

CENTRO PROVINCIAL DE HIGIENE Y EPIDEMIOLOGÍA DE CAMAGÜEY
UNIDAD PROVINCIAL DE VIGILANCIA Y LUCHA ANTIVECTORIAL

Análisis comparativo de la resistencia a insecticidas en cepas de *Culex quinquefasciatus*, provenientes de Camagüey

M.Sc. Lorenzo Diéguez Fernández,¹ Lic. Juan A. Bisset,² Lic. María M. Rodríguez,³ Lic. Tania González,² Lic. Cristina Díaz² y Téc. Raiza Vázquez⁴

RESUMEN

Se estudiaron los niveles de resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides en 14 cepas de *Culex quinquefasciatus* provenientes de Camagüey, mediante bioensayos y pruebas bioquímicas en larvas con y sin sinergistas. La utilización de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) permitió identificar 8 patrones de esterasas destacándose: A3A6B6, B1B6 y B1A6B6 con las mayores frecuencias de aparición. Se apreció que después de 6 años de haber sido suspendida la aplicación de malatión, aún se mantiene la resistencia a este químico. También existió resistencia cruzada a propoxur y comienzan a desarrollarse mecanismos de detoxificación para deltametrina. Los mecanismos fisiológicos más importantes resultaron ser: esterasas elevadas en la resistencia a malatión, AchE modificada para propoxur y oxidasas de función múltiple para deltametrina. En relación con las frecuencias génicas, el mecanismo de la AchE modificada se encontró más extendido que el de las esterasas elevadas, en estas poblaciones de mosquitos de la región central de Cuba.

Descriptor DeCS: RESISTENCIA A INSECTICIDA; CULEX/efectos de drogas; INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS; INSECTICIDAS DE CARBAMATO; INSECTICIDAS BOTANICOS; CONTROL DE MOSQUITO/métodos; LARVA/efectos de drogas.

La resistencia de los vectores a los insecticidas, se ha indicado que es uno de los más importantes factores que contribuye a la ineficacia de los programas de control que se instauran, por ello, su proliferación exponencial es un elemento indispensable a considerar en éstos.¹

Este fenómeno que se ha extendido de forma dramática, es el resultado de la lucha incesante que se ha operado en el nivel mundial contra los transmisores de la malaria, así como en las intensas campañas dirigidas a erradicar a los vectores de dengue.

El uso de piretroides en sustitución de otros químicos de probada ineficacia ha generado también una intensa presión de selección, por lo que debemos esperar obviamente la aparición de resistencia.

En Cuba, *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823), ha experimentado un notable incremento de sus poblaciones, debido en parte, a la aparición de la resistencia en dicha especie por el uso continuado de malatión durante la campaña anti-*Aedes aegypti* hasta 1986,²⁻⁴ además de los numerosos rociados químicos realizados en zonas litorales de importancia turística (Diéguez L. Detección de la resistencia en poblaciones de *Culex (C) quinquefasciatus* [Say, 1923], provenientes de Camagüey [Tesis para optar por el título de Master en Entomología Médica y Control de Vectores]. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", 1993).

Con el presente trabajo se pretende monitorear el estado de la resistencia a los insecticidas organo-

¹ Master en Entomología Médica y Control de Vectores. Centro Provincial de Higiene y Epidemiología (CPHE) de Camagüey. Unidad Provincial de Vigilancia y Lucha Antivectorial (UPVLA).

² Licenciado en Biología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK).

³ Licenciada en Bioquímica. IPK.

⁴ Técnica en Higiene. CPHE de Camagüey. UPVLA.

fosforados, carbamatos y piretroides en varias cepas de Camagüey, así como determinar los principales mecanismos fisiológicos involucrados en dicho fenómeno, con la finalidad de ayudar en el diseño de los programas de control de vectores y la elaboración de una correcta estrategia en el manejo de la aparición de la resistencia a los químicos en uso.

MÉTODOS

PROCEDENCIA DE LAS CEPAS DE *CULEX QUINQUEFASCIATUS* ESTUDIADAS

Se estudiaron 14 cepas que fueron colectadas directamente en el campo y mantenidas en el laboratorio por varias generaciones, las cuales procedían de las siguientes localidades: Céspedes, Esmeralda, Sierra de Cubitas, Minas, Senado, Nuevitas, Sta. Lucía, Guáimaro, Sibanicú, Florida, Vertientes, Jimaguayú, Najasa y Sta. Cruz del Sur.

Todas las determinaciones se realizaron en larvas de tercer estadio tardío o cuarto temprano. Se utilizó una cepa susceptible de referencia la conocida como BLEUET, procedente de la Universidad de Montpellier, Francia, y para las corridas electroforéticas la nombrada MRES que contiene sólo la esterasa B1.

BIOENSAYOS

Se utilizaron los siguientes insecticidas:

- Organofosforados: malatión, clorpirifos y metilpirimifos.
- Carbamatos: propoxur.
- Piretroides: lambdacialotrina, cipermetrina y deltametrina.
- Sinergistas: S.S.S.tributil fosfotriado (DEF), inhibidor de las esterasas; y piperonil butóxido (PB), inhibidor de la multifunción oxidasa (MFO).

Los bioensayos se realizaron con 5 réplicas por cada concentración de insecticida con su correspondiente testigo, cada una con 20 larvas.

Las pruebas se ejecutaron en vasos plásticos que contenían 99 mL de agua de clorinada, a los que se le añadió 1 mL de las diferentes concentraciones del plaguicida diluido en acetona, para alcanzar mortalidades que fluctuaron entre 2 y 98 %, excepto en los controles donde el mililitro adicionado fue de acetona.

La acción sinérgica se estudió cuando se seleccionaron 4 poblaciones de mosquitos, 3 de ellas presentaron la mayor resistencia a los químicos ensayados, mientras que en la cuarta ésta resultó ser menor. Las larvas de cuarto estadio fueron expuestas a concentraciones

subletales de DEF (0,4 ppm) y de PB (0,8 ppm) durante 4 h, adicionándosele a continuación 1 mL de la solución del insecticida a diferentes concentraciones, calculándose una nueva CL_{50} . Con este resultado y dividiéndola entre la CL_{50} anteriormente calculada se obtuvo el factor de sinergismo (FS).

DETERMINACIÓN DE LA CL_{50} Y CL_{90}

En todos los casos la lectura de las mortalidades se realizó a las 24 h, con cuyos resultados se determinaron la CL_{50} y CL_{90} mediante el programa computadorizado Probit-log.⁵

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Las larvas se homogeneizaron de forma individual en 200 μ L de *buffer* fosfato (0,02 M, pH = 7,5) a 4 °C de temperatura. Se determinó la actividad de la enzima AchE normal e inhibida con propoxur.⁶ La actividad de las esterasas se determinó individualmente según el método descrito por Peiris y Hemingway.⁷

La frecuencia de los genes de la resistencia (FG) para la AchE modificada y las esterasas elevadas se determinó según la fórmula del equilibrio de Hardy-Weinberg:

$$FG = 1 - \sqrt{SS/T}$$

donde: SS = total de individuos susceptibles y T = total de individuos ensayados.

ESTUDIOS ELECTROFORÉTICOS

Se realizaron en gel de poliacrilamida (PAGE) para la identificación de las esterasas, mediante las soluciones siguientes:

- *Buffer* del gel 0,1 M tris borato/EDTA pH = 8,6: tris (0,1 M), EDTA (0,0025 M) y ácido bórico (0,04 M).
- Para el gel de corrida se prepararon 3 soluciones:
 - Solución A: 2,25 g de metil bis acrilamida + 75 g de acrilamida en 500 mL de agua destilada. Esta solución antes de usarse se filtró en papel de filtro Whatman No. 1.
 - Solución B: 25 g de sacarosa en 250 mL de *buffer* del gel.
 - Solución C: 0,16 % de sulfato de amonio en agua destilada. Se preparó inmediatamente antes de usarse.

Todas estas soluciones se mezclaron y se adicionó agua destilada en proporción 1:1:1:1. Se usó N, N, N', N'

tetrametilen diamino (TEMED) como catalizador, en una proporción de 0,75 μ L/mL de solución. Previo a la corrida electroforética se determinó la actividad enzimática de las esterasas y se seleccionaron las muestras con mayor actividad, se aplicaron 10 μ L de cada una de ellas + 10 μ L del marcador xilen-cianol (0,5 % diluido en sacarosa 5 %). Esta corrida se realizó por espacio de 1h a 200 V.

Para teñir el gel se sumergió en 50 mL de *buffer* fosfato el cual contenía 4 mL de cada uno de los sustratos específicos de las esterasas (1-naftil acetato y de 2-naftil acetato) y se le añadieron 0,5 g del colorante fast-blue. Después se enjuagó con agua de clorinada y se sumergió en ácido acético al 10 %, con el objeto de fijar la coloración de las bandas. Para su identificación se corrió en cada gel una muestra de la cepa MRES. El resto de las enzimas fueron identificadas por sus valores de Rf.⁸

RESULTADOS

Las tablas 1, 2 y 3 exponen las CL₅₀ y CL₉₀ para 3 insecticidas organofosforados, 1 carbamato y 3 piretroides,

respectivamente, en larvas de *Culex quinque-fasciatus* (Say, 1823), provenientes de las 14 localidades estudiadas.

Al comparar las CL₅₀ de cada cepa con la de la susceptible de referencia se obtuvieron los FR₅₀, que son mostrados en las tablas 4 y 5. En la tabla 4 se aprecia que persiste aún la resistencia a malatión luego de haber sido suspendida su aplicación en Camagüey por más de 6 años, Esmeralda se destaca con uno de los FR₅₀ más elevados y con la mayor homogeneidad en la resistencia a este químico, lo que se manifiesta en el elevado valor de la pendiente (b = 4,3) (tabla 1). Ante clorpirifos, los FR₅₀ son menores excepto en Sta. Lucía, se reporta vigilancia estrecha en 5 municipios. Mientras que ante metil-pirimifos los valores de FR₅₀ son mucho más bajos, lo que nos hace pensar que aún no existe resistencia cruzada a este químico. Sin embargo, para el carbamato propoxur existe vigilancia estrecha en 6 municipios lo que sugiere que el empleo de insecticidas organofosforados ha seleccionado un mecanismo de resistencia cruzada en estas poblaciones a dicho tóxico (tabla 4).

TABLA 1. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀), expresadas en mg/L para 3 insecticidas organofosforados, en larvas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Camagüey

Localidades	Malatión			Clorpirifos			Metil-pirimifos		
	CL ₅₀ (DE)	CL ₉₀	b	CL ₅₀ (DE)	CL ₉₀	b	CL ₅₀ (DE)	CL ₉₀	b
Céspedes	0,1 (0,05)	1,7	1,2	0,001 (0,0002)	0,003	2,7	0,008 (0,003)	0,04	1,8
Esmeralda	1,4 (0,3)	2,8	4,3	0,0005 (0,0002)	0,002	2,02	0,02 (0,007)	0,07	2,6
Sierra de Cubitas	0,1 (0,03)	0,5	2,09	0,0002 (0,00006)	0,0009	2,1	0,003 (0,001)	0,02	1,4
Minas	0,6 (0,2)	5,2	1,4	0,0003 (0,00008)	0,001	2,2	0,02 (0,007)	0,07	2,4
Senado	0,3 (0,06)	1,8	1,5	0,001 (0,0004)	0,007	1,7	0,01 (0,005)	0,08	1,5
Nuevitas	1,1 (0,4)	3,8	2,4	0,0003 (0,0001)	0,004	1,2	0,02 (0,006)	0,06	2,4
Sta. Lucía	0,6 (0,09)	1,3	3,6 (0,005 (0,004)	0,04	1,5	0,1 (0,04)	0,5	1,9
Güáimaro	1,1 (0,4)	17,8	1,07	0,0007 (0,0003)	0,006	1,5	0,002 (0,0009)	0,02	1,3
Sibanicú	1,1 (0,3)	3,3	2,7	0,001 (0,0003)	0,005	2,5	0,03 (0,01)	0,1	2,3
Florida	1,4 (0,9)	25,5	1,02	0,0003 (0,0001)	0,004	1,2	0,02 (0,005)	0,07	2,4
Vertientes	0,3 (0,1)	18,8	0,7	0,0002 (0,0004)	0,003	1,1	0,02 (0,007)	0,08	2,2
Jimaguayú	0,8 (0,2)	4,6	1,7	0,0006 (0,0002)	0,009	1,1	0,02 (0,004)	0,09	1,7
Najasa	0,001 (0,0002)	0,004	2,7	0,0009 (0,0002)	0,003	2,2	0,001 (0,0008)	0,02	1,01
Sta. Cruz del Sur	0,01 (0,003)	0,03	3,4	0,0001 (0,00004)	0,0005	1,7	0,01 (0,006)	0,08	1,7
BLEUET	0,08	0,13	9,1	0,0005	0,002	6,7	0,11	0,18	8,6

DE: Desviación estándar. b: Valor de la pendiente. BLEUET: Cepa susceptible de referencia.

TABLA 2. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀), expresadas en µg/L para un insecticida carbamato, en larvas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Camagüey

Localidades	CL ₅₀ (DE)	Propoxur CL ₉₀	b
Céspedes	0,2 (0,05)	0,5	2,5
Esmeralda	2,2 (0,5)	8	2,3
Sierra de Cubitas	0,2 (0,06)	1,7	1,3
Minas	0,07 (0,02)	2,6	2,3
Senado	2,6 (1,3)	45,6	1,03
Nuevitas	2,06 (0,9)	51	0,9
Sta. Lucía	0,06 (0,07)	2,3	0,8
Güáimaro	1,06 (0,6)	13,2	1,2
Sibanicú	2,2 (0,6)	13,7	1,6
Florida	0,4 (0,2)	6,2	1,04
Vertientes	0,4 (0,3)	3,9	1,3
Jimaguayú	1,4 (0,5)	13,5	1,3
Nasaja	0,1 (0,1)	9	0,7
Sta. Cruz del Sur	0,08 (0,02)	0,3	2,4
BLEUET	0,37	0,46	9,6

DE: Desviación estándar. b: Valor de la pendiente. BLEUET: Cepa susceptible de referencia.

Respecto a los piretroides se evidencia que aún no existe resistencia a cipermetrina y lambdacialotrina, no así a deltametrina con el cual hay una pérdida de la susceptibilidad en el 86 % de las cepas analizadas, lo que indica el desarrollo de un mecanismo de detoxificación hacia este químico (tabla 5). La frecuencia de los genes de la AchE modificada es mayor que la de las esterasas elevadas en el 71 % de las cepas estudiadas (tabla 6). Ante el sinergista DEF la cepa Sibanicú frente a malatión redujo la resistencia 100 veces, mientras que los FS en el resto de las cepas son moderados. Ante el propoxur y clorpirifos no se observa una marcada acción sinérgica del DEF. Respecto a deltametrina las cepas más sinergizadas fueron Nuevitas (10,52 x) y Esmeralda (10,34x) (tabla 7).

Para el químico clorpirifos los bajos valores de sinergismo ante DEF y PB nos hacen pensar que un tercer mecanismo pudiera interactuar en la resistencia, aunque se hace necesario valorar que dichas poblaciones no tienen una elevada homogeneidad.

El PB realizó acción sinérgica contra deltametrina, la más elevada se encontró en Esmeralda (100x) lo que señala que las MFO desempeñan una función importante en la detoxificación de este insecticida. También hay sinergismo con DEF, pero sus valores son en este caso menores (tabla 7).

El análisis de los diferentes zimogramas revelaron un gran polimorfismo en las enzimas esterasas en las diferentes poblaciones estudiadas, se detectaron 8 patrones isoenzimáticos: A2A3A6B6, B6, A2B1B6, A2B1A6B6, B1, A3A6B6, B1B6 y B1A6B6, con una mayor frecuencia de aparición de los 3 últimos en un 8,7; 18,7 y 51,2 %, respectivamente.

DISCUSIÓN

Los niveles de resistencia reportados en el presente estudio coinciden con anteriores observaciones realizadas en Cuba por Bisset y otros,³ donde el incremento de la resistencia a malatión y propoxur fue mucho mayor que a metil-pirimifos. En *Anopheles sacharovi* de Turquía, también se apreció que los mecanismos de resistencia seleccionados permitían la detoxificación del malatión, pero no del metil-pirimifos.⁹

En las cepas camagüeyanas la resistencia al malatión es mayor en comparación con propoxur, sin embargo, la elevada actividad de la AchE que se obtuvo, hace pensar que presumiblemente han comenzado a eliminarse las ventajas adaptativas de los genes que permitieron la resistencia al primer insecticida en las poblaciones estudiadas.¹⁰

La resistencia incipiente a ambos insecticidas en 5 localidades, confirma la existencia de resistencia cruzada a carbamatos, derivada de los mecanismos seleccionados para organofosforados, lo cual coincide con anteriores reportes.^{3,11,12}

Nuestros resultados además demuestran la función relevante de las esterasas en la resistencia a organofosforados, excepto clorpirifos y metil-pirimifos, fenómeno el cual está bien documentado en la literatura internacional.¹³⁻¹⁷

Del análisis de la frecuencia de los genes para la resistencia podemos plantear, que se ha seleccionado una combinación de mecanismos de detoxificación por enzimas esterasas elevadas y AchE modificada, donde al parecer, la AchE alterada confiere un mayor valor adaptativo bajo estas condiciones, reemplazando al primero. Ello fue observado por Villani y Hemingway¹³ y Bonning y otros¹¹ en cepas italianas, donde apreciaron una declinación en la detoxificación por esterasas en comparación con la AchE modificada. En otros trabajos la actividad de la AchE se ha correlacionado con elevados

TABLA 3. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₀), expresadas en mg/L para 3 insecticidas piretroides en larvas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Camagüey

Localidades	Lambdacialotrina			Cipermetrina			Deltametrina		
	CL ₅₀ (DE)	CL ₉₀	b	CL ₅₀ (DE)	CL ₉₀	b	CL ₅ (DE)	CL ₉₀	b
Céspedes	0,0002 (0,00003)	0,0005	2,4	0,00004 (0,000004)	0,00005	1,2	0,003 (0,001)	0,01	2,2
Esmeralda	0,0001 (0,00004)	0,0007	1,8	0,00003 (0,000008)	0,0002	1,6	0,003 (0,001)	0,02	1,3
Sierra de Cubitas	0,00003 (0,00001)	0,0002	1,8	0,000004 (0,000006)	0,0002	0,8	0,001 (0,0003)	0,006	1,6
Minas	0,00009 (0,00003)	0,0009	1,3	0,000004 (0,00002)	0,0001	0,8	0,001 (0,0003)	0,004	2,1
Senado	0,0002 (0,00007)	0,0009	1,6	0,00007 (0,00002)	0,0004	1,8	0,001 (0,0003)	0,006	1,9
Nuevitas	0,0004 (0,006)	0,003	0,7	0,0003 (0,00005)	0,0007	3,06	0,002 (0,0009)	0,002	1,1
Sta. Lucía	0,00007 (0,00006)	0,0001	17,8	0,0005 (0,0004)	0,01	0,9	0,0009 (0,001)	0,04	0,8
Güáimaro	0,0002 (0,00005)	0,002	1,3	0,002 (0,0003)	0,004	3,3	0,001 (0,0003)	0,01	1,2
Sibanicú	0,0004 (0,0005)	0,007	1,05	0,0002 (0,00004)	0,0008	1,8	0,001 (0,0002)	0,003	3,7
Florida	0,0001 (0,00002)	0,0004	2,2	0,00007 (0,00002)	0,0002	2,5	0,002 (0,0005)	0,01	1,7
Vertientes	0,001 (0,003)	0,005	2,06	0,000008 (0,000005)	0,00009	1,2	0,0007 (0,0003)	0,008	1,2
Jimaguáiyú	0,0005 (0,0003)	0,03	0,8	0,00002 (0,000006)	0,0001	2,05	0,0003 (0,0001)	0,004	1,3
Nasaja	0,0004 (0,0001)	0,002	1,7	0,00001 (0,000004)	0,00004	2,7	0,0004 (0,0001)	0,002	2
Sta. Cruz del Sur	0,00002 (0,00001)	0,00006	2,3	0,0007 (0,0001)	0,002	3,03	0,001 (0,0004)	0,008	1,4
BLEUET	0,0003	0,0005	6,5	0,002	0,004	7,2	0,0003	0,0004	6,4

DE: Desviación estándar. b: Valor de la pendiente. BLEUET: Cepa susceptible de referencia.

TABLA 4. Factores de resistencia (FR₅₀) para 3 insecticidas organofosforados y 1 carbamato (propoxur), en larvas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Camagüey

Localidades	Malatión	Clorpirifos	Metil-pirimifos	Propoxur
	FR ₅₀	FR ₅₀	FR ₅₀	FR ₅₀
Céspedes	1,25	2	0,07	0,74
Esmeralda	17,5	1	0,18	8,14
Sierra de Cubitas	1,25	0,4	0,02	0,74
Minas	7,5	0,6	0,18	0,25
Senado	3,75	2	0,09	9,62
Nuevitas	13,75	0,	0,18	7,62
Sta. Lucía	7,5	10	0,9	0,22
Güáimaro	13,75	1,4	0,02	3,92
Sibanicú	13,75	2	0,27	8,14
Florida	17,5	0,6	0,18	1,48
Vertientes	3,75	0,4	0,18	1,48
Jimaguáiyú	10	1,2	0,18	5,18
Nasaja	0,01	2	0,009	0,37
Sta. Cruz del Sur	0,1	0,2	0,09	0,29
BLEET	1	1	1	1

TABLA 5. Factores de resistencia (FR₅₀) para 3 insecticidas piretroides, en larvas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Camagüey

Localidades	Lambdacialotrina	Cipermetrina	Deltametrina
	FR ₅₀	FR ₅₀	FR ₅₀
Céspedes	0,7	0,02	10,3
Esmeralda	0,3	0,02	10
Sierra de Cubitas	0,1	0,002	3,3
Minas	0,3	0,002	3,3
Senado	0,7	0,04	3,3
Nuevitas	1,3	0,2	6,7
Sta. Lucía	1,2	0,3	3
Güáimaro	0,7	1	3,3
Sibanicú	1,3	0,1	3,3
Florida	0,3	0,04	6,7
Vertientes	3,3	0,004	2,3
Jimaguáiyú	1,7	0,01	1,1
Nasaja	1,3	0,005	1,33
Sta. Cruz del Sur	0,06	0,4	3,3
BLEUET	1	1	1

TABLA 6. Frecuencias génicas para esterasas elevadas y acetilcolinesterasa (AChE) modificada, en larvas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Camagüey

Localidades	Esterasas (*)		AChE	
Céspedes	0,36	(96)	0,54	(96)
Esmeralda	0,83	(96)	0,58	(96)
Sierra de Cubitas	0,50	(96)	0,57	(96)
Minas	0,70	(96)	0,64	(96)
Senado	0,43	(96)	0,67	(96)
Nuevitas	0,79	(96)	0,34	(94)
Sta. Lucía	0,36	(96)	0,91	(95)
Güáimaro	0,33	(96)	0,65	(96)
Sibanicú	0,25	(96)	0,47	(96)
Florida	0,45	(96)	0,53	(96)
Vertientes	0,16	(96)	0,11	(96)
Jimagüayú	0,11	(96)	0,34	(96)
Nasaja	0,39	(95)	0,56	(96)
Sta. Cruz del Sur	0,34	(96)	0,44	(96)

* Total de individuos testados.

TABLA 7. Efecto sinérgico del DEF y PB, expresado como factor de sinergismo (FS) con 2 insecticidas organofosforados (malatión y clorpirifos), 1 carbamato (propoxur) y 1 piretroide (deltametrina), en larvas de *Culex quinquefasciatus* procedentes de Camagüey

Localidades	Malatión		Clorpirifos		Propoxur		Deltametrina	
	DEF	PB	DEF	PB	DEF	PB	DEF	PB
Nuevitas	5,13	3,92	-	-	5,88	8,58	19,52	2,24
Esmeralda	2,41	1,86	-	-	1,98	2,58	10,34	100
Sibanicú	100	47,8	1,85	1,56	0,93	7,2	0,17	15,7
Vertientes	0,47	9,37	-	-	-	-	8,43	18,4

niveles de resistencia al propoxur.^{2,11,18,19} Sin embargo, *Khayrandish* y *Wood* (inédito) no encontraron relación entre la resistencia al propoxur y el grado de insensibilidad de la AChE. Por ello, la intervención de la AChE y su efecto en la resistencia es al parecer muy variable,¹⁹ y puede incluso influir en la resistencia a organofosforados.^{20,21}

La resistencia a piretroides en poblaciones de *Culex*, junto a la de organoclorados, organo-fosforados y carbamatos, está bien establecida.^{3,22} Durante varios años nuestras poblaciones de mosquitos han sido tratadas fundamentalmente con rociados espaciales de estos insecticidas, ello pudiera tener implicaciones en el control de este mosquito en Cuba, pues si estos rociados se realizan de forma intensa se puede generar un espectro de resistencia que abarcará a dichos químicos. No obstante, nuestros resultados permiten inferir que la resistencia a piretroides en la actualidad no constituye un grave problema para el control de *Culex quinquefasciatus* de Camagüey, pero, deberá realizarse un uso cuidadoso de los insecticidas piretroides para prolongar la eficacia de dichos tratamientos.

Los valores de FS con PB para deltametrina, ponen de manifiesto la intervención de las MFO en la detoxificación de los piretroides, lo que ha sido señalado por diversos autores.^{10,23-25}

En conclusión, no existe resistencia a piretroides (exceptuando deltametrina) y elevada o moderada resistencia a organofosforados y carbamatos, respectivamente; los mecanismos bioquímicos más importantes involucrados en dichas resistencias son las esterasas elevadas para el malatión, AChE modificada para el propoxur y las MFO para deltametrina; la AChE modificada está más extendida en comparación con las esterasas.

SUMMARY

The organophosphate, carbamate and pyrethroid resistance levels in 14 strains of *Culex quinquefasciatus* from Camagüey were studied by bioassays and biochemical tests in larvae with or without synergists. The use of electrophoresis in polyacrylamide gel (PAGE) allowed to identify 8 patterns of esterases, among which A3A6B6, BiB6 and BIA6B6 were the most frequent. It was observed that 6 years after the suspension of malathion, there is still resistance to this product. There was also cross resistance to propoxur. Detoxification mechanisms for deltamethrin are being developed. The most important physiological mechanisms were: elevated esterases in the resistance to malathion, modified AChE for propoxur and oxidases of multiple function for deltamethrin. In relation to the genic frequencies, the modified AChE mechanisms was more extended than that of the elevated esterases in these populations of mosquitoes of the central region of Cuba

Subject headings: INSECTICIDE RESISTANCE; CULEX/drug effects; INSECTICIDES, ORGANOPHOSPHATE; INSECTICIDES CARBAMATE; INSECTICIDES, BOTANICAL; MOSQUITO CONTROL/methods; LARVA/drug effects.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Georghiou GP, Mellon R. Pesticide resistance in time and space. New York: Plenum Press, 1983; t:1-48.
- Bisset JA, Rodríguez MM, Díaz C, Ortiz E, Marquetti MC. The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Cuba. Bull Entomol Res 1990;80:160-8.
- Bisset JA, Rodríguez MM, Hemingway J, Díaz C, Small GP, Ortiz E. Malathion and pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from Cuba: efficacy of pirimiphos-metil in the presence of at least three resistance mechanisms. Med Vet Entomol 1991;5:223-8.
- Rodríguez MM, Ortiz E, Bisset JA, Hemingway J, Salcedo E. Changes in malathion and pyrethroid resistance after cypermethrin selection of *Culex quinquefasciatus* field populations of Cuba. Med Vet Entomol 1993;7:117-21.
- Raymond M. Présentation d' un programme d' analyse log-probit pour microordinateur. Cahiers ORSTOM Sér. Entomol Méd Parasitol 1985;23:117-21.
- Hemingway J, Smith C, Jayawardena KGI, Heath PRJ. Field and laboratory detection of the altered acetylcholinesterase resistance genes which confer organophosphate and carbamate resistance in mosquitoes (Diptera: Culicidae). Bull Entomol Res 1986;76:359-65.

7. Peiris HTR, Hemingway J. Mechanisms of insecticide resistance in a temephos selected *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) strain from Sri Lanka. *Bull Entomol Res* 1990;80:453.
8. Bonning BC, Hemingway J. Identification of reduced fitness and associated with an insecticide resistance gene in *Culex pipiens* by microtitre plate tests. *Med Vet Entomol* 1991;5:377-9.
9. Hemingway J, Small GJ, Moro A, Sayer BV, Kasap H. Insecticide resistance gene frequencies in *Anopheles sacharovi* populations of the Cukurova plain, Adana province, Turkey. *Med Vet Entomol* 1992;6:342-8.
10. Khayrandish A, Wood RJ. Organophosphorus insecticide resistance in a new strain of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Tanga, Tanzania. *Bull Entomol Res* 1993;83:67-74.
11. Bonning BC, Hemingway J, Rowi R, Majori G. Interaction of insecticide resistance genes in field populations of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from Italy in response to changing insecticide selection pressure. *Bull Entomol Res* 1991;81:5-10.
12. Ortíz E, Bisset JA, Rodríguez MM, Díaz C. Variación de la resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos y su relación con la actividad de las enzimas esterasas en *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae). *Rev Cubana Med Trop* 1991;43(3):171-4.
13. Villani F, Hemingway J. The detection and interaction of multiple organophosphorus and carbamate insecticide resistance genes in field populations of *Culex pipiens* from Italy. *Pest Biochem Physiol* 1978;27:218-28.
14. Curtis CF, Pasteur N. Organophosphate resistance in vector populations of the complex *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Bull Entomol Res* 1981;71:153-61.
15. Hemingway J. The biochemical nature of malathion resistance in *Anopheles stephensi* from Pakistan. *Pest Biochem Physiol* 1982;17:149-55.
16. Wirth MC, Marquine M, Georghiou GP, Pasteur N. Esterases A2 and B2 in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae): role in organophosphate resistance and linkage. *J Med Entomol* 1990;27:202-6.
17. Hemingway J, Callaghan A, Amin AM. Mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* from Saudi Arabia. *Med Vet Entomol* 1990;4:275-82.
18. Raymond M, Fournier D, Bridge JM, Cuany A, Berge J, Magnin M. Identification of resistance mechanisms in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from southern France: insensitive acetylcholinesterase and detoxifying oxidases. *J Econ Entomol* 1986;79:1452-8.
19. Khayrandish A, Wood RJ. A multiple basis for insecticide resistance in a strain of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Muheza Tanzania, studied as resistance declined. *Bull Entomol Res* 1993;83:75-86.
20. Tang ZH, Wood RJ, Cammarck SL. Acetylcholinesterase activity in organophosphorus and carbamate resistant and susceptible strain of the *Culex quinquefasciatus* complex. *Pest Biochem Physiol* 1990;37:192-9.
21. Raymond M, Gaven B, Pasteur N, Sinegre G. Etude de la résistance au chlorpyrifos a partir de quelques souches du moustique *Culex pipiens* L. du sud de la France. *Génét Sél Evol* 1985;17:73-88.
22. Brogdon W, Baber AM. Fenitrothion-Deltamethrin cross-resistance conferred by esterases in Guatemalan *Anopheles albimanus*. *Pest Biochem Physiol* 1990;37:130-9.
23. Priester TM, Georghiou GP. Inheritance of resistance to permethrin in *Culex pipiens quinquefasciatus*. *J Econ Entomol* 1989;72:124-7.
24. _____. Penetration of permethrin and knockdown in larvae of pyrethroid-resistant and susceptible strains of southern house mosquito. *J Econ Entomol* 1980;73:165-7.
25. Magnin M, Marboutin E, Pasteur N. Insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) in West Africa. *J Med Entomol* 1988;25:99-104.

Recibido: 24 de abril de 1998. Aprobado: 15 de julio de 1998.
 M.Sc. *Lorenzo Diéguez Fernández*. Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de Camagüey. Unidad Provincial de Vigilancia y Lucha Antivectorial. Apartado 5421, Camagüey 3, Cuba. CP: 70300.