

## Perfil de resistencia a insecticidas en una cepa de *Aedes aegypti* (Linnaeus) de la región Caribe de Costa Rica

### Insecticidal resistance profiles of an *Aedes aegypti* (Linnaeus) strain from the Caribbean Region of Costa Rica

MSc. Ólger Calderón-Arguedas,<sup>I</sup> Dr.C. Adriana Troyo<sup>II</sup>

<sup>I</sup> Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica (UCR).

<sup>II</sup> Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET). Costa Rica.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** el dengue constituye la principal enfermedad de transmisión vectorial en Costa Rica. El control del vector *Aedes aegypti* consiste en la aplicación de piretrinas y temefós, por lo cual es importante monitorear la aparición de resistencia a estos insecticidas.

**Materiales y métodos:** se efectuaron bioensayos con larvas de *Ae. aegypti* procedentes del cantón de Guácimo en la Región Caribe de Costa Rica. Grupos de 20 larvas fueron expuestos por 24 horas a concentraciones de insecticidas que provocaran una mortalidad entre el 2 y el 100 %. Las pruebas fueron efectuadas por quintuplicado y se calculó la concentración letal 50 % (CL<sub>50</sub>). Como control susceptible se empleó la cepa Rockefeller. Un radio de resistencia 50 % (RR<sub>50</sub>) fue calculado para cada insecticida. En caso de resistencia se repitieron los ensayos exponiendo las larvas a butóxido de piperonilo (PB) y S, S, S, tributilfosforotritioato (DEF) para perfilar el mecanismo enzimático vinculado con dicha resistencia.

**Resultados:** no se observó resistencia a temefós y deltametrina, pero sí se encontró resistencia incipiente a la cipermetrina (CL<sub>50</sub> = 0,00845 mg/L, rango: 0,00664-0,01038, RR<sub>50</sub> = 6,07). El análisis con sinergistas determinó un radio de singergismo (RS) de 19,2 para el PB y de 0,9 para DEF.

**Discusión:** los resultados demuestran que existe un proceso de desarrollo de resistencia a la cipermetrina en los mosquitos *Ae. aegypti* en esta localidad, el cual está relacionada con la actividad citocromo P450 monooxigenasa. Esto alerta a las autoridades para sustituir dicho insecticida y así asegurar el adecuado control del vector sin la generación de resistencia.

**Palabras clave:** dengue, *Aedes aegypti*, arbovirus, enfermedades de transmisión vectorial, Costa Rica.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** dengue is the main vector-borne disease in Costa Rica. The control of the vector *Aedes aegypti* covers the application of pyrethrins and temephos. For this reason, it is important to monitor the development of resistance to these insecticides.

**Material and Methods:** bioassays were performed using *Ae. aegypti* larvae from the county of Guacimo in the Caribbean region of Costa Rica. Twenty-larvae groups were exposed to insecticidal concentrations for 24 hours, which would generate 2 to 100 % mortality. The tests were performed five times, and a 50 % lethal concentration (LC50) was calculated. The Rockefeller strain was used as susceptibility control. A 50 % resistance ratio (RR50) was calculated for each insecticide. When resistance occurred, tests were repeated by exposing the larvae to piperonyl butoxide (PB) and S, S, S, tributylphosphorotrithioate (DEF) in order to determine the enzymatic mechanism associated with this resistance.

**Results:** no resistance to temephos or deltamethrin was observed, but emerging resistance to cypermethrin was detected (LC50 = 0.00845 mg/L, range from 0.00664 to 0.01038, RR50 = 6.07). The synergistic analysis determined a synergism ratio (SR) of 19.2 for PB and 0.9 for DEF.

**Conclusions:** these results show that there is a process of developing resistance to cypermethrin in *Ae. aegypti* mosquitoes of this county, which is associated with cytochrome P450 monooxygenase activity. This alerts authorities to the need of replacing this insecticide and ensure the appropriate vector control without generating resistance.

**Key words:** dengue, *Aedes aegypti*, arbovirus, vector borne diseases, Costa Rica.

---

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el dengue constituye la principal enfermedad de transmisión vectorial en términos de incidencia; se estima que existen alrededor de 2,5 billones de personas en riesgo de infección con un reporte de casos que va desde los 50 a 100 millones por año.<sup>1</sup> En Costa Rica el dengue hizo su aparición en 1993 en las ciudades de Puntarenas y Liberia de donde se extendió rápidamente a otras zonas geográficas del país.<sup>2</sup> Desde el año de su aparición hasta el final del 2013 se han contabilizado 313 245 casos de dengue y dengue grave, con 23 muertes. Las regiones más afectadas actualmente están localizadas en el centro y norte de la costa pacífica y en la costa Caribe.<sup>3</sup>

El principal vector, *Aedes aegypti*, fue erradicado del país al inicio de la década de los años sesentas, pero posteriormente se dieron infestaciones puntuales y recurrentes en las décadas de los setentas y de los ochentas.<sup>4</sup> Para 1993 se admitió, por parte del Ministerio de Salud, la distribución del vector por la mayor parte de la geografía nacional, hecho que presidió la ocurrencia de los primeros casos de la virosis al finalizar ese año.<sup>5</sup>

---

Dada la ausencia de una vacuna y de tratamiento antiviral, la principal alternativa de control del dengue se centra en el control de las poblaciones del vector. A pesar de que la participación comunitaria y el saneamiento ambiental son claves en lo que respecta a disminuir los sitios de oviposición y desarrollo larval de *Ae. aegypti*, dichos aspectos por sí solos no han sido suficientes para disminuir las poblaciones del vector a un nivel en que no se produzcan eventos epidémicos.<sup>6</sup> Por tal razón, el control químico sigue siendo una herramienta fundamental en las acciones de control vectorial contra el *Ae. aegypti*. En este sentido, a lo largo de la última década, en Costa Rica se han empleado piretrinas como la deltametrina y la cipermetrina en el control adulticida de *Ae. aegypti*, mientras que el organofosforado temefós ha sido el principal insecticida empleado en el control larval del vector.

Los estudios sobre resistencia a insecticidas que se han efectuado con cepas de *Ae. aegypti* de Costa Rica son escasos y fragmentarios. Estos han sido colaboraciones puntuales cuyo marco experimental ha sido desarrollado en otros países.<sup>4,7</sup> Por esta razón no se tiene una noción actualizada de la situación de resistencia que muestra dicho vector a los insecticidas que actualmente se utilizan para su control.

Dada la importancia del uso racional de los insecticidas, es importante evaluar las condiciones de susceptibilidad que exhiben los vectores con el fin de garantizar la efectividad de los tratamientos y evitar el riesgo de generar poblaciones resistentes. Por tal razón, el propósito del presente estudio fue evaluar las condiciones de resistencia a los principales insecticidas utilizados en el control vectorial así como los mecanismos de detoxificación que exhibe una cepa de *Ae. aegypti* procedente de una localidad endémica de la Región Caribe de Costa Rica.

## MÉTODOS

### *Cepas de Ae. aegypti*

Para las evaluaciones efectuadas se generó una colonia a partir de material larval colectado de 89 criaderos diferentes durante marzo del 2013 en el Cantón de Guácimo, provincia de Limón en la Región Caribe de Costa Rica (10° 12' 46" N; 83° 41' 12" O). Esta cepa se denominó Cepa Guácimo. Los bioensayos larvales se efectuaron utilizando larvas de tercera generación (F3).

Como cepa control se empleó la cepa Rockefeller, suministrada por el Instituto "Pedro Kourí" (La Habana, Cuba), la cual es una cepa establecida durante la década de los años 30s y es sensible a los insecticidas evaluados.<sup>4</sup> Las larvas fueron mantenidas en bandejas con agua libre de cloro, a una temperatura de  $27,8 \pm 0,1$  °C, una humedad relativa del 95 % y un fotoperiodo de 12 h. Los mosquitos adultos se confinaron a jaulas entomológicas de 30 x 30 x 30 cm con un suministro de sacarosa al 10 % y un recipiente con agua libre de cloro como sitio de oviposición. Las larvas obtenidas a partir de estos huevos constituyeron la siguiente generación larval.

### *Insecticidas y sinergistas*

Temefós: Fosforotritionato de o, o, o, o'-tetrametil-o, o'-tio-di-p-fenileno (IUPAC). Chem Service. West Chester Pennsylvania. Grado Analítico. 97,6 % de pureza.

Deltametrina: [(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de (S)-alfa-ciano-3-fenoxibenzilo (IUPAC). Chem Service West Chester Pennsylvania. Grado Analítico. 99,5 % de pureza.

Cipermetrina: (1RS)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropano carboxilato de (RS)-ciano-3-Fenoxibencilo (IUPAC). Grado técnico. Suministrado por Fmc Corporation. 95 % de pureza.

S,S,S, tributilfosforotritioato (DEF). Chem Service. West Chester Pennsylvania. Grado Analítico. 97,5 % de pureza.

Butóxido de Piperonilo (PB). Chem Service. West Chester Pennsylvania. Grado Analítico. 98,2 % de pureza.

### ***Bioensayos larvales***

Los bioensayos larvales se efectuaron de acuerdo a metodologías descritas previamente.<sup>8</sup> Brevemente, se trabajaron larvas de tercero y cuarto estadio provenientes de una colonia establecida con material colectado en la localidad de Guácimo. Se evaluaron por quintuplicado cinco concentraciones de los insecticidas, las cuales generaron entre un 2 y un 100 % de mortalidad en larvas de tercero y cuarto estadio. Para cada réplica se utilizaron 20 larvas. Los insecticidas fueron diluidos en alcohol absoluto y 1,0 mL de cada solución madre fue disuelto en 249,0 mL de agua libre de cloro para alcanzar la concentración de trabajo donde fueron colocadas las larvas. Los controles de viabilidad se montaron utilizando 1,0 mL de alcohol absoluto en lugar del insecticida. Los experimentos fueron efectuados en condiciones controladas a  $27,8 \pm 0,1$  °C, 95 % de humedad relativa y un fotoperíodo de 12 horas. La mortalidad se registró a las 24 horas, contemplando para este fin la cuantificación de larvas muertas o moribundas. Posteriormente se efectuó un análisis probit-log, con el que se calculó la concentración letal 50 % ( $CL_{50}$ ). El valor de significancia utilizado como factor de heterogeneidad fue de 0,05. Para la ejecución de dicho análisis se empleó el programa SPSS v.11.5 para Windows. La cepa control de susceptibilidad (Cepa Rockefeller) se procesó de la misma forma que la cepa generada con el material colectado en el campo. Para cada insecticida se calculó un radio de resistencia 50 % ( $RR_{50}$ ) relacionando el valor de la  $CL_{50}$  de la cepa Guácimo con la  $CL_{50}$  de la Cepa Rockefeller. En los casos en que el  $RR_{50}$  fue mayor a 5; condición que denota una condición de resistencia y con el fin de perfilar el mecanismo de detoxificación correspondiente, se realizó una réplica de los ensayos exponiendo las larvas a concentraciones subletales de los sinergistas por un período de 4 horas previo a su exposición a los insecticidas. Las concentraciones empleadas fueron 5 mg/L para el PB, el cual es un inhibidor de la actividad Citocromo P450 monooxigenasa, y 0,008 mg/L para el DEF, cuyo efecto es inhibitorio sobre actividades esterasa.<sup>9</sup> Posteriormente se calculó un radio de sinergismo (RS) relacionando para cada insecticida la  $CL_{50}$  obtenida en el ensayo inicial con la  $CL_{50}$  calculada en larvas expuestas al sinergista.

## **RESULTADOS**

Con respecto a la condición de resistencia al temefós, la  $CL_{50}$  que se determinó para la Cepa Guácimo fue 0,01196 mg/L, en tanto que para la cepa Rockefeller, ésta fue de 0,005 mg/L ([tabla 1](#)). El  $RR_{50}$  correspondiente fue de 2,30 ([tabla 1](#)). En relación con la deltametrina, la  $CL_{50}$  para la cepa Guácimo fue de 0,00224 mg/L, mientras

que para la cepa Rockefeller fue de 0,00156. El  $RR_{50}$  de la cepa Guácimo sobre la Rockefeller fue de 1,43 (tabla 1). En el caso de la cipermetrina, la cepa Guácimo mostró un valor de  $CL_{50}$  de 0,00845 mg/L, mientras que para la cepa Rockefeller la  $CL_{50}$  fue 0,00139 mg/L. En este caso el  $RR_{50}$  tuvo un valor de 6,07 (tabla 1). Dado que este valor es superior a 5,00, se procedió a realizar la evaluación del efecto de los sinergistas sobre la condición de resistencia de la Cepa Guácimo a la cipermetrina. En relación con este aspecto, la utilización de PB permitió calcular un RS de 19,2 cuando se dio la exposición previa de la Cepa Guácimo a este sinergista. La utilización de DEF permitió obtener un radio de sinergismo de 0,88 (tabla 2).

**Tabla 1.** Concentración letal 50 % ( $CL_{50}$ ) y Radio de Resistencia 50 % ( $RR_{50}$ ) para los insecticidas evaluados

Insecticida	Cepa Rockefeller			Cepa Guácimo			
	$CL_{50}$ *	Rango	Pendiente	$CL_{50}$	Rango	Pendiente	$RR_{50}$
Temefós	0,00520	0,00304-0,00714	2,92	0,01196	0,01056-0,01333	4,59	2,30
Deltametrina	0,00156	0,00123-0,00192	2,48	0,00224	0,00180-0,00274	2,52	1,43
Cipermetrina	0,00139	0,00084-0,00189	2,70	0,00845	0,00664-0,01038	2,54	6,07

\*Las concentraciones se expresan en mg/L

**Tabla 2.** Concentración letal 50 % ( $CL_{50}$ ) para la Cipermetrina y Radio de Sinergismo (RS) luego de tratamiento subletal con butóxido de piperonilo y S,S,S, tributilfosforotritioato

Sinergista	Variable			
	$CL_{50}$ *	Rango	Pendiente	RS
Butóxido de piperonilo	0,00044	0,00003 - 0,00128	1,57	19,2
S,S,S, tributilfosforotritioato	0,00958	0,00699 - 0,01286	3,65	0,88

Las concentraciones se expresan en mg/L

## DISCUSIÓN

De acuerdo a los criterios establecidos por Mazzari y Georghiou para interpretar la resistencia en términos de  $RR_{50}$ , se asume que  $RR_{50}$  inferiores a 5 representan sensibilidad a insecticidas, valores superiores a 5 pero inferiores a 10 suponen una condición de resistencia incipiente y valores superiores a 10 se relacionan con una resistencia manifiesta.<sup>10</sup>

Con respecto a la Cepa Guácimo, no se pudo evidenciar resistencia al temefós en dicha cepa. A nivel de Latinoamérica la resistencia al temefós por parte de *Ae. aegypti* ha sido observada en varios países incluyendo Brasil,<sup>11</sup> Cuba,<sup>12</sup> El Salvador,<sup>13</sup> Argentina,<sup>14</sup> Bolivia,<sup>15</sup> Venezuela,<sup>16</sup> Perú<sup>17</sup> y Colombia.<sup>18</sup> En relación con Costa Rica, un estudio publicado recientemente por Bisset y colaboradores también determinó la condición de resistencia al temefós en dos cepas.<sup>4</sup> Una de éstas procedió de la localidad de Cariari (Cantón Pococí, Provincia de Limón), en la región Caribe del país, la cual se encuentra en proximidad con el Cantón de Guácimo. En este caso el  $RR_{50}$  con respecto a la Cepa Rockefeller fue de 10,83. La otra cepa fue establecida con material entomológico colectado en la Ciudad de Jacó (Provincia de Puntarenas) en la costa pacífica. En este caso el  $RR_{50}$  fue de 19,16.<sup>4</sup> La evidencia de esta condición de resistencia, así como los niveles reportados llaman la atención considerando que el uso masivo de temefós en el control focal de *Ae. aegypti* en la Región Caribe se implementó de forma generalizada hasta finales del 2007, siendo el material entomológico utilizado en ese estudio colectado hasta el 2010 (Marín-Rodríguez, comunicación personal). En algunos de los países donde se ha detectado resistencia de *Ae. aegypti* al temefós, su empleo usualmente ha tenido lugar a lo

largo de décadas.<sup>19,20</sup> Además, algunos estudios han podido determinar que la constitución genética de las poblaciones de *Ae. aegypti* a lo largo de Región Caribe de Costa Rica es homogénea.<sup>21</sup> Por lo tanto, la diferencia observada en este estudio en comparación con el de Bisset y colaboradores<sup>4</sup> supone un proceso de selección de resistencia que podría estar dado por una deficiente aplicación del químico puntualmente en la localidad de Cariari. En este sentido, la aplicación de insecticidas en concentraciones subletales constituye una de las principales causas de selección de la resistencia a estos químicos. En un estudio de laboratorio se pudo observar que después de someter poblaciones de *Ae. aegypti* a concentraciones subletales de temefós fue posible evidenciar resistencia al insecticida en el 58,33 % de los individuos a partir de la novena generación, en tanto que un 95,83 % de los mismos era resistente al químico para la décimo novena generación.<sup>19</sup>

El hecho de haber encontrado susceptibilidad al temefós puede indicar que la forma en que se da la aplicación actual del insecticida es adecuada para el control larval de *Ae. aegypti* en localidades como Guácimo. De hecho en el mismo estudio de Bisset y colaboradores se pudo determinar que los formulados comerciales que actualmente se están aplicando son altamente efectivos. Dichos investigadores demostraron que mediante la aplicación de una concentración inicial del 1 ppm y con recambios diarios de agua se logró un 100 % de mortalidad larval hasta los días 11 y 12, lo que denota una adecuada residualidad del químico.<sup>4</sup> Por esta razón, se considera que el temefós sigue siendo una herramienta primordial y efectiva en el control de *Ae. aegypti* en la Región Caribe de Costa Rica.

En relación con la resistencia a piretroides, éste es un fenómeno que también ha sido observado en diferentes países de Latinoamérica.<sup>17,22</sup> Dado que actualmente estos insecticidas son parte de los productos más utilizados en el control adulticida de *Ae. aegypti* en la región, las poblaciones del vector están sometidas a presiones selectivas que dictan la aparición de resistencia a esta familia de químicos. Los únicos datos sobre resistencia a piretroides en Costa Rica son los que aportan Rodríguez y colaboradores<sup>17</sup> y Bisset y colaboradores.<sup>4</sup> Rodríguez y colaboradores observaron una resistencia incipiente a la ciflutrina,<sup>17</sup> en tanto que Bisset y colaboradores evidenciaron una alta resistencia a la deltametrina con RR<sub>50</sub> de 81,48 para la cepa de Cariari y 59,25 para la cepa de Jacó.<sup>4</sup> Sin embargo la resistencia observada en esas mismas cepas para la cipermetrina fue baja, con RR<sub>50</sub> de 4,76 para la cepa de Cariari y 4,53 para la cepa de Jacó.<sup>4</sup> En dicho estudio se observó que los mecanismos asociados a la condición de resistencia hacia la deltametrina estuvieron relacionados con la presencia de esterasas ya que la aplicación de DEF redujo el efecto de resistencia.<sup>4</sup> En contraste, en nuestro estudio se pudo observar que la resistencia que mostró *Ae. aegypti* a la cipermetrina estuvo relacionada con la detoxificación mediada por enzimas tipo citocromo P450 monooxigenasa, dada la reversión del estado de resistencia observada tras la exposición de las larvas a PB. La sobreexpresión de enzimas citocromo P450 monooxigenasa constituye, junto con las mutaciones en los genes que codifican para las proteínas que conforman los canales de sodio (mecanismo de resistencia *kdr* o "Knockdown" resistense), los mecanismos más importantes que presentan los mosquitos en relación con la resistencia a piretroides y organoclorados.<sup>23</sup> Por lo tanto, los resultados obtenidos en la presente investigación son coherentes con lo esperable para la resistencia a este tipo de compuestos químicos. Este hallazgo debería sugerir a las autoridades de salud la posibilidad de sustituir en futuro próximo la cipermetrina por otro insecticida, con el fin de no generar una resistencia manifiesta a este producto que constituye una de las alternativas más importantes en el control adulticida de *Ae. aegypti*.

A manera de conclusión, es pertinente subrayar que los procesos de control químico para *Ae. aegypti* deben estar vinculados a continuas evaluaciones acerca de la susceptibilidad que exhibe el vector a los insecticidas empleados. Estas evaluaciones deben efectuarse de forma previa a la aplicación de nuevos productos y durante su aplicación en las campañas de control. A su vez las cepas evaluadas deben ser basadas en colonias representativas de las áreas geográficas donde se van a aplicar dichos insecticidas. Cabe además mencionar que el control químico es uno de los eslabones del control integrado, por lo que éste debe de aplicarse de forma mancomunada con otras alternativas de control.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Dr. Juan Bisset Lazcano del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", La Habana, Cuba por haber suministrado la Cepa Rockefeller para los ensayos efectuados y por la retroalimentación de las ideas que se presentan en el presente documento. Al Dr. Rodrigo Marín Rodríguez, a Manuel Gutiérrez y Ezequías Maynés del Ministerio de Salud de Costa Rica por el apoyo logístico en el proceso de colecta de material entomológico. También desean extender su agradecimiento a Katherine Salazar Zeledón, Paola Sequeira, Paola Jiménez, Iván Elizondo, Iván Coronado y Adrián Avendaño del Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET) de la Universidad de Costa Rica (UCR) por su colaboración en el componente operativo de la investigación. Y a la Vicerrectoría de Investigación (UCR) por su apoyo financiero al proyecto VI-803-B2-106.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud [homepage on internet]. Dengue y dengue severo. 2012. Nota descriptiva 117. [Actualizado Sep 2013; Citado 20 Feb 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/es/>
2. WHO. World Health Organization. Outbreak of classic dengue, Costa Rica. Wkly Epidemiol Rec. 1994;69:85-6.
3. Situación del dengue 2013 [base de datos en internet]. Ministerio de Salud de Costa Rica [citado 29 ene 2014]. Disponible en <http://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/vigilancia-de-la-salud/inicio-vigilancia-analisis-situacion-salud-ms>.
4. Bisset JA, Marín R, Rodríguez MM, Severson DW, French L, Díaz M, et al. Insecticide resistance in two *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) strains from Costa Rica. Vector Control. J Med Entomol. 2013;50:352-61.
5. Troyo A, Porcelain SL, Calderón-Arguedas O, Chadee DD, Beier JC. Dengue in Costa Rica: the gap in local scientific research. Pan Am J Public Health. 2006;20:350-60.
6. Vargas F, Córdova O, Alvarado A. Determinación de la resistencia a insecticidas en *Ae. aegypti*, *Anopheles albimanus* y *Lutzomyia peruensis* procedentes de norte peruano. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2006;23:259-64.

7. Rodríguez-Coto MM, Bisset-Lazcano JA, Molina de Fernández D, Soca A. Malathion resistance in *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* after its use in *Aedes aegypti* control programs. *J Am Mosq Control Assoc.* 2000;16: 324-30.
8. Bisset J, Blanco S, Braga I, Coto H, Massuh H, Moncayo A, et. al. Protocolo para determinar la susceptibilidad o resistencia a insecticidas de mosquitos de la especie *Ae. aegypti*. Puerto Iguazú: Fundación Mundo Sano/Red Latinoamericana de Control de Vectores (RELCOV); 2005.
9. Bisset JA, Rodríguez MM, Cáceres L. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos en 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. *Rev Cubana Med Trop.* 2003;55:191-5.
10. Mazzari MB, Georghiou GP. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. *J Am Mosq Cont Assoc.* 1995;11: 315-22.
11. Lima JB, Da-Cunha MP, Da Silva RC, Galardo AK, Soares-Sda S, Braga IA, et al. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the State of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;68:329-33.
12. Bisset JA, Rodríguez MM, Fernández D, Pérez O. Status of resistance to insecticides and resistance mechanisms in larvae from Playa municipality collected during the intensive campaign against *Aedes aegypti* in Havana City, 2001–2002. *Rev Cubana Med Trop.* 2004;56:61-6.
13. Bisset-Lazcano JA, Rodríguez MM, San Martín JL, Romero JE, Montoya R. Assessing the insecticide resistance of an *Aedes aegypti* strain in El Salvador. *Rev Panam Salud Pública.* 2009;26:229-34.
14. Albrieu-Llinás GA, Seccacini E, Gardenal CN, Licastro S. Current resistance status to temephos in *Aedes aegypti* from different regions of Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010;105:113-6.
15. Biber PA, Dueñas JR, Ludueña-Almeida FL, Gardenal CN, Almirón WR. Laboratory evaluation of susceptibility of natural subpopulations of *Aedes aegypti* larvae to temephos. *J Am Mosq Control Assoc.* 2006;22:408-11.
16. Rodríguez MM, Bisset J, de Fernández DM, Lauzán L, Soca A. Detection of insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba and Venezuela. *J Med Entomol.* 2001;38:623-8.
17. Rodríguez MM, Bisset JA, Fernández D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. *J Am Mosq Control Assoc.* 2007;23:420-9.
18. Grisales N, Poupardin R, Gomez S, Fonseca-Gonzalez I, Ranson H, Lenhart A. Temephos Resistance in *Aedes aegypti* in Colombia compromises Dengue Vector Control. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7: e2438. doi: 10.1371/journal.pntd.0002438
19. Paeporn P, Komalamisra N, Deesin V, Rongsriyam Y, Eshita Y, Thongrungrat S. Temephos resistance in two forms of *Aedes aegypti* and its significance for resistance mechanism. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2003;34:786-92.

20. Braga IA, Pereira-Lima JB, da Silva Soares S, Valle D. *Aedes aegypti* resistance to temphos during 2001 in several municipalities in the States of Rio de Janeiro, Segipe, and Alagoas, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99:199-203.

21. Avendaño A. Caracterización de la estructura poblacional del mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Costa Rica, mediante el análisis de conformación genética de colecciones de diversas regiones del país. [tesis]. San José (CR): Universidad de Costa Rica; 2013.

22. Harris AF, Rajatileka S, Ranson H. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Grand Cayman. Am J Trop Med Hyg. 2010;2:277-84.

23. Liu N. Pyrethroid resistance in insects: genes, mechanisms, and regulation [capítulo en internet]. En: Perveen F. Insecticides. Advances in Integrated Pest Management. In Tech; 2102 [Citado 29 ene 2014]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/howtoreference/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/pyrethroid-resistance-in-insects-genes-mechanisms-and-regulation>.

Recibido: 26 de marzo de 2014.

Aprobado: 26 de septiembre de 2014.

MSc. Ólger Calderón-Arguedas. Oficina 208. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. Código Postal 2060 San José, Costa Rica. Correo electrónico: [olger.calderon@ucr.ac.cr](mailto:olger.calderon@ucr.ac.cr). Tel. (506):2511-8628