal (Ache) y acetilcolinesterasa inhibida (Achei). La prueba de comparaci6n de medias de Bonferroni encontr6 similitud entre la cepa Rock, Amazonas y Lara para esterases α y β . Se encontr6 similitud de la cepa Rock con las cepas de Bolívar y Zulia para las pruebas con Ache y Achei. Este estudio concluye que el malati6n mostr6 su potencial de uso en el control del vector del dengue de las localidades evaluadas.

Palabras claves: *Aedes aegypti*, esterases, malation, susceptibilidad.

SUMMARY

In Venezuela, malathion has been widely used continuously in control programs for Aedes aegypti. Therefore, a study in mosquitoes from urban areas with high dengue casuistry in the states of Amazonas, Aragua, Bolivar, Lara, Merida and Zulia was conducted to determine the status of this vector susceptibility to malathion, compared with the reference susceptible strain, Rockefeller. Bioassays were done on bottles treated with the insecticide malathion, 100ug/mL evaluating the diagnostic doses in 30 minutes and biochemical assays in microplates were performed to determine metabolic mechanisms associated with status against insecticide. The bioassay results showed that there is malathion susceptibility, which was confirmed by biochemical tests. However, significant differences were found among all strains assessed values of $P < 0.005$ for esterases alpha (α), beta esterases (β) and standard acetylcholinesterase (AChE) and inhibited acetylcholinesterase (AChEi). The mean comparison test of Bonferroni showed similarity between the strains Rock, Amazon and Lara for esterases α and β . Similarity was found between the strains Rock, Bolivar and Zulia for the Ache and Achei tests. This study concludes that malathion showed its potential use in controlling the dengue vector in the locations evaluated.

Key words: *Aedes aegypti*, esterases, malathion, susceptibility.

INTRDUCCI6N

Aedes aegypti, el "mosquito de la fiebre amarilla", es el vector primario en el ser humano de los flavivirus dengue y fiebre amarilla y del alfavirus chikungunya. Dado que las vacunas todavía no

están disponibles, el dengue es actualmente una de las enfermedades reemergentes más importantes en el mundo, ya que se reportan aproximadamente 20 millones de infectados anualmente (CDC, 2010). En la Regi6n de las Américas, el número de casos de dengue ha aumentado sostenidamente durante los últimos 25

Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA), S.A. Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon", Ministerio del Poder Popular para la Salud (IAE/MPPS). Avenida Bermúdez Sur N° 93, Maracay, edo. Aragua. Venezuela.

*Autor de correspondencia: darja2410@gmail.com

años y este aumento se interpreta como una falla de las políticas de salud pública (Gubler, 2005; Clark, 2008). En Venezuela, desde la primera epidemia en 1989-1990, se han reportado cientos de miles de casos hasta la fecha. De hecho en el quinquenio 2004-2008 se reportaron más de 235 mil casos. (MPPS, 2005, 2007, 2008). El control de *Ae. aegypti* sigue siendo la opción principal para prevenir y controlar los brotes de las enfermedades causadas por esos arbovirus. Aunque algunos Programas de control están haciendo énfasis en las distintas formas de transferir a la comunidad la responsabilidad, capacidad y motivación que requieren el control y la prevención del dengue, estas acciones de promoción y la participación comunitaria, estrategias COMBI (Parks & Lloyd, 2004), aun tienen escaso impacto en las epidemias debido a las dificultades para su sostenibilidad en ambientes con problemas socioeconómicos. Por ahora el tratamiento focal y perifocal con larvicidas químicos sigue siendo la principal herramienta de prevención, en tanto que la aplicación de adulticidas en volumen ultra bajo (ULV) o nebulizaciones con organofosforados y más recientemente con piretroides, se mantienen como las medidas de control durante brotes o epidemias en Venezuela. Sin embargo la eficacia del control químico está amenazada por el desarrollo de resistencia, como ha sido demostrado en numerosos reportes de resistencia en *Ae. aegypti* (Georghiou *et al.*, 1987; Rawlins, 1998; Braga & Valle, 2007; Flores *et al.*, 2007; Bisset *et al.*, 2001; Álvarez *et al.*, 2008, Rodríguez *et al.*, 2007). Los insecticidas pueden matar un gran número de mosquitos en un corto tiempo y pueden reducir su densidad lo suficiente como para suprimir la población del vector, pero el uso frecuente de insecticidas o aplicando el mismo compuesto en una misma área por largo tiempo puede causar resistencia, los mosquitos necesitan adaptarse a los insecticidas para ser capaces de sobrevivir (Saelim *et al.*, 2005). En tal sentido, considerando que en Venezuela el control químico de *Ae. aegypti* con adulticidas ha sido mayormente con el malatión se quiere conocer si el uso frecuente de este compuesto ha seleccionado individuos con mecanismos de resistencia capaces de evadir el efecto tóxico del malatión.

MATERIALES Y MÉTODOS

Insectos

Aedes aegypti cepa Rockefeller susceptible referencial suministrada por los CDC (Centers for

Disease Control and Prevention, Atlanta, U.S.A.), San Juan de Puerto Rico. Fue desarrollada a partir de posturas existentes en el Laboratorio de Biología de Vectores y Reservorios del CEEESA (IAE Dr. Arnoldo Gabaldon) siguiendo para la cría, metodología estandarizada en el mismo laboratorio.

Aedes aegypti cepas de campo

Se realizaron colectas de fases inmaduras (larvas y pupas) de *Ae. aegypti* en cada una de las regiones aplicando los métodos sugeridos por la OMS (1993) utilizando cucharones, goteros y succionadores. Las colectas se realizaron en zonas urbanas de los estados Amazonas (56°61'5,15" N, 67°62'0,74" W), Aragua (10°35'02" N, 62°59'12" W), Bolívar (08°19'53,09" N, 62°39'02,18" W), Lara (10°03'01,53" N, 69°23'37,65" W), Mérida (08°33'42,63" N, 71°11'32,92" W) y Zulia (11°05'07,06" N, 71°50'35,43" W). Los inmaduros que fueron colectados se colocaron en bolsas plásticas transparentes (de un kilogramo de capacidad) con aproximadamente 500mL de agua de los mismos recipientes de donde fueron extraídas. Cada bolsa se rotuló, se cerró y luego fueron colocadas en cavas de anime para ser transportadas al laboratorio. Posteriormente, se procedió a realizar un pool de larvas de cada lugar de muestreo, vaciando el contenido de cada bolsa en cubetas plásticas que fueron distribuidas y debidamente identificadas con los nombres de los estados de procedencia, donde se desarrollaron bajo condiciones de cría estandarizadas hasta la obtención de adultos; para los ensayos con insecticidas se utilizaron adultos desarrollados hasta la tercera generación filial.

Insecticida

Fue evaluado el insecticida organofosforado malatión (96% p/p), en presentación grado técnico, sin valor comercial, el mismo fue suministrado por Insecticidas Internacionales Compañía Anónima. (INICA).

Pruebas biológicas

Los bioensayos para evaluar susceptibilidad a insecticidas se realizaron siguiendo el método de exposición residual de insecticidas en botellas del CDC (Brogdon & McAllister, 1998). Los mosquitos adultos hembras *Ae. aegypti* cepa Rock, fueron expuestos a botellas de vidrio tipo Wheaton de 250 mL, tratadas con soluciones cetónicas de insecticidas, las cuales

se usaron como cámaras de prueba para detectar la resistencia o susceptibilidad a los insecticidas. Estas fueron preparadas en el laboratorio de Evaluación de Insecticidas del CEEESA, IAE, siguiendo metodología estandarizada por Figueroa Acosta *et al.*, 2006. Se determinaron las dosis diagnósticas y el límite o umbral de resistencia en función del tiempo en la cepa de laboratorio susceptible Rockefeller, parámetros que se tomaron como referencia para categorizar como resistentes los mosquitos de poblaciones de campo que superaron el umbral o susceptibles aquellos que murieron en tiempos menores al umbral de referencia. La dosis diagnóstica se definió como la menor dosis que causó el mayor porcentaje de mortalidad en el menor tiempo en los insectos expuestos. (Brogdon & McAllister, 1998).

Los bioensayos se realizaron en el laboratorio a temperaturas aproximadas de $23^{\circ}\text{C} \pm 2$ y humedad relativa de $55\% \pm 5$. Fueron expuestos aproximadamente 15 ± 5 mosquitos adultos hembras por botella y se evaluaron cuatro repeticiones por cada concentración de insecticida y dos repeticiones como grupo control. Cada quince minutos fue registrado el número de mosquitos muertos hasta observar el 100% de mortalidad. Los bioensayos fueron replicados tres veces el mismo día de ejecución de la prueba.

Criterio de mortalidad

Situación en la que el insecto se encuentra sin ningún movimiento evidente de cualquier apéndice después de la observación por un mínimo de 3 segundos.

Pruebas bioquímicas

Estas consistieron en detectar la presencia de mecanismos de resistencia específicos en insectos individuales que podrían proveer precisión en el control de la resistencia. Cada mosquito fue triturado en 50 μL de solución tampón pH 7,5 y 0,05 M y se le añadió 0,5 mL de la misma solución. Se tomaron alícuotas de 50 μL de cada muestra que fueron colocadas en placas para microtitulación de 96 pocillos. Se evaluaron cuatro sistemas enzimáticos que confieren resistencia a insecticidas; esterasas alfa (α) y beta (β), acetilcolinesterasa normal (AChE) y acetilcolinesterasa inhibida (AChEI). Los substratos utilizados en cada caso incluyen alfa y beta-nafil acetato para las esterasas no específicas, el yoduro de acetiltiocolina se usó para evidenciar la presencia de la AChE y para la AChEI se utilizó el insecticida carbamato

propoxur añadido a la muestra. La absorbancia fue medida en un lector de ELISA (Ensayo Inmuno Absorbente Ligado a Enzimas), Multiskan Plus de Fisher Scientific, empleando filtros de 405 nm para AChE y AChEI, y para las esterasas se empleó un filtro de 620 nm.

Análisis de los Resultados

Pruebas Biológicas

Se relacionaron las variables tiempo-mortalidad para los insectos evaluados. Los datos obtenidos con las botellas fueron graficados en el programa Excel. Dicho análisis arrojó una curva sigmoidal, el porcentaje de mortalidad y los tiempos letales en minutos para el insecticida malation, la mortalidad entre 5 y 20% en el grupo control fue corregida aplicando la fórmula de Abbott (1925):

$$\frac{\% \text{ de mortalidad de la prueba} - \% \text{ de mortalidad del control} \times 100}{100 - \% \text{ mortalidad del control}}$$

Pruebas bioquímicas

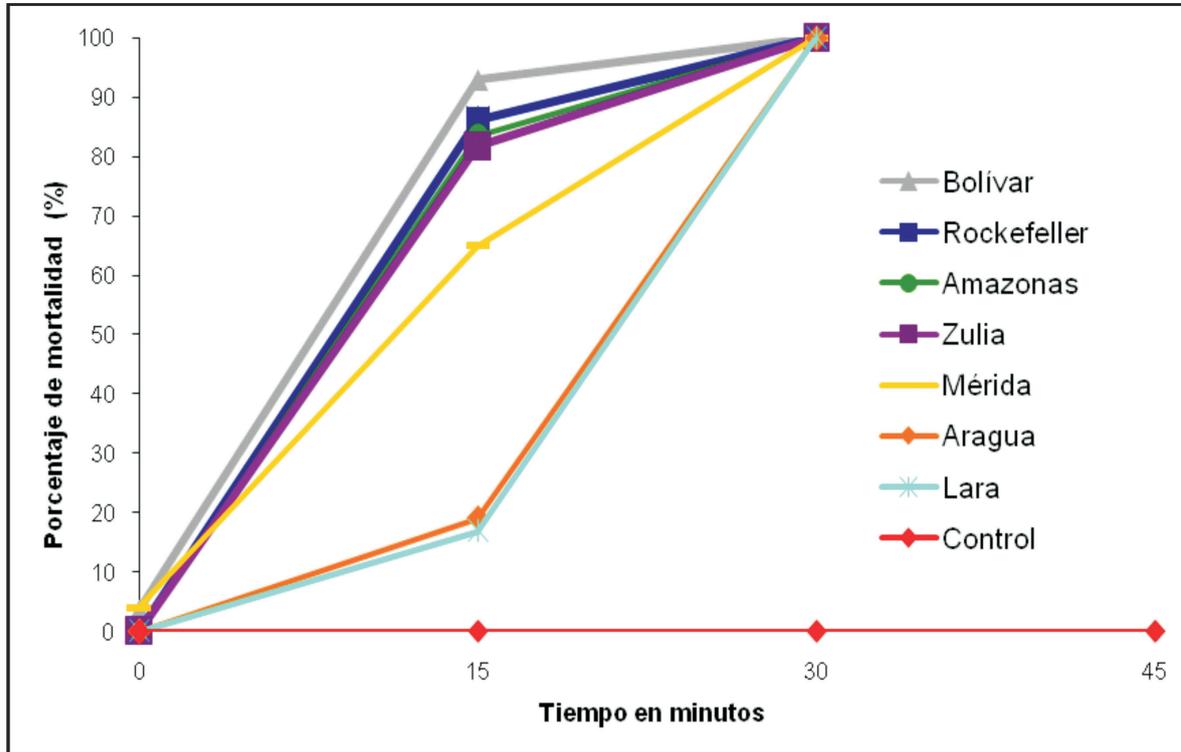
Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk para cada cepa (IC 95%), se compararon con la cepa Rock mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunnes (IC 95%). También se aplicó estadística descriptiva, Análisis de Varianza de una sola vía y prueba de comparación de medias LSD a través del programa Statistix versión 8.0 (Sokal & Rohlf, 1979)

RESULTADOS

Pruebas Biológicas

Los resultados de los bioensayos se muestran en la Fig. 1, en la que se presentan las curvas de tendencia de cepas de campo de *Ae. aegypti* y la cepa susceptible de referencia Rock., ante el efecto del insecticida malation a 100 ug por botella. En los registros de mortalidad que se hicieron a los 30 minutos se registró el 100% de mortalidad en todas las cepas de campo evaluadas, evidenciando un solapamiento con la cepa Rock, lo cual las caracterizó como susceptibles al insecticida malation. En el tratamiento control no se encontró mortalidad superior al 5% por lo que no fue necesario corregir con la fórmula de Abbott.

Fig. 1. Datos de tiempo-mortalidad en adultos de *Aedes aegypti* cepa susceptible control (Rockefeller) y seis cepas de campo, expuestos al organofosforado malation a una concentración de 100 ug/mL por botella.



No deja de ser importante mencionar que a los primeros quince minutos de exposición, el mayor porcentaje de mortalidad se encontró en mosquitos de la cepa Bolívar (93%) seguido por mosquitos de la cepa Amazonas (83,6%), Rock (83,3%) y Zulia (81,7%), mientras que los mosquitos de las cepas Mérida, Aragua y Lara con porcentajes de mortalidad de 65, 19,1% y 16,9% , respectivamente.

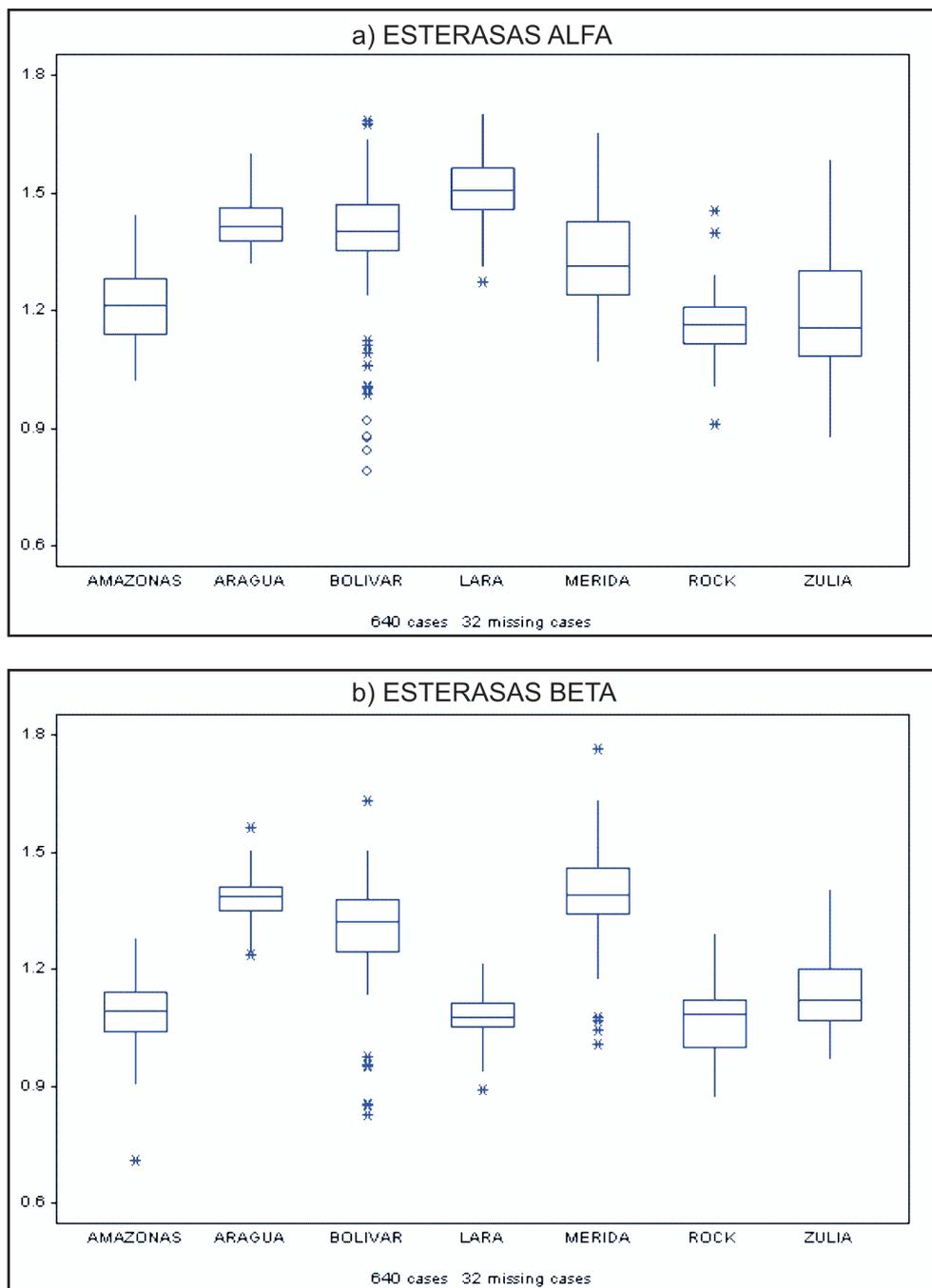
Pruebas bioquímicas

Aún cuando las cepas resultaron susceptibles al malation, se presenta el perfil de las esterasas elevadas y acetilcolinesterasa, encontrados. En la Fig. 2 (a) y (b) se representa el diagrama de cajas donde se observa gráficamente el comportamiento de las esterasas alfa (α) y beta (β) en las siete cepas evaluadas. El ANOVA de una sola vía para esterasas alfa (α) reveló un coeficiente de variación (CV) de 9,37, lo que indica que hay muy poca variación entre las cepas evaluadas ($P < 0,0012$ y $F = 104$). Además se aplicó la prueba de medias de Bonferroni y se

encontró similitud entre la cepa Rock con Amazonas y Zulia; así como diferencias significativas entre estas y los mosquitos de Lara, Aragua, Bolívar y Mérida. Para esterasas beta (β), se encontró un CV = 8,01, que también demuestra muy poca variación entre las cepas evaluadas ($P < 0,000$ y $F = 207$). De igual manera, se encontró similitud de la cepa Rock con Amazonas y Lara; así como diferencias significativas entre estas y los mosquitos de Mérida, Aragua, Bolívar y Zulia.

En la Fig. 3 (a) y (b), se representa el diagrama de cajas donde se observa gráficamente el comportamiento de las AChE Normal e Inhibida (AChEi) en las siete cepas evaluadas. El ANOVA de una sola vía para Acetilcolinesterasa normal, reveló un coeficiente de variación (CV) de 14,50, lo que indica que hay moderada variación entre las cepas evaluadas ($P < 0,000$ y $F = 1191$). También se aplicó la prueba de medias de Bonferroni y se encontró similitud de la cepa Rock con Bolívar y Zulia; así como diferencias significativas entre estas y los mosquitos de Mérida, Lara, Amazonas y Aragua. Para la Acetilcolinesterasa Inhibida (AChEi), se encontró un CV = 15,31, que

Fig. 2. Diagrama de cajas correspondiente a los valores de absorbancias para las esterazas alfa (a) y beta (b) en siete cepas de *Aedes aegypti* de Venezuela.

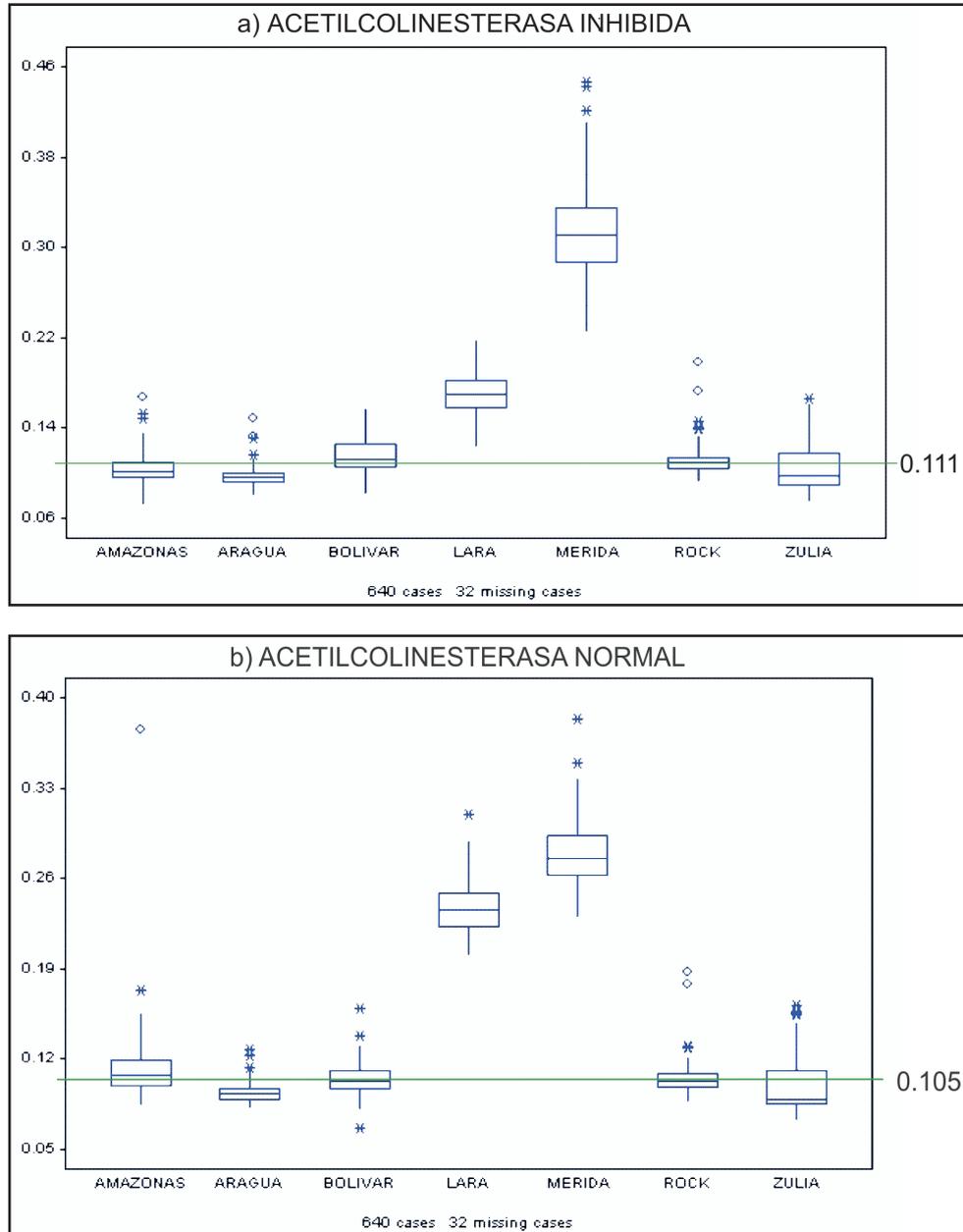


también demuestra moderada variación entre las cepas evaluadas ($P < 0,000$ y $F = 1127$). De igual manera se encontró similitud entre la cepa Rock con Bolívar y Zulia; así como diferencias significativas entre estas y los mosquitos de Mérida, Aragua, Amazonas y Lara.

DISCUSIÓN

Diversas especies de insectos han desarrollado resistencia a los organofosforados. La resistencia de amplio espectro a organofosforados, o

Fig. 3. Diagrama de cajas correspondiente a los valores de absorbancias para la acetilcolinesterasa inhibida (a) y normal (b) en siete cepas de *Aedes aegypti* de Venezuela.



la resistencia específica para malation están presentes en las principales especies vectoras del género *Anopheles* (Hemingway & Ranson, 2000; Molina de Fernández *et al.*, 2007; Molina de Fernández & Figueroa Acosta, 2009), *Culex* (Hemingway & Karunaratne, 1998; Bastidas *et al.*, 2011) y también en *Ae. aegypti* (Georghiou *et al.*, 1987; Vaughan *et al.*, 1998; Rawling, 1998; Bisset *et al.*, 2006; Pérez

& Molina, 2009). En 1960 se reportaron los primeros casos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos en *Ae. aegypti* (Fox *et al.*, 1961), en una cepa en Puerto Rico resistente a malation y diazinon. La capacidad de resistir al malation se asoció con la detoxificación mediada por enzimas de actividad específica: carboxilesterasa. No obstante, nuestros resultados mostraron que a pesar de cuatro

décadas de intenso uso del insecticida malation como adulticida en Venezuela las cepas de *Ae. aegypti* de regiones con alta casuística de dengue y que han tenido presión por la aplicación de este insecticida en el histórico, resultaron susceptibles al efecto del malation a dosis diagnóstica referencial de 100ug/mL. A pesar de la presión no se han dado alteraciones en el carácter susceptible en los mosquitos a esta clase de insecticida en las cepas de campo evaluadas, por cuanto los registros de mortalidad previos al umbral evidenciaron en los mosquitos susceptibilidad al malation. Los insecticidas organofosforados han sido utilizados para el control de *Ae. aegypti* durante los últimos 15 a 20 años en varios países de América. Particularmente el departamento del Atlántico en Colombia inició su uso a partir de los 70, durante más de tres décadas el uso de insecticidas químicos ha sido la principal medida de control para la fiebre dengue; estudios de susceptibilidad de *Ae. aegypti* a insecticidas en dicho departamento reportan susceptibilidad al malation a una dosis referencial de 100ug/mL en poblaciones de Baranoa, Puerto Colombia, Malambo; Soledad-Villa Katanga, Soledad-Floresta y Barranquilla, en correspondencia a la dosis evaluada y susceptibilidad encontrada en las cepas de *Ae. aegypti* venezolanas, estudiadas en el presente trabajo. Rodríguez *et al.* (1999), determinaron bajos niveles de resistencia a fentión, malation y deltametrina en una cepa de *Ae. aegypti* de Santiago de Cuba. También, hay países como la India que a pesar del uso intensivo de insecticidas, tanto en *Ae. aegypti* como *Ae. albopictus* mostraron completa susceptibilidad a los organofosforados más utilizados por el Programa de Control de enfermedades transmitidas por vectores, como fueron el temefos, fention, malation y fenitrothion (Mukhopadhyay *et al.*, 2006). Existen trabajos que demuestran que *Ae. aegypti* presenta aún susceptibilidad a malation, como ha sido en la India y en Tailandia en cepas de cuatro lugares Mae Sot, Nakhon Ratehaslina, Sarat Thani y Phatthalung a pesar de que han resultado resistentes al organofosforado temefos y al piretroide permetrina (Ponlawat *et al.*, 2005). Estudios realizados por Fonseca (2008), sobre susceptibilidad a insecticidas en doce poblaciones provenientes de siete municipios localizados en los departamentos de Antioquia, Chocó y Putumayo de Colombia, utilizando bioensayos de la OMS y del CDC, reportaron todas las poblaciones de adultos y de larvas fueron susceptibles al efecto tóxico del malation, situación generalizada en América pese al uso masivo de este organofosforado.

Por otro lado, se consideró importante ampliar este estudio determinando los mecanismos de resistencia expresados en estas poblaciones mediante pruebas bioquímicas que permitirían conocer el perfil de estas cepas de *Ae. aegypti* que resultaron susceptibles al malation. Se encontró que mecanismos de resistencia mediados por las enzimas esterases específicas no están asociados como mecanismos de resistencia al malation en las cepas Amazonas, Lara y Zulia, lo cual confirma la susceptibilidad expresada por esas cepas al insecticida. Características intrínsecas de las cepas Aragua, Bolívar y Mérida pudieran explicar las diferencias encontradas con Rock, que no se relaciona con la susceptibilidad encontrada en los bioensayos. Así también los mecanismos mediados por Ache Normal e Achei Inhibida no se encontraron asociados como mecanismos de resistencia al malation en las cepas Bolívar y Zulia, probablemente características intrínsecas de las cepas Aragua, Lara y Mérida pudieran explicar las diferencias encontradas con Rock, que no se relaciona con la susceptibilidad encontrada en los bioensayos. Flores *et al.* (2006), reportaron de mucha importancia los mecanismos de resistencia a insecticidas que fueron estudiados utilizando análisis bioquímicos en *Ae. aegypti* colectados en 5 municipios que representaban la parte del norte de Quintana Roo: Benito Juárez, Cozumel, Isla Mujeres, Lázaro Cárdenas, y Solidaridad en Méjico. Las actividades de las esterases alfa (α) y beta (β), oxidasas de funciones mixtas (MFO), glutathion-S-transferasa (GST), acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa inhibida (iAChE) fueron evaluadas en microplacas con la cepa susceptible de New Orleans de *Ae. aegypti*. Se ha sugerido que las esterases elevadas actúan como mecanismos potenciales de la resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos, y algunos insecticidas piretroides. Los niveles levemente elevados de MFOs aparecieron en las hembras de Lázaro Cárdenas y en los machos de Cozumel, de Isla Mujeres, y de Solidaridad. Los mecanismos que implicaban el iAChE o GST no se evidenciaron. En Brasil, Montella *et al.* (2007), detectaron en cepas de *Ae. aegypti* de varios municipios resistencia a organofosforados específicamente al temefos, utilizado desde 1967. En consecuencia se realizó un cambio de estrategias de control y los organofosforados fueron sustituidos por los piretroides contra los adultos y en algunas localidades, por *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) contra las larvas. Sin embargo, altos coeficientes de resistencia a temefos todavía detectado entre 2001

y 2004 con una ligera reducción de la esterasa (EST) y la actividad de EST junto con un aumento gradual de p-nitrofenil acetato (PNPA)-EST. Glutatión-S-transferasa, la alteración se encontró sólo en la región noreste, extendiendo a todo el país a partir de entonces. En general, los datos fueron analizados en el contexto de la aplicación histórica de los insecticidas en el Brasil. Nuestro estudio sugiere que el monitoreo de la susceptibilidad en forma continua y sistemática a los insecticidas incorporados en Programas de control vectorial, debe ser conducido en escala local en los diferentes estados de Venezuela, en red, a fin de identificar la eficacia de compuestos para el control del dengue y así facilitar la selección de los compuestos con la mayor seguridad para detener o minimizar las infecciones de dengue. Sensibilización de la comunidad, la cooperación con la campaña de salud pública para reducir criaderos de larvas de *Aedes* y la rotación bien administrada de los insecticidas eficaces, son estrategias recomendadas para el control del vector del dengue (Ponlawat *et al.*, 2005).

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA) y a las Direcciones de Salud de las regiones de estudio. La investigación fue financiada por el S.A. Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldon” (IAE-MPPS).

Conflictos de intereses

Los Autores manifestamos que no ha habido conflictos de intereses en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

- Abbott W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18**: 265-267
- Álvarez L., Castillo C., Oviedo M. & Briceño F. (2008). Diferencias en la susceptibilidad a la deltametrina en poblaciones de *Aedes aegypti* de Trujillo, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb.* **48**: 39-47.
- Bastidas B. D., Casanova Y. & Molina de Fernández D. (2011). Línea básica de susceptibilidad y efecto sinérgico a los insecticidas malatión y pirimifos – metil en adultos de *Culex* spp. Say1823 (Diptera-Culicidae) del municipio Mario Briceño Iragorry del estado Aragua, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb.* **51**: 199-206
- Bisset J., Rodríguez M., Molina D., Díaz C. & Soca A. (2001). Esterasas elevadas como mecanismo de resistencia a insecticidas organofosforados en cepas de *Aedes aegypti*. *Rev. Cubana. Med. Trop.* **53**: 37-43.
- Bisset J., Rodríguez Maria M. & Fernández Ditter (2006). Selection of insensitive Acetylcholinesterase as a resistance mechanism in *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) from Santiago de Cuba. *J. Med. Entom.* **43**: 1185-1189.
- Bisset J., Rodríguez M., San Martín J., Romero J. & Montoya R. (2009). Evaluación de la resistencia a insecticidas de una cepa de *Aedes aegypti* de El Salvador. *Rev. Panam. Salud Pública.* **26**: 229-234.
- Braga I. & Valle D. (2007). *Aedes aegypti*: Surveillance, Resistance Monitoring, and Control Alternatives in Brazil. *Epidemiol. Serv. Saúde.* **16**: 295-302.
- Brogdon W. & McAllister J. (1998). Simplification of adult mosquito bioassays through use of time mortality determinations in glass bottles. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* **14**: 159-154.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, U.S.A.) (2010). *Dengue*. Documento en línea: <http://www.cdc.gov/spanish/enfermedades.htm> (Consultado: 2010, Julio 06).
- Clark G. (2008). Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in Northern Mexico and South Texas: Do They Really Respect the Border? *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* **78**: 361-362.
- Figuroa Acosta L. E., Marín Álvarez M., Pérez Pinto E. & Molina de Fernández D. (2006). Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado Aragua. *Bol. Mal. Salud Amb.* **46**: 39-47.
- Flores A., Salomon J., Fernández I., Ponce G., Loaiza M., Lozano S., Brogdon W., Black W. & Beaty

- B. (2007). Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Aedes aegypti* (L) from Quintana Roo, southern Mexico. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* **22**: 672-677.
- Fox I. & García-Mola I. (1961). Multi-resistant *Aedes aegypti* in Puerto Rico and Virgin islands. *Science*. **233**: 6
- Georghiou G. P., Wirth M., Tran H., Saume F. & Knudsen A. B. (1987). Potential for organophosphate resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean area and neighboring countries. *J. Med. Entomol.* **24**: 290-294
- Gubler D. (2005). The emergence of epidemic dengue fever and dengue hemorrhagic fever in the Americas: a case of failed public health policy. *Rev. Panam. Salud Pública.* **17**: 221-224. .
- Hemingway J. & Karunaratne S. H. (1998). Mosquito carboxylesterases: a review of molecular and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. *J. Med. Vet. Entomol.* **12**: 1-12.
- Hemingway J. & Ranson H. (2000). Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Ann. Rev. Entomol.* **45**: 371-391.
- Molina de Fernández D., Figueroa A. L. E. & Pérez E. (2007). Resistencia Múltiple a Insecticidas en *Anopheles marajoara* Galvao & Damasceno, 1942 en zonas agrícolas. *Salud & Desarrollo Social* N° 3 Art. 3 pp. 21-31.
- Molina de Fernández D. & Figueroa A. L. E. (2009). Resistencia metabólica a Insecticidas Organofosforados en *Anopheles aquasalis* Curry 1932, Municipio Libertador, estado Sucre, Venezuela. *Biomédica.* **29**: 604-615.
- Montella I., Martins A., Medeiros V., Pereira J. & Braga I. (2007). Insecticide resistance mechanisms of brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. *J. Amer. Trop. Med. Hyg.* **77**: 467-477.
- MPPS (2005). Boletín epidemiológico semanal, año 54, semana epidemiológica N° 52 Documento en línea: <http://www.msds.gov.ve/ms/modulesphp> (Consultado: 2010, Julio 02).
- MPPS (2007). Boletín epidemiológico semanal, año 56, semana epidemiológica N° 52. Documento en línea: <http://www.msds.gov.ve/ms/modulesphp> (Consultado: 2010, Julio 02).
- MPPS (2008). Boletín epidemiológico semanal, año 57, semana epidemiológica N° 53. Documento en línea: <http://www.msds.gov.ve/ms/modulesphp> (Consulta: 2010, Julio 02).
- Mukhopadhyay A. K., Patnaik S. K. & Satya Babu P. (2006). Susceptibility status of some culicine mosquitoes to insecticides in Rajahmundry town of Andhra Pradesh, India. *J. Vect Borne Dis.* **43**: 39-41.
- OMS (1993). *Técnicas entomológicas de campo para la lucha antipalúdica, parte I*. Guía del alumno. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. pp.: 9-77.
- Parks W. & Lloyd L. (2004). UNICEF/PDNU/Banco Mundial/OMS. *Planificación de la movilización y comunicación social para la prevención y el control del dengue: Guía paso a paso*. WHO/CDS/WMC/2004.2; TDR/STR/SEB/DEN/04.1.
- Ponlawat A., Scott J. G. & Harrington L. C. (2005). Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* across Thailand. *J. Med. Entomology.* **42**: 821-825
- Rawlins S. (1998). Distribución espacial e importancia de la resistencia a insecticidas de poblaciones de *Aedes aegypti* en el Caribe. *Rev. Pan. Salud Púb.* **4**: 243-251
- Rodríguez M., Bisset J. & Fernández D. (2007). Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.* **23**: 420-429.
- Rodríguez M., Bisset J., Milá L., Calvo E., Díaz, C. & Soca L. (1999). Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. *Rev. Cubana. Med. Trop.* **51**: 83-88.
- Saelim V., Brogdon W., Rojanapremsuk J., Suvannadabba S., Pandi W., Jones J. &

- Sithiprasasna R. (2005). Bottle and biochemical assays on temephos resistance in *Aedes aegypti* in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*. **36**: 417-425.
- Santacoloma L., Chaves B. & Brochero H. (2010). Susceptibilidad de *Aedes aegypti* a DDT, deltametrina y lambdacialotrina en Colombia. *Rev. Pan. Salud Pùb.* **27**: 66-73.
- Sokal F., Robert R., Rohlf F. & James (1979). *Biometría: Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Primera edición española. Ediciones H. Blumes Rosario, 17- Madrid -5., 832p
- Vaughan A., Chadee D. D. & French-Constant R. (1998). Biochemical monitoring of organophosphorus and carbamate insecticide resistance in *Aedes aegypti* mosquitoes from Trinidad. *J. Med. Vet. Entomol.* **12**: 318-321

Recibido el 13/02/2012
Aceptado el 08/12/2012