

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Resistencia a insecticidas en cepas de terreno de la especie *Blattella germanica* procedentes de Santiago de Cuba

Lic. Cristina Díaz,¹ Lic. Mirtha Pérez,² Lic. María Magdalena Rodríguez,¹ Lic. Eric Calvo,³ Dr. Juan A. Bisset⁴ y Téc. Mario Fresneda⁵

RESUMEN

Se realizó un estudio de los niveles de resistencia a 7 insecticidas: 3 compuestos organofosforados (malation, clorpirifos, pirimifos metil), 1 carbamato (propoxur) y 3 piretroides (cipermetrina, deltametrina y lambdacialotrina) en 3 cepas de *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) colectadas en el terreno procedentes de la ciudad de Santiago de Cuba. En estas cepas se detectaron altos niveles de resistencia a los insecticidas: malation, cipermetrina, deltametrina y lambdacialotrina; y bajo nivel de resistencia a pirimifosmetil; así como, susceptibilidad a los insecticidas clorpirifos y propoxur en todas las cepas. Los niveles de resistencia a los insecticidas organofosforados malation y pirimifos-metil, así como a los compuestos piretroides probados (cipermetrina, deltametrina y lambdacialotrina) podrían estar relacionados con la producción incrementada de enzimas esterases como mecanismo de resistencia. El valor de la frecuencia de genes resistentes para la enzima acetilcolinesterasa fue muy bajo, por lo que la acetilcolinesterasa modificada no está involucrada en la resistencia a los insecticidas probados en las cepas orientales estudiadas.

Descriptores DeCs: RESISTENCIA A INSECTICIDA; ORTOPTEROS; INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS; INSECTICIDAS DE CARBAMATO; PIRETRINAS.

Blattella germanica (Linnaeus, 1767) (Diptoptera: Blatellidae), es la especie de cucaracha de mayor contacto con el hombre, prolifera rápidamente y es una de las plagas urbanas más importantes en el mundo. Además de las molestias que ocasiona, afecta la economía y se considera de gran importancia médica pues transmite innumerables organismos patógenos como: virus, hongos, helmintos y bacterias; esta especie también es responsable de serias enfermedades alérgicas como el asma bronquial y la rinitis alérgica.¹⁻⁵

Ha sido muy difícil llevar a cabo el control de esta especie porque es omnívora y necesita de poca cantidad de alimentos para sostener grandes poblaciones. Se han utilizado insecticidas de diferentes grupos para su control, a los que han desarrollado resistencia. En la actualidad este

fenómeno se ha convertido en un problema fundamental que contribuye al fracaso de las operaciones de control en muchos países.⁶

Existe un amplio número de investigaciones sobre resistencia a insecticidas en diversas zonas geográficas, pero en Cuba a pesar de utilizarse gran cantidad de insecticidas para el control de *Blattella germanica* se tiene muy poco conocimiento sobre la resistencia desarrollada por este insecto a los insecticidas en uso y posibles alternativos. En un estudio realizado con cepas de *Blattella germanica* colectadas en 2 municipios de Ciudad de La Habana se probaron insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides, los cuales revelaron resistencia a malation, deltametrina y cipermetrina,⁷ pero en general no se han realizado investigaciones profundas sobre

¹ Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

² Licenciada en Biología. Especialista en Laboratorio Sanitario.

³ Licenciado en Bioquímica. Aspirante a Investigador.

⁴ Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar.

⁵ Maestro Agrícola.

este aspecto. El propósito de este estudio fue conocer los niveles de resistencia y/o susceptibilidad a los insecticidas en cepas de terreno de la especie *Blattella germanica* procedentes de Santiago de Cuba, así como detectar los mecanismos responsables de ésta.

MÉTODOS

Para este trabajo se utilizaron 3 cepas de *Blattella germanica* (L) colectadas en el terreno en la ciudad de Santiago de Cuba (Distrito “Abel Santamaría”, Bayamo y Distrito “26 de Julio”). Las colectas se realizaron por medio de trampas según las normas de control de vectores; que consisten en frascos de cristal de boca ancha con un atrayente en su interior, en el borde superior interno una capa fina de vaselina y forrado exteriormente con papel oscuro. Las trampas fueron colocadas en sitios infestados de los locales seleccionados, y los muestreos se realizaron con una periodicidad semanal.

Las cucarachas colectadas fueron enviadas al Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, donde se mantuvieron en el insectario en recipientes de cría a una temperatura aproximada de 27 ± 2 °C y una humedad relativa de 77 ± 3 %; fueron alimentadas con pienso de ratón y agua *ad libitum*.

Las pruebas de resistencia y/o susceptibilidad se realizaron por el método de aplicación tópica en abdomen sobre machos adultos con las modificaciones que plantean Scott y otros.⁸ Para la determinación de los niveles de resistencia se emplearon 7 insecticidas: malation (*American Cyanamid*), clorpirifos (*Dow Chemical*), pirimifosmetil, propoxur (*Bayer*); cipermetrina y lambda-cialotrina (*Zéneca Salud Pública*), y deltametrina (*AgrEvo*) en grado técnico diluidos en acetona. Se aplicó 1 µL del insecticida por insecto y en los controles 1 µL de acetona. Se realizaron ensayos con 3 réplicas (10 machos por réplica) por dosis. La mortalidad fue registrada a las 24 h y estos datos se analizaron en el programa computarizado *probit-log*.⁹ Los valores de las dosis letales fueron comparados con los de una cepa susceptible de referencia.

Las pruebas bioquímicas se efectuaron para detectar enzimas esterasas elevadas y acetilcolinesterasa modificada mediante los métodos descritos por Peiris & Hemingway¹⁰ y Hemingway y otros,¹¹ respectivamente.

Para la preparación de la muestra se emplearon ninfas de primer estadio de cada cepa que fueron colocadas en placas de microtitulación. Las ninfas fueron maceradas en 50 µL de *buffer* fosfato (0,01 m, pH 7,5).

Para la detección de la actividad de la enzima esterasa se utilizaron 20 µL del homogenato, se adicionaron 200 µL del sustrato β naftil acetato (0,03 M), se incubó a temperatura ambiente durante 15 min y después se añadieron 40 µL de la solución reveladora (*fast blue* 0,03 g en 7 mL de lauril sulfato de sodio 5 % + 3 mL de agua destilada). La lectura de la densidad óptica (DO) se realizó a 570 nm en un lector de ELISA (*Labsystems EMS Reader MF*). Los individuos con valores de DO < 1,4 se consideraron que no poseían el mecanismo de esterasa sobreproducidos y por el contrario aquéllos con DO > 1,4 presentaban este mecanismo.

Para la determinación de la enzima acetilcolinesterasa (Ache) normal e inhibida se utilizaron 2 placas de microtitulación. En una placa se midió la actividad normal de la Ache (control) y en la otra la inhibición con propoxur. A cada placa se le adicionaron 40 µL de homogenato, a una de las placas se les añadieron 10 µL de propoxur (0,01 M) y se incubó durante 15 min. Se adicionaron a ambas placas 25 µL de acetiltiocolina iodada y 20 µL de ácido 5-5 ditiobis 2 dinitrobenzoico. Después de 20 min la absorbancia se leyó a 420 nm en un lector de ELISA.

La actividad de la acetilcolinesterasa como mecanismo de resistencia se determinó mediante la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{Actividad de la Ache inhibida (placa 2)}}{\text{Actividad de la Ache normal (placa 1)}} \times 100 = \text{Porcentaje de la actividad Ache en presencia del inhibidor.}$$

La frecuencia del gen R para las esterasas y la acetilcolinesterasa se determinó mediante la fórmula siguiente (se asumió que la población estaba en equilibrio Hardy-Weinberg):

$$\text{Frecuencia génica} = 1 - \sqrt{\frac{S}{T}}$$

S = susceptibles
T = total de individuos analizados

RESULTADOS

Los niveles de resistencia detectados en 3 poblaciones de *Blattella germanica* se presentan en la tabla 1 donde se muestran los valores de la concentración letal media (CL₅₀) para 3 insecticidas organofosforados (malation, clorpirifos y pirimifosmetil), así como el factor de resistencia (FR) para cada insecticida en las diferentes cepas.

Tabla 1. Toxicidad de 3 insecticidas organofosforados en cepas de *Blattella germanica* por el método de aplicación tópica en abdomen

Cepas	Insecticidas								
	Malation			Clorpirifos			Pirimifos-metil		
	DL ₅₀ (Rango)	FR ₅₀	P* (± DE)	DL ₅₀ (Rango)	FR ₅₀	P (± DE)	DL ₅₀ (Rango)	FR ₅₀	P (± DE)
Distrito "Abel Santamaría"	>10	>25		0,34 0,25- 0,45)	1,34	3,06 (0,5)	0,7 0,54 -0,9)	14,1	3,6 (0,98)
Bayamo	>10	>25		0,42 (0,29- 0,58)	1,62	2,18 (0,41)	1,24 (0,96-1,7)	24,8	2,94 (0,51)
Distrito "26 de Julio"	>10	>25		0,27 (0,19- 0,37)	1,03	2,41 (0,4)	1,12 0,86- 1,5)	22,4	2,79 (0,51)
Susceptible	0,4	-		0,26		-	0,05	-	

* No se calcularon los valores de pendiente porque no se pudo llegar a la DL₉₀.

DL₅₀: dosis letal media expresada en µg/cucaracha, FR₅₀: factor de resistencia, P: pendiente.

Los valores de los factores de resistencia obtenidos para malation en las cepas del distrito "Abel Santamaría", Bayamo y distrito "26 de Julio" fueron superiores a 25x, pues no fue posible estimar una toxicidad exacta para el malation, que produjera 50 % de mortalidad a la concentración máxima ensayada (10 µg/cucaracha) en las cepas de Santiago de Cuba.

Se observó un incremento del nivel de resistencia a pirimifos-metil en las cepas de Bayamo y el distrito "26 de Julio" con un factor de resistencia de 24,8 y 22,4x, respectivamente, resultó menos resistente la cepa del distrito "Abel Santamaría" (comparada con el resto de las cepas estudiadas) con un factor de resistencia 14,1x. En relación con el insecticida organofosforado clorpirifos el factor de resistencia osciló cerca de 1, esto indicó que las 3 cepas eran sensibles. Las poblaciones de *Blattella germanica* probadas resultaron susceptibles a propoxur con valores de factor de resistencia entre 1,84 y 3,9x (tabla 2).

Tabla 2. Toxicidad de un insecticida carbamato en cepas de *Blattella germanica* por aplicación tópica en abdomen

Cepas	Insecticida Propoxur		
	DL ₅₀ (Rango)	FR	P (± DE)
Distrito "Abel Santamaría"	0,39 (0,22- 0,6)	1,84	1,3 (0,23)
Bayamo	0,65 (0,4- 0,96)	3,1	1,6 (0,26)
Distrito "26 de Julio"	0,84 (0,59- 1,2)	3,98	1,86 (0,29)
Susceptible	0,21	-	

DL₅₀: dosis letal media expresada en µg/cucaracha, FR₅₀: factor de resistencia, P: pendiente.

En la tabla 3 se muestran los valores de la concentración letal media (CL₅₀) para 3 insecticidas piretroides (cipermetrina, deltametrina y lambdacialotrina) y los factores de resistencia (FR) para cada uno de ellos en las 3 poblaciones estudiadas.

Tabla 3. Toxicidad de 3 insecticidas piretroides en cepas de *Blattella germanica* por aplicación tópica en abdomen

Cepas	Insecticidas								
	Cipermetrina			Deltametrina			Lambdacialotrina		
	DL ₅₀ (Rango)	FR ₅₀	P* (± DE)	DL ₅₀ (Rango)	FR ₅₀	P (± DE)	DL ₅₀ (Rango)	FR ₅₀	P (± DE)
Distrito "Abel Santamaría"	>15	>306		>10	>250		19,2 (7,5- 24,9)	213	0,77 (0,2)
Bayamo	>15	>306		>10	>250		8,7 (4,43- 31,4)	97	0,91 (0,21)
Distrito "26 de Julio"	>15	>306		>10	>250		25,1 (10,2- 42,8)	79	0,96 (0,28)
Susceptible	0,049	-		0,04		-	0,09	-	

* No se calcularon los valores de pendiente porque no se pudo llegar a la DL₉₀.

DL₅₀: dosis letal media expresada en µg/cucaracha, FR₅₀: factor de resistencia, P: pendiente.

Se detectó resistencia a cipermetrina en todas las cepas del oriente del país: distrito “Abel Santamaría”, Bayamo y distrito “26 de Julio” con factores de resistencia obtenidos > 300 , pues no fue posible determinar la toxicidad del compuesto que produjera una mortalidad de 50 % a la máxima concentración probada (15 $\mu\text{g}/\text{cucaracha}$).

El factor de resistencia para la deltametrina fue superior de 250x en las cepas del distrito “Abel Santamaría”, Bayamo y el distrito “26 de Julio”; estos valores señalan que existe una probada resistencia a este insecticida, a pesar de no ser utilizado para el control de vectores en Cuba. El factor de resistencia para lambdacialotrina fue alto y osciló entre 79 y 213x, lo que indicó niveles de resistencia muy elevados a este insecticida.

En la tabla 4 se muestran las frecuencias de genes expresados como fenotipos resistentes para las enzimas acetilcolinesterasa (Ache) alterada y esterasas inespecíficas.

Tabla 4. Valores de frecuencia de genes para la acetilcolinesterasa (Ache) y para las esterasas en 3 cepas de *Blattella germanica* de Santiago de Cuba

Cepas	Ache	Esterasas
Distrito “Abel Santamaría”	0,04 (96)	0,73 (96)
Bayamo	0,02 (96)	0,99 (96)
Distrito “26 de Julio”	0 (96)	1 (96)

(): Número de individuos utilizados en el ensayo.

La frecuencia de genes para esterasas resultó alta en las 3 cepas, con valores de 0,73, 0,99 y 1 para las cepas del distrito “Abel Santamaría”, Bayamo y el distrito “26 de Julio”, respectivamente. Mientras, en el estudio no se encontró acetilcolinesterasa (Ache) modificada en la cepa del distrito “26 de Julio”, y sí una frecuencia muy reducida en las cepas de Bayamo y del distrito “Abel Santamaría”.

DISCUSIÓN

Quedó demostrado que la resistencia a malation en *Blattella germanica* prevalece, a pesar de su poco uso en la actualidad.¹² Siegfried y Scott,¹³ en una cepa de *Blattella germanica* probada con malation determinaron que el factor de resistencia fue 75 veces superior comparado con la cepa susceptible y fue estimada la $CL_{50} > 300$ incluso

después de largos períodos de tiempo fuera de presión de selección. Resultados similares fueron obtenidos en las 3 cepas orientales estudiadas, a pesar de que no se había aplicado malation desde hacía más de 10 años, cuando fue el insecticida más usado, desde 1981 hasta 1986, en la campaña de erradicación del mosquito *Aedes aegypti* en Cuba,¹⁴ lo que evidenció que es muy difícil revertir en el tiempo la resistencia a malation.

Entre los compuestos organofosforados, pirimifos-metil (Actellic) ha sido uno de los más utilizados en el control de insectos en Santiago de Cuba. Existen pocos reportes de resistencia a este insecticida en esta especie. En Cuba se conocen los estudios realizados por Díaz y otros,⁷ que coinciden con estos resultados, una cepa de *Blattella germanica* probada con este insecticida mostró mediano nivel de resistencia FR 13,2x.

En investigaciones previas sobre resistencia al insecticida carbamato propoxur, Díaz y otros⁷ en cepas de *Blattella germanica* de Ciudad de La Habana detectaron susceptibilidad a este compuesto con un factor de resistencia de 1,8 y 3,4x. Este insecticida no es utilizado en el control de vectores en Cuba y al parecer no presenta mecanismos de resistencia similares a los desarrollados por individuos de esta especie, frente a otros insecticidas usados para su control. En estudios recientes realizados en Cuba, propoxur resultó eficaz en el control de poblaciones de *Blattella germanica* altamente resistentes a insecticidas piretroides (datos no publicados).

El insecticida cipermetrina ha sido muy utilizado en el control de insectos, y con intensidad en el control de cucarachas en centros priorizados por salud pública y otros de la provincia en estudio. En los últimos 3 años se aplicaron en estos locales diferentes insecticidas, principalmente piretroides, y se mantuvieron las aplicaciones con cipermetrina por más de 6 meses, lo que provocó la selección de mecanismos de resistencia a este insecticida en la población.

Resultados similares se encontraron en estudios realizados por Díaz y otros⁷ en cepas de *Blattella germanica* de 2 municipios de Ciudad de La Habana, donde se observó resistencia a deltametrina y cipermetrina. Coinciden además con Scott y otros¹⁵ que detectaron resistencia cruzada a cipermetrina y deltametrina en cepas de esta

especie. La cipermetrina se considera como generador de resistencia a otros compuestos piretroides.¹⁶

Se conoce, por datos aportados por el Departamento Provincial de Control de Vectores de Santiago de Cuba, que el insecticida deltametrina no ha sido utilizado en el control de cucarachas; esto nos permite sugerir que, las cepas de *Blattella germanica* nunca antes expuestas a este insecticida, se afectaron por la resistencia desarrollada por estas cepas frente a cipermetrina, que fue el insecticida utilizado con preferencia durante el año en estudio.

En Cuba el insecticida lambdacialotrina ha sustituido a cipermetrina en el control de insectos como son las cucarachas, por lo que puede afectarse su efectividad por la resistencia que ya existe a cipermetrina. En los ensayos realizados por *Hemingway y Small*¹⁷ en 30 poblaciones de *Blattella germanica* resistentes a cipermetrina y a lambdacialotrina se obtuvieron variaciones del nivel de resistencia, las cepas resistentes a lambdacialotrina mostraron factores de resistencia a cipermetrina de 2 a 67 veces mayor que las cepas susceptibles, lo que corrobora la relación que existe entre los mecanismos de resistencia que brindan protección a este insecto frente a cipermetrina y lambdacialotrina.

En los resultados del presente trabajo se encontraron altos niveles de resistencia a cipermetrina, lambdacialotrina y deltametrina en las cepas estudiadas; esto sugiere que están actuando uno o varios mecanismos que generan resistencia cruzada o multirresistencia a este grupo de insecticidas, es necesario entonces realizar estudios más profundos para dilucidar esta interrogación.

Se ha demostrado que la destoxificación metabólica es significativamente alta en cepas de *Blattella germanica* muy resistentes a malation; en estudios realizados con pruebas por aplicación tópica, éstas indicaron que tanto la penetración del producto como su excreción ocurre de forma muy rápida;¹⁸ por lo que se puede sugerir que la resistencia a malation en las cepas estudiadas se debe principalmente a mecanismos de destoxificación metabólica y la excreción rápida del tóxico. Sin embargo, en ensayos realizados en 4 cepas de *Blattella germanica* de Malasia se

atribuyó la resistencia a malation a una acetilcolinesterasa modificada.¹⁹

De los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas realizadas, se puede concluir que la presencia de esterases elevadas en las cepas de la provincia Santiago de Cuba podría estar asociada con los altos niveles de resistencia a malation y a los compuestos piretroides (cipermetrina, deltametrina y lambdacialotrina) obtenidos en este trabajo, lo que coincide con los resultados obtenidos por *Hemingway* y otros,²⁰ que encontraron esterases inespecíficas incrementadas en 11 cepas resistentes a insecticidas piretroides. En relación con la resistencia a malation, *Prabhakaran y Kamble*²¹ reportaron como mecanismos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos, los efectos combinados de oxidación incrementada e hidrólisis enzimática.

En las investigaciones de los autores del presente trabajo las cepas fueron susceptibles al insecticida organofosforado clorpirifos. Algunos autores plantean que las esterases inespecíficas incrementadas son las responsables de la resistencia a este insecticida, *Scharf* y otros²² demostraron que la esterasa E2 fue la responsable de la resistencia a clorpirifos cuando se presionó una cepa de *Blattella germanica* con este insecticida; con los resultados del presente trabajo se demuestra que las esterases inespecíficas elevadas no afectan la sensibilidad a este tóxico en las 3 cepas estudiadas.

Se encontró también susceptibilidad al carbamato propoxur. Respecto a los mecanismos que se encuentran involucrados en la resistencia a propoxur se encuentran opiniones diversas. *Siegfried y Scott*²³ reportaron que la sensibilidad de la acetilcolinesterasa a inhibirse por los compuestos organofosforados y carbamatos, no es un factor determinante en los niveles de susceptibilidad en cucarachas. Según *Siegfried y Scott*,⁶ en muchos insectos y ácaros de importancia médica, veterinaria y agrícola la enzima Ache tiene una importante significación toxicológica porque es fácilmente inhibida por insecticidas organofosforados y carbamatos. En *Blattella germanica* el papel de la Ache en la resistencia a organofosforados y carbamatos no está esclarecido, de acuerdo con este planteamiento la resistencia a estos insecticidas en *Blattella germanica* no

aparece asociada con una acetilcolinesterasa modificada porque ésta no posee la plasticidad genética necesaria para que la modificación ocurra, o al menos es relativamente baja su frecuencia de aparición; por esta razón se sugieren los procesos metabólicos como los responsables de la resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos. Estos mismos autores²⁴ plantearon que la resistencia a este insecticida se debe principalmente a la disminución en el rango de penetración cuticular y el metabolismo incrementado. En estudios realizados sobre purificación y caracterización de enzimas esterases en cepas de *Blattella germanica* susceptibles y resistentes, se detectó que la resistencia a clorpirifos y propoxur es por causa del incremento en la producción de esterasa E6.²⁵ Sin embargo, *Hemingway* y otros²⁶ demostraron que la segregación de una acetilcolinesterasa alterada confiere un amplio espectro de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos, de igual forma en cepas colectadas en Malasia se encontró la acetilcolinesterasa insensible responsable de la resistencia a malation.²⁷ Los altos niveles de resistencia a piretroides detectados en las 3 cepas pueden relacionarse con la actividad incrementada de esterases o por la insensibilidad del nervio, mecanismo de resistencia tipo kdr que resulta de la presión de selección continuada con insecticidas; esto ocasiona la resistencia cruzada entre diferentes piretroides o la destoxicación metabólica combinada con la resistencia tipo kdr que puede conferir altos niveles de resistencia a piretroides.^{6,17}

Teniendo en cuenta los niveles de resistencia encontrados en las poblaciones de *Blattella germanica* es necesario desarrollar estrategias para el control de la resistencia con vistas a lograr un control efectivo de esta especie. Para este propósito se deben realizar pruebas de efectividad en el terreno que permitan evaluar la eficacia de los insecticidas, así como vigilar la aparición y el desarrollo de resistencia a éstos en el tiempo. En la selección del insecticida adecuado para el control de la cucaracha alemana es importante desarrollar investigaciones, con el objetivo de conocer los mecanismos involucrados en la resistencia a éstos en las cepas cubanas de la especie *Blattella germanica*; se debe tener en consideración que son los mecanismos de destoxicación metabólica

un factor importante en la resistencia a insecticidas en estos insectos plagas.

SUMMARY

A study was conducted on the level of resistance to seven insecticides, namely, 3 organophosphate compounds (malathion, chlorpirifos and pirimifos-metyl); one carbamate (propoxur) and 3 pyrethroids (cypermethrin, deltamethrin and lambda-cyhalothrin) of three field-collected strains of *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) from Santiago de Cuba. These strains showed high resistance levels to malathion, cypermethrin, deltamethrin and lambda-cyhalothrin and low resistance to pirimifos-metyl, and also they were susceptible to chlorpirifos and propoxur. The levels of resistance to tested organophosphate insecticides such as malathion and pirimifos-metyl and to pyrethroid compounds like cypermethrin, deltamethrin and lambda-cyhalothrin may be related to the increased production of esterases as a mechanism of resistance. The value of frequency of the resistant genes for enzyme acetylcholinesterase was very low, therefore, the modified acetylcholinesterase is not involved in resistance to insecticides tested in the studied strains from Santiago de Cuba.

Subject headings: INSECTICIDE RESISTANCE; ORTHOPTERA, INSECTICIDES, ORGANOPHOSPHATE; INSECTICIDES, CARBAMATE; PYRETHRINS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Smith DL, Baldwin LD, Amend AJ, Kordash TR. Biology potency and immunoblotting studies of extracts of three cockroaches species. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;75(4):317-23.
2. Fotedar RU, Banerjee U, Shrinivas. Vector potential of the German cockroach in dissemination of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Hosp Infect* 1993;23(1):55-9.
3. Musmand JJ, Honer WE, López M, Lehrer SB. Identification of important allergens in German cockroach extracts by sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis and western blot analysis. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95(1):877-85.
4. Jaen CR. Cockroach allergen and asthma. *N Engl J Med* 1997;337(11):791-2.
5. Sarpong SB, Karrison T. Skin test reactivity to indoor allergens as a marker of asthma severity in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;80(4):303-8.
6. Siegfried BD, Scott SC. Insecticide resistance mechanisms in the German cockroach, *Blattella germanica* (L). *American Chemical Society* 1992;218 29 (Symposium Series No. 505).
7. Díaz C, Bisset J, González T, Rodríguez MM. Resistencia a insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides en *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) de 2 municipios de Ciudad de La Habana, Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 1994;46(2):130-2.
8. Scott JG, Cochran DG, Siegfried BD. Insecticide toxicity, synergism and resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) *J Econ Entomol* 1990;83:1693-703.
9. Raymond M. Presentation d'un programme d'analyse log probit pour microordinateur *Cahiers Orstrom Ser Ent Med Parasitol* 1985;23:117-21.
10. Peiris HTR, Hemingway J. Mechanisms of insecticide resistance in a temephos selected *Culex quinquefasciatus*

- Say (Diptera: Culicidae) strain from Sri Lanka. Bull Entomol Res 1990;80:359-65.
11. Hemingway J, Smith C, Jayawardena KGI, Herath 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.
 12. Cochran DG. Monitoring for insecticide resistance in field-collected strains of the german cockroach (Diptera: Blattellidae). J Econ Entomol 1989;82(2):336-41.
 13. Siegfried BD, Scott SC. Biochemical characterization of hydrolytic and oxidative enzyme in insecticide resistant and susceptible strain of the German cockroach (Diptera: Blattellidae) J Econ Entomol 1990 a; 85(4):1092-8.
 14. Bisset JA, Marquetti MC. Comportamiento relativo de las densidades larvales de *Aedes aegypti*. Rev Cubana Med Trop 1985;37(2):176-80.
 15. Scott JG, Ramaswamy SB, Matsumura F, Tanaka K. Effect of method of application on resistance to pyrethroid insecticides in *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). J Econ Entomol 1986;79:571-5.
 16. Cochran DG. Extended selections for pyrethroid resistance in german cockroach (Diptera: Blattellidae) J Econ Entomol 1991;84(5):1412-6.
 17. Hemingway J, Small GI. Resistance mechanisms in cockroaches-the key to control strategies. Zéneca Public Health 1993 a;141-50.
 18. Bull DL, Wadleigh RW, Patterson RS. Pharmacodynamics of malathion and carbaryl in susceptible and multiresistant german cockroaches (Diptera: Blattellidae). J Econ Entomol 1989;82(6):1512-9.
 19. Lee HL, Tien WD, Omar B. Insecticide resistance status and mechanisms in malaysian *Blattella germanica* (Linnaeus). Southeast Asian J Trop Med Public Health 1997;28(1):212-7.
 20. Hemingway J, Dursbar JJ, Monro AG, Small GJ. Pyrethroid resistance in german cockroaches (Diptera: Blattellidae). Resistance levels and underlying mechanisms. J Econ Entomol 1993 b;86(6):1631-8.
 21. Prabhakaran SK, Kamble ST. Activity and electrophoretic characterization of esterases in insecticide-resistance and susceptible strain of german cockroach (Diptera: Blattellidae). J Econ Entomol 1993;86(4):1009-13.
 22. Scharf ME, Neal JJ, Bennett GW. Changes of insecticide resistance levels and detoxification enzymes following insecticide selection in the german cockroach, *Blattella germanica* (L.). Pestic Biochem Physiol 1998;59(2):51-4.
 23. Siegfried D, Scott JG, Roush RT, Zerchner BC. Biochemistry and genetics of chlorpyrifos resistance in the german cockroach. *Blattella germanica* (L.). Pestic Biochem Physiol 1990 b;38:110-21.
 24. Siegfried D, Scott JG. Mechanisms responsible for propoxur resistance in the german cockroach. Pestic Sci 1991;33:133-46.
 25. Prabhakaran SK, Kamble ST. Purification and characterization of an esterase isozyme from insecticide resistant and susceptible strains of german cockroach, *Blattella germanica* (L.). Insect Biochem Mol Biol 1995;25(4):519-24.
 26. Hemingway J, Small GJ, Monro AG. Possible mechanisms of organophosphate and carbamate insecticides resistance in german cockroach (Diptera: Blattellidae) from different geographical areas. J Econ Entomol 1993;86(6):1623-30.
 27. Lee HL, Tien WD, Omar B. Insecticides resistance status and mechanisms in malaysian *Blattella germanica* (Linnaeus). Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1997;28(1):212-7.

Recibido: 6 de diciembre de 1999. Aprobado: 27 de diciembre de 1999.

Lic. *Cristina Díaz*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf". Apartado 601, Marianao, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: ciipk@ipk.sld.cu