

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Determinación de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en cepas de *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae)

Lic. Cristina Díaz Pantoja,<sup>1</sup> Lic. Yudelmis Álvarez Gavilán,<sup>2</sup> Lic. Yaxsier de Armas Rodríguez<sup>3</sup> y Dr. Juan A. Bisset Lazcano<sup>4</sup>

### RESUMEN

Se evaluaron los niveles de resistencia en 3 cepas de *Blattella germanica* colectadas en diferentes lugares de Ciudad de la Habana, frente a 4 insecticidas. Las cepas fueron resistentes a los 2 piretroides evaluados (cipermetrina y lambdacialotrina) y al organofosforado malatión, mostrándose susceptibles ante el carbamato propoxur. Se determinaron los valores de  $\alpha$  y  $\beta$  esterasas, acetilcolinesterasa y glutatión S-transferasa, a ejemplares de las 3 cepas involucradas en el estudio. Los resultados del trabajo mostraron una elevada actividad de esterasas en todas las cepas, sobre todo de las  $\beta$  esterasas, en 2 de las 3 cepas estudiadas la enzima glutatión S-transferasa fue elevada y no se demostró que existan modificaciones en la acetilcolinesterasa en relación con la cepa de referencia. La relación entre los niveles de resistencia a insecticidas, los posibles mecanismos de resistencia presentes en cada cepa y los resultados de la actividad enzimática, fueron analizados.

**Palabras clave:** *Blattella germanica*, mecanismos, resistencia, insecticidas, micrométodos.

El número de especies de cucarachas se estima entre 3 500 a 4 000, pero menos de 1 % constituyen plagas importantes para la salud pública. Estos insectos pueden transferir de forma mecánica microorganismos existentes en su cuerpo o apéndices y ser reservorios naturales de microorganismos patógenos.<sup>1</sup> Entre ellos, *Blattella germanica* alcanza gran importancia debido fundamentalmente a su elevado potencial reproductivo y a la gran cantidad de plaguicidas utilizados contra ella. Durante más de un siglo se ha tratado de luchar contra estos insectos, pero su control se hace cada día más difícil a pesar de no escatimarse recursos para ello. Se han utilizado insecticidas de distintos grupos para su control, a los que han desarrollado resistencia en diferentes regiones geográficas.<sup>2-5</sup>

Estudios sobre resistencia a insecticidas en *Blattella germanica* han demostrado mecanismos de resistencia como penetración reducida, sitio de acción alterado, mecanismos de detoxificación, así como resistencia por conducta.<sup>6-8</sup> Tener pruebas que indiquen una alerta temprana sobre la aparición de la resistencia es de gran importancia para el control de esta plaga urbana.<sup>2</sup>

En Cuba, se adaptaron micrométodos bioquímicos para cuantificar enzimas que pueden conferir resistencia en *Blattella germanica* a los diferentes insecticidas.<sup>9</sup> Estos fueron aplicados para determinar la actividad de esterasas, acetilcolinesterasa (Ache) y glutatión S-transferasa (GST) en 3 cepas colectadas en el terreno; se les realizó además el estudio de niveles de resistencia

<sup>1</sup> Licenciada en Bioquímica. Investigadora Auxiliar. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

<sup>2</sup> Licenciada en Ciencias Biológicas. Escuela Latinoamericana y Caribeña de Medicina.

<sup>3</sup> Licenciado en Bioquímica. Aspirante a Investigador. IPK.

<sup>4</sup> Doctor en Ciencias Biológicas. Investigador Titular. IPK.

a 4 insecticidas (malatión, propoxur, cipermetrina y lambdacialotrina), así como la determinación de la frecuencia de las 3 enzimas involucradas en el estudio.

## MÉTODOS

### *Cepas*

CSMA: cepa susceptible de referencia mantenida fuera de presión de selección de insecticida por más de 20 años, donada por el doctor Jeffrey Scott de la Universidad de Cornell, EE.UU.

COMODORO: cepa colectada en 2004 en el hotel homónimo, multirresistente y utilizada en este estudio como cepa resistente de referencia.

HCG, HMO, CLAD: cepas colectadas en el terreno en 2005, en centros de salud que le dan su nombre: Calixto García (HCG) del municipio Plaza de la Revolución, Maternidad Obrera (HMO) del municipio Marianao y Clínica del Adolescente (CLAD) que se encuentra en el municipio Playa.

### *Colecta*

La colecta se efectuó por medio de trampas, según las normas de control de vectores. Las trampas fueron colocadas en sitios infestados de los lugares seleccionados, y los muestreos se realizaron con una periodicidad semanal. Las cucarachas colectadas se enviaron al Instituto "Pedro Kourí" donde se mantuvieron en el insectario a una temperatura aproximada de  $27 \pm 2$  °C y una humedad relativa de  $77 \pm 3$  %, y alimentadas con pienso de ratón y agua *ad libitum*.

### *Insecticidas probados en los bioensayos*

Se realizaron los ensayos para determinar los niveles de susceptibilidad de los individuos de las cepas colectadas, frente a 4 insecticidas: un organofosforado (malatión), un carbamato (propoxur) y 2 piretroides (cipermetrina y lambdacialotrina).

### *Bioensayos*

Las pruebas de resistencia y/o susceptibilidad se realizaron por el método de aplicación tópica

sobre el abdomen de machos adultos con las modificaciones que plantea Scott JG<sup>10</sup> y los resultados fueron analizados en el programa computarizado probit-log.<sup>11</sup> Se determinó la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) y el factor de resistencia (FR), se tomó como criterio que un  $FR < 5$  indicaba susceptibilidad,  $5 < FR < 10$  indicaba resistencia moderada y un  $FR > 10$  pertenecía a individuos resistentes, comparados con la cepa susceptible de referencia.

### *Determinación de la actividad enzimática (AE)*

Para determinar los valores de las esterasas, acetilcolinesterasa y glutatión S-transferasa se utilizaron micrométodos en placas de ELISA adaptados por Díaz y otros,<sup>9</sup> y se calculó la AE para determinar si se encontraban las enzimas involucradas en los mecanismos de resistencia a los insecticidas.

### *Análisis estadístico de los resultados*

Las diferencias entre las actividades enzimáticas de cada una de las enzimas se determinaron mediante una prueba de comparación múltiple de medias denominada prueba de Tukey, mediante el programa STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, Ok. Versión 5.5<sup>12</sup>.

### *Cálculo de la frecuencia de los diferentes mecanismos de resistencia*

Para calcular la frecuencia de individuos resistentes en una población basados en el mecanismo de esterasas, glutatión-S-transferasa elevada, o acetilcolinesterasa alterada, se utilizó la ecuación de Hardy-Weinberg, y se asumió que la población se encontraba en equilibrio genético. Se utilizaron 352 ejemplares para cada enzima.

Frecuencia de ninfas resistentes

$$(RS + RR) = 1 - \sqrt{SS/T}$$

## RESULTADOS

### *Bioensayos*

Se realizaron las pruebas de resistencia y/o susceptibilidad a todas las cepas de *Blattella*

**TABLA 1.** Valores de las concentraciones letales medias ( $DL_{50}$ ) y factores de resistencia ( $FR_{50}$ ) de las cepas de *Blattella germanica* empleadas en el estudio

Cepas	Insecticidas											
	Malatión			Propoxur			Cipermetrina			Lambdacialotrina		
	$DL_{50}^a$ (95 % IC)	$FR_{50}$	$b^c$ ( $\pm$ DE)	$DL_{50}^a$ (95 % IC)	$FR_{50}$	$b^c$ ( $\pm$ DE)	$DL_{50}^a$ (95 % IC)	$FR_{50}$	$b^c$ ( $\pm$ DE)	$DL_{50}^a$ (95 % IC)	$FR_{50}$	$b^c$ ( $\pm$ DE)
HCG	1,5 (0,55-2,5)	6,76	1,51 (0,3)	0,08 (0,007-0,16)	0,36	2,27 (0,41)	0,27 (0,17-0,39)	11,34	1,83 (0,36)	0,4 (0,3-0,57)	5,97	2,11 (0,39)
HMO	3,8 (2,37-5,87)	16,98	1,59 (0,35)	0,08 (0,007-0,16)	2,13	2,42 (0,44)	1,2 (0,91-1,6)	50,42	2,69 (0,47)	2,85 (1,14-5,32)	42,54	1,07 (0,33)
CLAD	3,3 (2,05-4,95)	14,82	1,65 (0,35)	0,7 (0,52-0,91)	3,32	1,62 (0,35)	2,17 (1,22-3,33)	91,18	2,31 (0,4)	0,47 (0,25-0,81)	7,02	1,35 (0,24)
COMO-DORO	1,6 (0,59-2,6)	7,24	1,24 (0,54)	1,69 (0,71-2,73)	7,62	3,14 (0,7)	2,01 (1,09-3,25)	84,24	0,87 (0,2)	1,17 (1,25-2,81)	17,45	1,35 (0,24)
CSMA	0,2 (0,08-0,45)	-		0,22 (0,09-0,55)	-		0,02 (0,008-0,064)	-		0,07 (0,05-0,09)	-	

$DL_{50}^a$ : expresado como mg por cucaracha,  $FR_{50}$ : factor de resistencia (FR) basado sobre  $DL_{50}$ ,  $b^c$ : pendiente, DE: desviación estándar, 95 % IC: intervalo de confianza ( $\alpha=0,05$ ).

*germanica* en estudio con los 4 insecticidas seleccionados. Los resultados de los bioensayos, que se presentan en la tabla 1, indicaron que todas las poblaciones en estudio fueron resistentes al insecticida piretroide cipermetrina, cuando se compararon con la cepa susceptible de referencia utilizada. Se destacaron en el experimento altos valores de resistencia a este compuesto, dado por los altos valores de FR, que mostraron las cepas CLAD ( $FR_{50}=91,18$ ) y COMODORO ( $FR_{50}=84,24$ ).

Por otra parte se detectó elevada resistencia a lambdacialotrina en la población de HMO ( $FR_{50}=42,54$ ) y la cepa COMODORO también fue resistente a este compuesto ( $FR_{50}=17,45$ ). Sin embargo, al evaluar las poblaciones de HCG y CLAD se evidenció moderada resistencia a este insecticida piretroide con un factor de resistencia de 5,97 y 7,02, respectivamente.

Al analizar el estado de susceptibilidad de las cepas frente al organofosforado malatión se observó resistencia a este compuesto en las poblaciones de HMO ( $FR_{50}=16,98$ ) y CLAD ( $FR_{50}=14,82$ ). Este resultado contrastó con la

moderada resistencia observada en las cepas de HCG y COMODORO, las cuales revelaron factor de resistencia a este insecticida de 6,76 y 7,24, respectivamente.

Al evaluar el carbamato propoxur, se demostró que todas las cepas fueron susceptibles a este insecticida, exceptuando la cepa COMODORO, que con un valor de factor de resistencia de 7,62 evidenció moderada resistencia. Los valores de los  $FR_{50}$  mostrados en la tabla 1 evidencian esta afirmación. Es válido mencionar que la cepa COMODORO es considerada multirresistente, porque presenta de moderada a elevada resistencia frente a todos los insecticidas probados.

#### *Determinación de la actividad enzimática (AE)*

Los valores de actividad enzimática de esterasas, acetilcolinesterasa y glutathion S-transferasa para cada una de las cepas estudiadas se muestran en la tabla 2.

**TABLA 2.** Valores individuales de actividad enzimática de esterasas, acetilcolinesterasa y glutatión S-transferasa en las cepas estudiadas de *Blattella germanica*

Enzimas	Cepas				
	CSMA (± DE)	COMODORO (± DE)	HCG (± DE)	HMO (± DE)	CLAD (± DE)
Esterasas (sustrato a NA)	0,761 <sup>a</sup> ± 0,004	1,176 <sup>b</sup> ± 0,035	0,948 <sup>c</sup> ± 0,02	0,890 <sup>d</sup> ± 0,027	0,928 <sup>c</sup> ± 0,048
Esterasas (sustrato ã NA)	0,204 <sup>a</sup> ± 0,001	1,607 <sup>b</sup> ± 0,030	1,017 <sup>c</sup> ± 0,031	1,221 <sup>d</sup> ± 0,011	1,241 <sup>d</sup> ± 0,033
AchE (sin inhibidor)	0,181 <sup>a</sup> ± 0,008	0,304 <sup>b</sup> ± 0,014	0,158 <sup>a</sup> ± 0,004	0,183 <sup>a</sup> ± 0,004	0,172 <sup>a</sup> ± 0,003
AchE (con inhibidor)	0,059 <sup>a</sup> ± 0,002	0,153 <sup>a</sup> ± 0,004	0,091 <sup>a</sup> ± 0,002	0,08 <sup>a</sup> ± 0,001	0,088 <sup>a</sup> ± 0,002
(% AchE inhibida)	32,4	50,29	57,48	43,64	50,73
Glutatión-S-transferasa	0,261 <sup>a</sup> ± 0,007	0,3234 <sup>b</sup> ± 0,015	0,292 <sup>a</sup> ± 0,006	0,403 <sup>c</sup> ± 0,012	0,838 <sup>d</sup> ± 0,034

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los valores de actividad enzimática mostrados, DE: desviación estándar, NA: naftil acetato.

La cepa HCG mostró AE elevada para los 2 tipos de Esterasas ( $\alpha=0,948$ ), que resultó mayor para los ensayos correspondientes con las  $\beta$  Esterasas ( $\beta=1,017$ ). Estos aumentos fueron menores que los descritos antes en la cepa COMODORO ( $\alpha=1,176$  y  $\beta=1,607$ ). Existieron diferencias significativas entre estas 2 cepas para las 2 enzimas involucradas ( $p<0,05$ ). Además, se observó una baja AE de la enzima acetilcolinesterasa inhibida (0,091), por otra parte la actividad de la GST (0,292), no mostró diferencias significativas con respecto a la cepa susceptible ( $p>0,05$ ).

Cuando se analizaron las poblaciones procedentes de HMO se observó una elevada actividad enzimática en los 2 tipos de Esterasas ( $\alpha=0,89$  y  $\beta=1,221$ ), así como para la enzima GST (0,403), con diferencias significativas con respecto a la cepa de referencia ( $p<0,05$ ). La acetilcolinesterasa, al igual que en la cepa HCG, se encontró con bajos valores de actividad enzimática, siendo inhibida por el propoxur en 43,6 %. En la cepa COMODORO, la acetilcolinesterasa se inhibió en 50,3 %, que resultó menor en la cepa CSMA con 32,4 % de reducción (con diferencias significativas  $p<0,05$ ), sin embargo, no existieron diferencias significativas entre las 3 cepas evaluadas al compararlas entre ellas.

Finalmente, la cepa CLAD tuvo un comportamiento similar al de la cepa HMO con elevada actividad de los 2 tipos de Esterasas ( $\alpha=0,929$  y  $\beta=1,241$ , sin diferencias significativas para las  $\beta$  Esterasas, pero sí para las  $\alpha$  Esterasas entre ambas cepas), y presentó además, la mayor actividad de la enzima GST (0,838) de todas las cepas

analizadas en este estudio. Es válido mencionar que esta población tuvo además una baja AE de la Ache inhibida (0,088).

#### *Cálculo de la frecuencia de los diferentes mecanismos de resistencia*

En la tabla 3 se muestran los valores de frecuencia génica para los 4 mecanismos estudiados en las cepas de *Blattella germanica* de referencia y en las colectadas en el terreno. Los valores de frecuencia para las  $\beta$ -Esterasas están elevados en todas las cepas, respecto a la frecuencia de los otros mecanismos. La población de cucarachas de la cepa COMODORO presentó el mayor valor de frecuencia para estas enzimas (0,81).

**TABLA 3.** Valores de frecuencia génica para los mecanismos mediados por esterasas, glutatión-S-transferasa y acetilcolinesterasa en poblaciones de *Blattella germanica* procedentes de Ciudad de La Habana

Frecuencia génica	Cepas			
	COMODORO	HCG	HMO	CLAD
Esterasas ( $\alpha$ NA)	0,44	0,33	0,37	0,38
Esterasas ( $\beta$ NA)	0,81	0,63	0,52	0,70
AchE	0,10	0,04	0,035	0,05
GST	0,54	0,45	0,48	0,76

NA: naftil acetato.

Para las  $\alpha$  -Esterasas el fenómeno ocurre de forma similar, sin embargo, los valores de frecuencia para estas enzimas son menores que para las  $\beta$ -Esterasas, y coincide el mayor valor con el obtenido en la cepa COMODORO (0,44).

Por otra parte, el mecanismo de la GST presenta valores de frecuencia que oscilan desde 0,45

en la cepa HCG hasta el mayor valor (0,76) en la cepa CLAD, resulta interesante acotar la poca variación que muestra este mecanismo entre la cepas HMO (0,48) y la HCG.

Por último, se observaron bajos valores de frecuencia para la enzima acetilcolinesterasa en todas las cepas estudiadas. El valor de frecuencia de esta enzima en la cepa COMODORO, aunque es el más elevado de todas las cepas analizadas, no difiere significativamente de la cepa susceptible CSMA.

## DISCUSIÓN

El fenómeno de la resistencia continúa siendo un obstáculo fundamental que contribuye al fracaso de las operaciones de control en muchos países del mundo. Existe un amplio número de investigaciones sobre la resistencia a insecticidas en diversas regiones geográficas.<sup>13-15</sup> Cuba, no es una excepción a este problema y también se observan valores de resistencia en poblaciones de *Blattella germanica*.<sup>16,17</sup>

A pesar de que no se había aplicado malatión desde hace más de 20 años, cuando fue el insecticida más usado, desde 1981 hasta 1986, en la campaña de erradicación del mosquito *Aedes aegypti* en Cuba,<sup>18</sup> continúa la resistencia a este insecticida en *Blattella germanica*, lo cual quedó demostrado, en las 4 cepas en estudio. Estos resultados demuestran que es muy difícil revertir en el tiempo la resistencia a malatión en esta especie. Este fenómeno fue observado de la misma manera por *Siegfried* y *Scott*, los cuales encontraron que una cepa que era 75 veces más resistente a este insecticida, continuaba la resistencia después de largos períodos de tiempo fuera de presión de selección.<sup>19</sup> Por otra parte, al evaluar cepas de terreno de *Blattella germanica* en la provincia de Santiago de Cuba, *Díaz* y otros observaron resultados similares.<sup>20</sup>

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.<sup>17</sup> *Atkison* y otros, plantean que este piretroide es el insecticida más empleado para el control de *Blattella germanica* en los programas operacionales de control de plagas.<sup>21</sup>

A finales de la década de los 90 se aplicaron en los centros de salud diferentes insecticidas, principalmente piretroides y se mantuvieron las aplicaciones con cipermetrina por más de 6 meses; esto provocó la selección de mecanismos de resistencia a ese insecticida en las poblaciones de *Blattella germanica*,<sup>20</sup> por lo cual no es casual, los altos niveles de resistencia reportados en este trabajo. Estudios realizados por *Pai* y otros en hogares y hospitales de Kaohsiung, Sur de Taiwán, demostraron altos niveles de resistencia a la cipermetrina. Sin embargo, los valores fueron mayores en los hogares que en los centros de salud.<sup>22</sup>

Otro factor influyente en los altos valores de resistencia a cipermetrina puede haber sido la existencia de resistencia cruzada frente a DDT, porque este organoclorado fue ampliamente usado en años anteriores, pero la desafortunada aparición de resistencia limitó su uso en los programas de control de esta especie. Su utilización en la fumigación intradomiciliaria fue desplazada por la utilización de los piretroides, los cuales fueron los más utilizados tanto en los rociamientos intradomiciliares, como en la impregnación de los toldillos.<sup>23</sup>

El uso de la cipermetrina puede generar resistencia cruzada a otros insecticidas piretroides. En Cuba, el insecticida lambdacialotrina sustituyó a la cipermetrina para el control de insectos como son las cucarachas, por lo que puede afectarse su efectividad por la resistencia que ya se ha desarrollado previamente a la cipermetrina.<sup>17</sup>

En los ensayos realizados por *Hemingway* y *Small*, en 30 poblaciones de *Blattella germanica* resistentes a cipermetrina y a lambdacialotrina, se obtuvieron variaciones del nivel de resistencia.<sup>24</sup> Las cepas resistentes a lambdacialotrina mostraron factores de resistencia a cipermetrina de 2 a 67 veces mayor que las cepas susceptibles, esto corrobora la relación que existe entre los mecanismos de resistencia cruzada que brindan protección a este insecto frente a cipermetrina y lambdacialotrina. Similares resultados fueron obtenidos en este estudio al comparar los valores de los factores de resistencia entre cipermetrina y lambdacialotrina en las cepas evaluadas.

Se encontró susceptibilidad al carbamato propoxur. Sin embargo, la cepa COMODORO fue moderadamente resistente a este insecticida, lo

que podría estar influenciado por los tratamientos sucesivos con el insecticida baygon, cuyo componente activo es el propoxur. La cepa COMODORO presentó diferencia de tratamientos a este insecticida con respecto a los que se realizan en los centros de salud involucrados en el estudio. Gliniewicz y otros, en cepas de terrenos colectados en hospitales de Polonia, demostraron la susceptibilidad al insecticida propoxur.<sup>25</sup> De forma similar en 2003, Díaz y otros comprobaron la susceptibilidad a propoxur en cepas colectadas en Pinar del Río que mostraron elevada resistencia a piretroides.<sup>16</sup>

De los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas realizadas y sus respectivos valores de frecuencias, se puede concluir que la presencia de esterasas elevadas ( $\alpha$  y  $\beta$ ) en las cepas involucradas en el estudio podría estar asociada con los niveles de resistencia a malatión y a los compuestos piretroides (cipermetrina y lambda-cialotrina), esto coincide con los resultados obtenidos por Hemingway y otros, que encontraron esterasas inespecíficas incrementadas en 11 cepas resistentes a insecticidas piretroides.<sup>26</sup> Por otra parte, Prabhakaran y Kamble reportaron como mecanismos de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos, los efectos combinados de oxidación incrementada y la acción de enzimas hidrolíticas.<sup>27</sup>

No debe descartarse la posibilidad que los altos niveles de resistencia a piretroides detectados en las cepas puedan relacionarse con 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 empleados.<sup>14</sup>

Los mecanismos de resistencia al insecticida propoxur son bastante discutidos. Algunos autores proponen la disminución en el rango de penetración cuticular y el metabolismo incrementado.<sup>28</sup> Otros involucran el incremento en la producción de esterasas.<sup>29</sup> Adicionalmente, Hemingway y otros demostraron que la segregación de una acetilcolinesterasa alterada confiere un amplio espectro de resistencia a insecticidas organofosforados y carbamatos.<sup>30</sup> Sin embargo, se ha observado que la resistencia a estos insecticidas en *Blattella germanica* no aparece asociada con una acetilcolinesterasa modificada porque esta no posee la plasticidad genética necesaria para que la modificación ocurra, o al menos es relativamente baja su fre-

cuencia de aparición. Este fenómeno explica el comportamiento de la cepa COMODORO.<sup>9</sup>

La mayoría de los organismos poseen múltiples glutatión S-transferasa de 2 clases o más. Valles y otros correlacionaron la actividad de la GST con la resistencia a propoxur en 8 cepas de cucarachas.<sup>31</sup> Por otra parte, Rodríguez y otros asociaron la actividad de esta enzima con la resistencia a deltametrina en cepas de *Aedes aegypti*.<sup>32</sup> Sin embargo, parece que los altos valores de frecuencia de la GST pudieran contribuir en la resistencia a malatión.<sup>9</sup>

El problema de la resistencia a insecticidas en *Blattella germanica* continúa siendo un reto para los científicos que trabajan esta temática. Por este motivo, estudios de compuestos químicos que actúan como sinergistas e investigaciones en el campo de la biología molecular, son necesarios para profundizar en estos aspectos relacionados con la resistencia a insecticidas.

La aplicación de micrométodos bioquímicos para cuantificar enzimas que pudieran estar involucradas en la resistencia a insecticidas en la especie *Blattella germanica*, permite detectar resistencia individual, obtener más información por insecto, identificar los mecanismos de resistencia a insecticidas que están actuando y medir la frecuencia génica del mecanismo en la población. Estas importantes informaciones contribuyen a la política adecuada para el uso correcto de insecticidas.

#### **Determination of insecticide-resistance and resistance mechanisms of *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae)**

##### **SUMMARY**

In this paper, the level of resistance to four insecticides of 3 *Blattella germanica* strains collected from various places in the City of Havana province was evaluated. These strains were resistant to two pyrethroids (cypermethrin and lambda-cyhalothrin) and to organophosphate malathion but susceptible to carbamate propoxur. The values of  $\alpha$  and  $\beta$  esterases, acetylcholinesterase and glutathione-S-transferase were estimated in three strains involved in the study. The results of the study showed high esterase activity in all the strains, mainly  $\beta$  esterases and two of the three strains presented with high glutathione-S-transferase enzyme. No changes in acetylcholinesterase were demonstrated in relation to the reference strain. The association of levels of resistance to insecticides, the possible resistance mechanisms in each strain and the results of the enzymatic activity were also analyzed.

**Key words:** *Blattella germanica*, mechanisms, resistance, insecticides, micromethods.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Graczyk TK, Knight R, Tamang L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:128-32.
2. Wei Y, Appel AG, Moar WJ, Liu N. Pyrethroid resistance and cross-resistance in the German cockroach. *Blattella germanica* (L). *Pest Manag Sci* 2001;57:1055-9.
3. Agrawal VK, Tilak R. Field performance of imidacloprid gel bait against German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *Indian J Med Res* 2006;124:89-94.
4. Kristensen M, Hansen KK, Jensen KM. Cross-resistance between dieldrin and fipronil in German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 2005;98:1305-10.
5. 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;46:130-2.
6. Silverman J, Bienam DN. Glucose aversion in the German cockroach *Blattella germanica*. *J Insect Physiol* 1993;39:925-93.
7. Cochran DG. Insecticide resistance. Chapter 8. In: Understanding and controlling the German Cockroach. Rust MK, Owens JM, Reiersen DA ed. New York:Oxford University Press; 1995. p. 171-92.
8. Ross MH. Evolution of behavioral resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) selected with a toxic bait. *J Econ Entomol* 1997;90:1482-5.
9. Díaz C, Gavilán Y, De Armas Y, Bisset JA. Adaptación de los métodos para la cuantificación de la actividad de esterasa, acetilcolinesterasa y glutatión S- transferasa en *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *Rev Cubana Med Trop* 2006;58(3):241-7.
10. Scott SC, Siegfried BD. Biochemical characterization of hydrolytic and oxidative enzyme in insecticide resistant and susceptible strain of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 1990;85:1092-8.
11. Raymond M. Presentation de ún programme d'analyse log-probit por Micro-ordinateur. *Cah. ORSTOM Ser Entomol Med Parasitol* 1985;22:117-21.
12. StatSoft, Inc. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, Ok. Versión 5.5.13.; 1999.
13. Wang C, Scharf ME, Bennett GW. Genetic basis for resistance to gel baits, fipronil, and sugar-based attractants in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 2006;99:1761-7.
14. Xu Q, Wang H, Zhang L, Liu N. Sodium channel gene expression associated with pyrethroid resistant house flies and German cockroaches. *Gene* 2006;379:62-7.
15. Tilak R, Agrawal VK, Dutta J. Field performance of cyphenothrin: an integrated insecticide strategy against German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J Vector Borne Dis* 2005;42:68-73.
16. Díaz C, Enriquez D, Bisset JA. Status of resistance to insecticides in field strains of the *Blattella germanica* species (Dictyoptera: Blattellidae) from Pinar del Rio municipality. *Rev Cubana Med Trop* 2003;55:196-202.
17. Díaz C, Perez MG, Calvo E, Rodriguez MM, Bisset JA. Insecticide resistance studies on *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) from Cuba. *Ann N Y Acad Sci* 2000;916:628-34.
18. Bisset JA, Marquetti MC. Comportamiento relativo de las densidades larvales de *Aedes aegypti*. *Rev Cubana Med Trop* 1985;37:176-80.
19. Siegfried BD, Scott SC. Insecticide resistance mechanisms in the german cockroach, *Blattella germanica* (L). *Am Chem Soc* 1996;218-29 (Symposium Series No. 505).
20. Díaz C, Pérez M, Rodríguez MM, Calvo E, Bisset JA, Fresneda M. Resistance to insecticides in *Blattella germanica* species strains from Santiago de Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 2000;52:24-30.
21. Atkinson TH, Wadleigh RW, Koehler PG, Patterson RS. Pyrethroid resistance and synergism in a field strain of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 1991;84:1247-50.
22. Pai HH, Wu SC, Hsu EL. Insecticide resistance in German cockroaches (*Blattella germanica*) from hospitals and households in Taiwan. *Int J Environ Health Res* 2005;15:33-40.
23. Phillips RS. Current status of malaria and potential for control. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:208-26.
24. Hemingway J, Small GI. Resistance mechanisms in cockroaches-the key to control strategies. *Zéneca Public Health* 1998;141-50.
25. Gliniewicz A, Krzeminska A, Sawicka B. Susceptibility of cockroaches *Blattella germanica* L. collected from hospitals to selected pyrethroid and carbamate insecticides. *Rocz Panstw Zakl Hig* 1996;47:333-41.
26. Hemingway J, Dursbar JJ, Monro AG, Small GJ. Pyrethroid resistance in german cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). Resistance levels and underlying mechanisms. *J Econ Entomol* 1993;86:1631-8.
27. Prabhakaran SK, Kamble ST. Activity and electrophoretic characterization of esterases in insecticide-resistance and susceptible strain of german cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 1993;86:1009-13.
28. Bull DL, Wadleigh RW, Patterson RS. Pharmacodynamics of malathion and carbaryl in susceptible and multiresistant german cockroaches Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 1989;82:1512-9.
29. 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;25:519-24.
30. Hemingway J, Small GJ, Monro AG. Possible mechanisms of organophosphate and carbamate insecticides resistance in german cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) from different geographical areas. *J Econ Entomol* 1993;86:1623-30.
31. Valles SM, Koehler PG, Brenner RJ. Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzyme activities among pestiferous blattodea. *Comp Biochem Physiol Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1999;124:227-32.
32. Rodríguez MM, Bisset JA, De Armas Y, Ramos F. Deltamethrin selection of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba: Cross-resistance to others pyretroids. *J Am Mos Cont Assoc* 2005;21:437-45.

Recibido: 25 de enero de 2007. Aprobado: 21 de marzo de 2007.  
 Lic. Cristina Díaz Pantoja. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri".  
 Correos electrónico: cristina.diaz@infomed.sld.cu, c.diaz@ipk.sld.cu