

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGÍA**

**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL
SECCION DE ENTOMOLOGÍA MÉDICA DR. "PABLO ANDUZE"**

TESIS DE GRADO

Susceptibilidad de *Blattella germanica* LINNAEUS, 1767 (Dyctioptera: Blattellidae), provenientes de industria de alimentos y un ambiente hospitalario, al insecticida Piretroide Deltametrina.

Br. Gustavo Napoleón Carta Martínez

**Tutor I Dr. Rafael Matías Reyes Lugo
Sección de Entomología Médica
"Dr. Pablo Anduze"
Instituto de Medicina Tropical
Facultad de Medicina – UCV**

**Tutor II Dr. Rubén Candia
Ecología de Artrópodos
Laboratorio de Invertebrados
Centro Museo de Biología de la UCV
Instituto de Zoología y Ecología Tropical
Facultad de Ciencias - UCV**

ÍNDICE GENERAL

Agradecimiento	i
Lista de Tablas	ii
Lista de Figuras	iv
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	
El Planteamiento del Problema.....	3
Justificación	4
CAPÍTULO II	
MARCO TEÓRICO	6
Identificación del género <i>Blattella</i>	6
Taxonomía	7
Ciclo de vida de <i>Blattella germanica</i> : Longevidad, ciclo ootecal y desarrollo ninfal	10
Las cucarachas como organismos portadores y transmisores de enfermedades	11
Virus	11
Bacterias	13
Los insecticidas Piretroides	17
Clasificación de los Insecticidas Piretroides	18
Modo de acción de los Piretroides	22
Otros Tipos de Insecticidas utilizados para el control de cucarachas	25
Insecticidas Halogenados	26
Insecticidas Órganos Fosforados o Fosforados orgánicos	26

Los Insecticidas Carbamatos	27
Resistencia a los Piretroides	28
Mecanismos de resistencia a los insecticidas	29
Efecto Knock Down	29
Resistencia Cruzada	30
Dinámica de la Resistencia	30
Análisis de Eficacia	33
Hipótesis	35
Objetivo General	35
Objetivos Específicos	36
CAPÍTULO III	
MATERIALES Y MÉTODOS	
Cría de <i>Blattella germanica</i>	37
Primer Bioensayo: Determinación de la Dosis Diagnóstica	39
Determinación de la Susceptibilidad	41
CAPÍTULO IV	
Resultados	
Dosis Diagnóstica	44
Determinación de la Susceptibilidad	44
Mortalidad, Probit, Efecto Knock Down Colonia HMC	45
Pendiente, Ecuación, Punto de Corte de la Curva Probit	
Colonia HMC	46
Efecto Knock Down Colonia HMC	48
Mortalidad, Probit, Efecto Knock Down Colonia Guatopo	49
Pendiente, Ecuación, Punto de Corte de la Curva Probit	
Colonia Guatopo	51
Efecto Knock Down Colonia Guatopo	52

Mortalidad, Probit, Efecto Knock Down Colonia IACA	53
Pendiente, Ecuación, Punto de Corte de la Curva Probit	
Colonia IACA.....	55
Efecto Knock Down Colonia IACA	56
Determinación de la Resistencia	57
Fórmula Abbott	58
CAPÍTULO V	
Discusión	60
CAPÍTULO VI	
Conclusiones	69
CAPÍTULO VII	
Recomendaciones	71
GLOSARIO DE TÉRMINOS	72
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
Anexos	

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis tutores Dr Rafael Matías Reyes Lugo, por la proposición del tema de la tesis, sus consejos, observaciones y atención al desarrollo de este trabajo; al Dr. Rubén Candia, por sus asesorías, comentarios, sugerencias y supervisión durante el desarrollo de esta obra. A mi madre, que en vida fuera apoyo moral e inspiración; a mis hijos, por la motivación que infundieron en mí de ver a su padre graduado; a mi amada esposa Maschenka por la asesoría en la parte estadística de esta tesis, ayudarme a pasar la misma, su gran apoyo al colaborar en la transcripción de la misma.

ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	pp.
1 Incidencia de Hepatitis A en Proyecto de vivienda Carmelitos, long Beach, California EUA, en el que se aplicó un insecticida para control de plagas, Población 2800 Habitantes (Tomado de Ramírez 1998)	13
2 Importancia de los diferentes mecanismos de resistencia a cinco clases de insecticidas (Tomado de Georhiou 1990)	31
3 Institución y ubicación de la misma de donde se colectaron los individuos que conformaron las tres colonias evaluadas. Cada colonia se identifica con sus siglas respectivas	38
4 Criterios de susceptibilidad según WHO (1998) con base a la Dosis diagnóstica 0,1 – 0,25 g/l	41
5 Valores de KD y Mortalidad en % de las Colonias HMC, Guatopo e IACA frente a dosis diagnóstica de 20 mg/ml (KD 1 hora mortalidad a 72 horas)	44
6 Rango de concentraciones seleccionados para las diferentes colonias	45
7 Valores promedios y porcentuales de Mortalidad a las 72 horas de individuos de <i>B.germanica</i> de la colonia HMC a distintas concentraciones de Deltametrina	45
8 Valores promedios y porcentuales de Mortalidad a las 72 horas de individuos de <i>B.germanica</i> de la colonia Guatopo a distintas concentraciones de Deltametrina	49

Tablas

pp.

9	Valores promedios y porcentuales de Mortalidad a las 72 horas de individuos de <i>B. germanica</i> de la Colonia IACA, a distintas concentraciones de Deltametrina	53
10	Valores de la dosis letal 50 y 90 con sus respectivos Intervalos de confianza IC (Calculados por Minitab 15 Statistics)	57
11	Porcentajes Promedios de Mortalidad por tratamiento con Deltametrina; se aplicó 1 ul de solución acetónica en esternitos abdominales de chiripas en las Colonias HMC, Guatopo e IACA	58
12	Razón de Resistencia, cociente entre colonia de campo y colonia de laboratorio, con sus respectivos Intervalos de Confianza y χ^2	58

Lista de Figuras

Figuras	pp.
1 Bacterias Comúnmente transmitidas por <i>Blattella germanica</i> (Tomado de: Villarroel 2002)	14
2 a) Microfotografía de <i>Salmonella thypi</i> (Tomado de: Santander 2003) b) Microfotografía de <i>Klesbtella pneumonice</i> (Tomado de: Pérez 2003) c) Daño Pulmonar causado por <i>Klesbtella pneumonice</i> (Tomado de: Pérez 2003)	16
3 Estructura química de los Piretroides Tipo I: Aletrina, Tertametrina, resmetrina (Tomado de: Bloomquist 2011)	19
4 Estructura química de los Piretroides Tipo II: Permetrina, Cypermetrina, Deltametrina (Tomado de: Bloomquist 2011).....	21
5 Esquema sobre el Potencial de acción y los canales dependientes de voltaje (Tomado de: Sierra 2007)	24
Representación esquemática de los tres principales mecanismos de resistencia en una sección transversal de un insecto susceptible (Izquierda) y uno resistente (Derecha). (Adaptado de Georgiou 1987)	33
7 Análisis Probit de la Colonia HMC	46
8 Pendiente de la Curva Probit de la Colonia HMC	47

Figuras	PP.
9 Efecto Knock Down de la Deltametrina sobre <i>B. germanica</i> de la Colonia HMC para las concentraciones 0,5 mg/ml, 10 mg/ml 15 mg/ml y 20 mg/ml	49
10 Análisis Probit de la Colonia Guatopo	50
11 Pendiente de la Curva Probit de la Colonia Guatopo	51
12 Efecto Knock Down de la Deltametrina sobre <i>B. germanica</i> de la Colonia Guatopo para las concentraciones 0,5 mg/ml, 5 mg/ml 12,5 mg/ml y 20 mg/ml	52
13 Análisis Probit para la Colonia IACA	54
14 Pendiente de la Curva Probit de la Colonia IACA	55
15 Efecto Knock Down de la Deltametrina sobre <i>B. germanica</i> de la Colonia IACA para las concentraciones 5 mg/ml, 12,5 mg/ml 20mg/ml y 35 mg/ml	56
16 Pendientes de las Colonias HMC, Guatopo e IACA pertenecientes a la <i>B. germanica</i>	59

RESUMEN

En Venezuela es muy poco lo que se sabe sobre la susceptibilidad de *Blattella germanica* a los distintos plaguicidas usados para su control. Por tal motivo, se escogió la Deltametrina, un piretroide muy utilizado a nivel industrial desde los años 80 del siglo XX, en el manejo de esta plaga. Para ello, se determinó los niveles de susceptibilidad a la Deltametrina de tres colonias de *Blattella germanica* conformada a partir de individuos provenientes de: una industria de alimentos, Industrias Amapola CA (IACA), ubicada en los Valles del Tuy; una estación de guardaparque en el Parque Nacional Guatopo, y otros individuos descendientes de una colonia del Hospital Militar de Caracas (HMC), colectados por el Laboratorio de Entomología Médica “Pablo Anduze”, del Instituto de Medicina Tropical de la UCV. Basados en datos de la WHO (1998) se escogió una concentración de 20 mg/ml para aplicación tópica con micropipeta sobre los primeros esternitos ventrales del abdomen de 20 individuos por colonia. Se cuantificó el número de individuos volteados o en shock cada 10 minutos hasta completar una hora de observación. Estos datos permitieron la evaluación del efecto “knockdown” o de volteo. Luego los individuos tratados se colocaron en recipientes de vidrio con suficiente agua y alimento, alojados en cavas de anime a temperatura ambiente y 60 % de HR, aproximadamente. La mortalidad se registró a las 72 horas, con sus respectivos controles. Luego se realizó un segundo bioensayo siguiendo los lineamientos de la WHO (1998). A partir del primer bioensayo se evaluó un amplio rango

de concentraciones mayores y menores que la dosis diagnóstica. La exposición de estos individuos a una serie de concentraciones produce una línea recta que relaciona el log de la concentración con la mortalidad, conocida como línea log-Probit; para ello se utilizó el software Minitab 15. Para el cálculo de las pendientes de las rectas y sus ecuaciones, se usó el software Herramientas para Matemáticas y el software Geogebra y se dibujaron las pendientes en un sistema cartesiano. Los resultados obtenidos mostraron un bajo efecto “knock down”, que no superó el 25 %. La mortalidad observada sugiere posible resistencia que debe ser confirmada para las 3 colonias (WHO 1998), siendo HMC la más susceptible, seguida por Guatopo; ambas demostraron ser poblaciones homogéneas y similares. La colonia IACA resultó ser la menos susceptible y además demostró ser una población heterogénea en vía de hacerse resistente por estar bajo la presión química de insecticidas a nivel de industria.

INTRODUCCIÓN

En las industrias de alimentos, la Gerencia de Control de Calidad tiene por misión asegurar que los productos cumplan con las Normas de Buenas Prácticas de Fabricación establecidas por el Ministerio de Salud y Comercio, según Decreto N° 3075 de 1977, a fin de evitar cualquier contaminación alimentaria, ya sea bacteriana, parasitaria, fúngica o viral. Debido a esto, algunas industrias utilizan sistemas HACCP (Sehweitzer y *col.* 2006) para asegurar la calidad de sus productos. Igualmente, en los hospitales se están aplicando estos sistemas para garantizar las asepsias de las instalaciones hospitalarias, pabellones, rehabilitación, quirófanos, habitaciones, faenas, cocinas y comedores, depósitos y almacenes, ya que las infecciones hospitalarias están entre los problemas de salud más serios de los nosocomios, por los altos costos que genera su manejo, al que están expuestos los pacientes, familiares y personal que labora en estas instituciones (Fotedar y Banergee 1991).

En este sentido, las cucarachas representan un riesgo importante porque son plagas que se comportan como vectores, debido a que tienen la capacidad de transmitir mecánicamente una gran variedad de agentes patógenos, contaminar alimentos, utensilios, instrumentos,

entre otros, y concomitantemente pueden servir de reservorios de estos microorganismos (Stek 1982; Hsiu-Hua y Chen 2003; OMS 1990).

El control de *Blattella germanica* (Linnaeus 1767) es una medida perentoria para contribuir al manejo aséptico de actividades como la salud y la alimentación. El control de esta plaga se ha complicado en muchos países debido al desarrollo de resistencia a varios insecticidas utilizados para este fin. A nivel mundial este problema es conocido; sin embargo, se desconoce la verdadera magnitud del mismo. Actualmente, en Venezuela son pocos los trabajos que se han publicado sobre este tópico, siendo esta una situación que se vive día a día tanto a nivel doméstico, como sanitario e industrial.

CAPÍTULO I

PLATEAMIENTO DEL PROBLEMA

La cucaracha *Blattella germanica* L. es uno de los blátidos de mayor relevancia en hospitales e industrias de alimentos debido a: 1) es una plaga que actúa como un vector importante de enfermedades al hombre; 2) produce trastornos respiratorios a través de agentes alérgenos que desprenden al ambiente (OMS 1998); 3) se invierten elevados recursos en su control; 4) causan daños económicos a equipos, materiales diversos, alimentos almacenados y elaborados, por consumo directo o contaminación con sus heces, exuvias y cadáveres.

En Venezuela no se conoce como es la susceptibilidad de *B. germanica* a los insecticidas, particularmente, aquellos que se utilizan con mayor frecuencia en la actualidad para su control; entre estos plaguicidas está la Deltametrina, que es utilizada en nuestro país desde finales de la década de los 90 del siglo XX, tanto a nivel agrícola, como en salud pública, higiene industrial, hospitales, centros de salud, clínicas y ambulatorios. Por supuesto, no podemos dejar de mencionar el mercado de consumo masivo en el que se invierten grandes recursos en mercadeo, comercialización y campañas publicitarias agresivas, estimulando el uso intensivo de los plaguicidas en spray a nivel doméstico, que son formulados principalmente a base de piretroides como Aletrina, Tetrametrina, Permetrina y Cipermetrina y que, probablemente, tengan un impacto, al menos indirectamente, en la presión química a estos insectos en los hogares a nivel urbano.

JUSTIFICACIÓN

El control de los blátidos en nuestro país es visto más como un segmento del mercado agroquímico, que como un problema de salud pública. Esta plaga puede actuar como un vector urbano de agentes patógenos como enterovirus, bacterias y parásitos; no se les presta la debida atención del caso.

La mayoría de la población desconoce el potencial de las chiripas como transmisor de enfermedades. Generalmente las personas fumigan o contratan estos servicios de fumigación, más por aversión a estos insectos, que por conciencia sanitaria. La industria de alimento lo hace por temor a la caída de sus ventas por contaminación de productos terminados por fragmentos de estos artrópodos y el que puedan ser sancionados por los agentes sanitarios. Al final, el control de las chiripas descansa en manos de intereses comerciales.

No se conoce realmente la dosis diagnóstica de los insecticidas que se usan en nuestro país, desde hace 20 años aproximadamente, para el control de dicha plaga (Observación Personal). Se han utilizado DDT, Órganos Fosforados, Carbamatos y Piretroides; desde entonces, no hay certeza sobre la eficiencia de los tratamientos que se aplican, como es el caso de la Deltametrina, utilizada desde finales de la década de los 90 del siglo XX (WHO 1998). Tampoco, existen programas de control que evalúen la respuesta de los blátidos a estos agentes tóxicos. Tampoco existen programas que evalúen la respuesta de los blátidos

a insecticidas utilizados frecuentemente para su control, por ejemplo, de la Cipermetrina, Lambdacihalotrina, Permetrina, Diazin, Clorpirifos, entre otros.

La salud de la población no solo descansa en el consultorio médico o en la sala de los hospitales, existen muchas dolencias relacionadas con las chiripas que podrían evitarse con un control eficiente de esta plaga, pero desconocer las dosis diagnósticas no nos hace competentes en el control de estos insectos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

II. A.) Identificación del género *Blattella*.

B. germanica Linnaeus, 1767 Es una de las plagas más importante por su amplia distribución geográfica, elevada abundancia que puede alcanzar bajo ciertas condiciones y por los altos niveles de resistencia a insecticidas. La llamamos “chiripa” en nuestro país y mundialmente se le conoce con el nombre de “cucaracha alemana”. Se considera que es originaria de África del Este o Asia, y se ha vuelto cosmopolita gracias al intercambio comercial desde la antigüedad.

El término “cucaracha” parece provenir del latín *cocum*, igual a grano o semilla, y la terminación *acha*, del italiano *accio* que significa bajo o despreciable. Son de hábitos nocturnos y omnívoros. Las hembras oviponen ootecas, es decir; varios huevos incluidos dentro de una cubierta quitinosa a manera de cápsula (Ramírez 1989).

Es de interés conocer los aspectos relacionados con su comportamiento, biología y ecología, debido a su relevancia para el diseño e implementación de programas de control.

Se han identificado aproximadamente 4.000 especies de cucarachas. Están entre los insectos alados más antiguos que se conocen, observándose registros fósiles en las estratificaciones del Carbonífero Superior; las características de las especies modernas difieren poco de la de estos fósiles (Gelves 2012).

II.A.1.) Taxonomía

En la actualidad se han descrito aproximadamente 1,5 millones de especies de insectos, estos tienen diversos caracteres homólogos que permiten agruparlos en una misma categoría taxonómica conocida como Clase Insecta dentro del Phylum Arthropoda.

Los integrantes de la clase Insecta, por lo general, son de tamaño pequeño y sus cuerpos están divididos en tres partes ó tagmas: el tagma cefálico, tagma torácico y tagma abdominal. El tagma cefálico posee un par de antenas, un par de ojos compuestos, ocelos, un par de mandíbulas, dos pares de maxilas, un labro y un labio. El tagma torácico se divide en tres segmentos y en cada uno de ellos se insertan un par de patas. Los adultos pueden poseer dos pares de alas, los cuales se ubican en el mesotórax y en el metatórax. El tagma abdominal contiene el aparato digestivo, reproductivo y circulatorio. La abertura genital está ubicada en el extremo posterior del abdomen.

La Clase Insecta se divide a su vez en dos Subclases: Apterygota y Pterygota. La Subclase Apterygota (del griego. *A*: sin; *pterygon*: ala) comprenden insectos que no presentan alas o vestigios de estas en su estadio adulto. Ejemplos de estos insectos tenemos el Orden Protura, Thysanura, Collembola, Mallophaga (piojos de mamíferos) y Siphonaptera (pulgas)

Son considerados pertenecientes a la Subclase Pterygota (del griego *pterygon*: ala) aquellos insectos que durante su estadio adulto presentan alas o un vestigio de estas (Maggenti y col. 2005). En los insectos Pterygota los estadios juveniles pueden ser

similares o diferentes a los adultos, esta variación se debe principalmente al tipo de desarrollo que presente el insecto (Gelves2013).

La subclase Pterygota se divide en tres grupos según su tipo de desarrollo: holometábolos, hemimetábolos y paurometábolos.

Son insectos holometábolos (del griego *holos*: enteros; *metabole*: cambio) aquellos que presentan una metamorfosis completa (Gelves 2012) iniciando en un huevo del cual emerge una larva diferente del adulto, esta larva presenta un crecimiento gradual, pasando por varias mudas, hasta formar una pupa o crisálida, en esta se completa el proceso de metamorfosis, luego de la cual, emerge un adulto alado; los insectos de los órdenes Diptera, Lepidoptera y Coleoptera, entre otros, presentan este tipo de desarrollo (Gelves 2012)

Los insectos hemimetábolos son aquellos en los cuales las etapas juveniles son acuáticas y presentan un crecimiento gradual con características morfológicas distintas a las del adulto. Los insectos de los órdenes Ephemeroptera, Odonata y Plecoptera presentan este tipo de desarrollo (Gelves 2012).

Los insectos paurometábolos se caracterizan por tener metamorfosis gradual o incompleta, en general el estadio juvenil es muy similar al adulto. Dentro del grupo de insectos paurometábolos podemos encontrar los que pertenecen a los órdenes Hemiptera, Homoptera y Blattodea

Las cucarachas, también conocidas como blátidos, pertenecen al Orden Blattodea. Las ninfas se caracterizan por ser semejantes al adulto, pero difieren en su tamaño y en el desarrollo de las alas y genitales externos (Ramírez 1989). Presenta cuerpo deprimido, el protórax modificado cubre la cabeza, las antenas son largas, filiformes y multiarticuladas.

Los adultos llegan a tener cerca de 16 mm de largo, poseen dos bandas oscuras longitudinales que inician en el pronoto. Presenta una coloración marrón clara; los estilos del macho en la placa subgenital son cortos y redondeados, de tamaño desigual; la placa supra anal del macho es redondeada en el ápice. En los últimos estadios juveniles y en el adulto se observa la presencia de dos franjas oscuras paralelas en el pronoto, separadas por una franja de color claro, que recorren longitudinalmente todo el pronoto.

Las cucarachas pueden ser vivíparas ovíparas y ovovivíparas. Las cucarachas vivíparas son aquellas que mantienen los huevos en el oviducto donde reciben los nutrientes necesarios para la maduración de los embriones, luego de lo cual, los juveniles emergen a través de la abertura genital de la madre, a este grupo pertenecen las especies del género *Blaberus* Serville, 1831 (Ramírez 1989). Son consideradas ovíparas a las especies cuya hembra ovipone la ooteca en el medio externo; estas ootecas contienen el agua y vitelo necesario para que el desarrollo embrionario se complete, siendo este el caso del género *Periplaneta* Burmeister, 1838. Las especies ovovivíparas son aquellas especies cuyas ootecas contiene el vitelo necesario para el desarrollo embrional, pero carecen de agua en cantidades suficientes para que este se realice normalmente; las hembras ovovivíparas transportan la ooteca durante el periodo embrionario; un ejemplo son las especies del género *Blattella* Linnaeus, 1751. (Gelves 2012)

II.A.2.) Ciclo de vida de *Blattella germanica*: Longevidad, Ciclo Ootecal y desarrollo Ninfal

La hembra adulta vive aproximadamente 153 ± 9 días y el macho adulto 128 ± 8 días. Las hembras pueden oviponer hasta 5 ootecas o más, siendo el número de ninfas que emergen de la primera ooteca $36,69 \pm 4,31$; $30,88 \pm 3,06$ para la segunda ooteca, $26,93 \pm 4,64$ para la tercera ooteca, $22,87 \pm 3,98$ para la cuarta ooteca y $15,83 \pm 4,22$ ninfas en la quinta ooteca. Las ninfas presentan 6 instares antes de llegar al estado adulto, el cual se alcanza 40 días después de emergidas las ninfas de la ooteca.

El tiempo promedio que se observa la ooteca de *B. germanica* en la abertura genital de la hembra, es de $12,16 \pm 3,90$ días para la primera ooteca; $11,47 \pm 4,48$ días para la segunda, $13,31 \pm 4,71$ días para la tercera, $18,85 \pm 8,60$ días para la cuarta y $14,67 \pm 3,22$ días para la quinta ooteca. El tiempo promedio que tardan las ninfas en emerger de la ooteca es de $17,16 \pm 3,07$ días para la primera ooteca, $16,26 \pm 2,54$ días para la segunda, $15,88 \pm 1,56$ días para la tercera, $14,93 \pm 1,94$ días para la cuarta y $12,67 \pm 6,11$ días para la quinta ooteca (Gelves 2012).

II.B.) Las Cucarachas como organismos portadores y transmisores de enfermedades:

Las cucarachas se definen como una plaga que puede actuar como vector en zonas urbanas (OMS 1990). Entre las afecciones generadas por los blátidos están las reacciones alérgicas. En este sentido, Ramírez (1989) describe:

*“Diversos datos indican que las cucarachas provocan fiebres, asma bronquial, dermatitis y urticaria en individuos susceptibles. Pueden producir alergias por diversos mecanismos: a) por contacto con el insecto cuando camina sobre la persona o se toca; b) por inhalación de sustancias emitidas por las cucarachas; c) por ingestión de alérgenos cuando se comen alimentos parcialmente consumidos por cucarachas y d) por mordedura, los alérgenos que entran en el organismo por medio de las estructuras bucales del insecto. Estudios realizados en Estados Unidos mostraron que los extractos de exuvias y cuerpos de **B. germanica** constituyen alérgenos para muchos pacientes alérgicos”.*

Entre los agentes patógenos transmitidos por estos blátidos se señalan virus, bacterias, parásitos y hongos.

II.B.1.) VIRUS:

Entre los virus más importantes transmitidos por blátidos señalaremos dos, los poliovirus responsables de la Poliomielitis y el hepatovirus responsable de la Hepatitis A.

Poliomielitis: Es producida por el poliovirus. Los estudios por microscopía electrónica revelan que es una partícula de 270 a 300 Å de diámetro, presenta simetría icosaédrica con 32 capsómeros. Contiene una cadena simple de ARN que constituye el 30% del virión, el resto es proteína. La infección es a través del tracto gastrointestinal, por esta razón, también se le conoció originalmente como un enterovirus. La poliomielitis está muy asociada a ambientes de poca salubridad y condiciones de pobreza. En este sentido, las cucarachas pueden actuar como vectores urbanos contaminando los alimentos con este enterovirus; y contrario a lo que muchos piensan, puede ocurrir en adultos, como fue el caso, por ejemplo, del presidente Franklin D. Roosevelt (Davis y col. 1973). La mayor parte de las infecciones (quizás 90%) es subclínica o tan leve que pasa inadvertida. Cuando se desarrolla la enfermedad, el período de incubación varía entre 4 a 35 días, pero suele durar de 7 a 14 días.

Pueden observarse tres tipos de poliomielitis. La abortiva, que es un trastorno febril inespecífico de dos a tres días de duración que carece de síntomas de localización en el SNC. La meningitis aséptica (poliomielitis no paralítica), se caracteriza por signos de irritación meníngea (rigidez, dolor cervical y dorsal), además de los signos de poliomielitis abortiva: la recuperación es rápida y completa, por lo general, en unos cuantos días. La poliomielitis paralítica se produce en menos del 2% de las infecciones, hay signos de irritación meníngeas con parálisis flácida asimétrica sin pérdida importante de la sensibilidad (Kenneth y George 2005).

Hepatitis A: El virus de la hepatitis A es un virus RNA de una sola banda con simetría cúbica y diámetro de 27 nm. Es la causa de lo que antes se denominaba hepatitis infecciosa o hepatitis de incubación breve. Este virus se transmite por vía fecal-oral y los brotes de la enfermedad pueden estar relacionados con alimentos o agua contaminados, por

condiciones de insalubridad, mal manejo de alimentos y por blátidos que puedan actuar como vectores como lo señala Ramírez (1989). La enfermedad es subclínica hasta en la mitad de los adultos infectados. Cuando es sintomática suele manifestarse con fiebre o ictericia. Aunque puede producir la muerte, la regla general es que la enfermedad se cura sola (Kenneth y George 2005).

Una medida importante para reducir el riesgo de contraer esta infección es evitar la exposición a alimentos o agua contaminados (Kenneth y George 2005). En este sentido, existe una relación entre los brotes epidémicos de hepatitis y las chiripas como lo reporta Ramírez (1989) (Tabla 1) por ejemplo, en el caso del proyecto público de viviendas Carmelitos en Long Beach, California, EUA, al realizarse controles de esta plaga y observarse la epidemiología de la hepatitis A.

Tabla 1: Incidencia de Hepatitis A en Proyecto de viviendas Carmelitos, Long Beach, California EUA, en el que se aplicó un insecticida para control de plagas, Población 2800 Habitantes (Tomado de Ramírez 1989)

Control	Sin control de plaga		Aplicación de control de <i>Blattella</i>		
Año	1956	1959	1960	1961	1962
Incidencia	20%	39%	6.6%	3.6%	0,0%

II.B.2.) BACTERIAS:

Entre las bacterias más importantes transmitidas por cucarachas destacan *Shigella dysenteriae* y *Escherichia coli*. En las industrias de alimentos, esta última se ha reportado como un transmisor de verotoxinas que afecta la producción de ganado porcino (Ludek y Coby 2004).



Escherichia coli



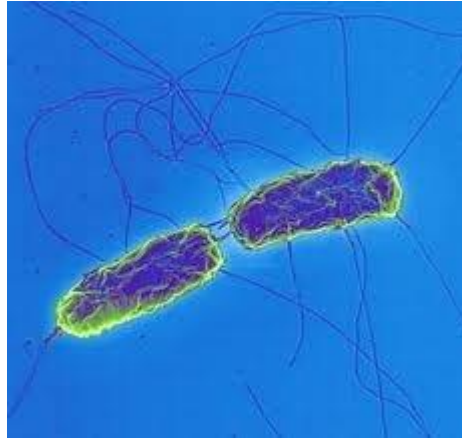
Shigella dysenteriae

Fig. 1: Bacterias comúnmente transmitidas por *Blattella germanica*. (Tomado de: Villarroel 2002)

Las cucarachas pueden de hecho ser más que un simple vector mecánico de enfermedades, especialmente en el caso de las bacterias entéricas (Figura 1). La capacidad que tiene *Blattella germanica* de retener en su tracto digestivo varios agentes patógenos para humanos, como por ejemplo: *Shigella sonnei*, *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *Proteus rettgeri* y *Klebsiella pneumoniae* (Figura 2), por más de 5 días y poder contaminar eficientemente alimentos con coliformes a través de sus excretas y regurgitaciones, indican que las cucarachas pueden servir como reservorio y medio de transporte de estas bacterias (Stek 1982).

Estos agentes patógenos intestinales tienen propiedades invasoras o factores de virulencia, como citotoxinas y enterotoxinas, que se correlacionan con las diarreas que producen. Un ejemplo es *E.coli* 0157:H7 que causa numerosos brotes infecciosos por alimentos contaminados. En general, las cepas invasoras y cito tóxicas producen una diarrea inflamatoria que se llama *disentería*, caracterizada por evacuaciones de excremento suelto que contiene leucocitos, sangre o ambas cosas (Kenneth y George 2005).

Shigella causa la clásica disentería que se transmite de manera típica de persona a persona bajo malas condiciones de saneamiento. La enfermedad se inicia como diarrea acuosa, pero evoluciona hasta convertirse en colitis intensa con evacuaciones frecuentes de pequeño volumen que contiene sangre y pus. A pesar de las propiedades invasoras del microorganismo causante, la infección no suele difundirse fuera del tubo intestinal. La *Shigelosis* es una enfermedad estrictamente humana que no tiene reservorio entre los animales salvo las cucarachas domésticas (Ramírez 1989). La *Shigella* es una de las causas más frecuentes y constantes de diarrea infecciosa en los países tanto desarrollados como en desarrollo de todo el mundo, y se estima que produce unas 600.000 defunciones por año (Kenneth y George 2005)



a) *Salmonella typhi*



b) *Klebsiella pneumoniae*



c) Daño al pulmón por *Klebsiella pneumoniae*

Fig. 2: a) Microfotografía de *Salmonella typhi* (Tomado de: Santander 2003) b) Microfotografía de *Klebsiella pneumoniae* (Tomado de: Pérez 2003) c) Daño pulmonar causado por *Klebsiella pneumoniae* (Tomado de: Pérez 2003).

Entre los protozoarios parásitos transmitidos por las cucarachas tenemos: *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y *Toxoplasma gondii*. Los helmintos representan después de las bacterias, el grupo más importante de agentes patógenos transmitidos por cucarachas. En condiciones naturales se han encontrado huevos de siete especies de helmintos en heces de cucarachas. En condiciones experimentales, se detectaron huevos viables de otras cinco especies en los excrementos de blátidos (Ramírez 1989).

II.C.) Los Insecticidas Piretroides

Los insecticidas piretroides son compuestos orgánicos, con un alto grado de lipofilia (solubles en grasas y compuestos alifáticos), relacionados estructuralmente con los insecticidas naturales extraídos de las flores del *Pyrethrum* (crisantemo). Básicamente, son ésteres formados por el enlace estérico entre un ácido crisantémico y un alcohol. Desde hace 4000 años esta planta, originaria de China, posee una flor que al ser desecada y macerada ha sido utilizada para proteger del ataque de los insectos a los frutos secos que transportaban las caravanas de mercaderes por la antigua ruta de la seda en Asia.

En 1969 se otorgó la patente al primer insecticida piretroide sintético foto estable, la Resmetrina; este se usó con éxito hasta mediados de la década de los 70 del siglo XX. Posteriormente, en 1976 se otorgaron patentes a otros piretroides fotos estables de segunda generación: Permetrina, Cipermetrina y Deltametrina, esta última de la Empresa Roussel-Uclaf (Miller 1988). La Deltametrina se ha utilizado desde finales de la década de los 90 del siglo XX en nuestro país, por estar dentro del grupo de plaguicidas recomendados por la Organización Mundial de la Salud (WHO) y la FAO (Codex Alimentarius), principalmente porque posee poco olor, reducidos niveles de toxicidad a humanos y niveles aceptables de eficacia (DL_{50} en disolventes no acuosos 19 a 34 mg/kg ratones, 31 mg/kg en ratas, suspendida en agua $DL_{50} > 5000$ mg/kg en ratas) (WHO 1998).

Desde entonces se han venido utilizando en programas de Salud Pública para el control de mosquitos vectores de Dengue, Paludismo, Fiebre Amarilla y Encefalitis Equina y para el control del chipo transmisor del Mal de Chagas (Molina y col. 2004). Igualmente, en el sector agrícola para el manejo de plagas de diferentes órdenes, en aplicaciones domésticas,

sanitarias e industriales para el control de moscas, cucarachas, garrapatas, mosquitos, entre otros.

II.C.1.) Clasificación de los insecticidas Piretroides:

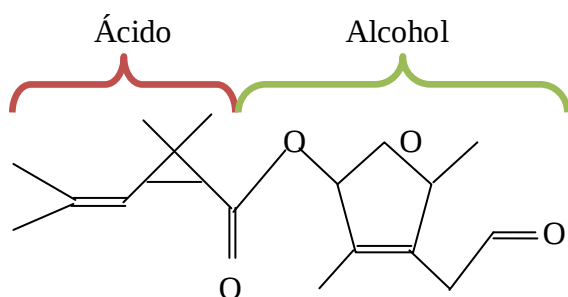
Existen dos clasificaciones: una estructural, que dependiendo del alcohol sustitutivo se pueden clasificar en tipo 1 o tipo 2, y otra cronológica, que se divide en fases o generaciones según su fecha de invención y actividad plaguicida.

II.C.1.1.) Piretroides Tipo I:

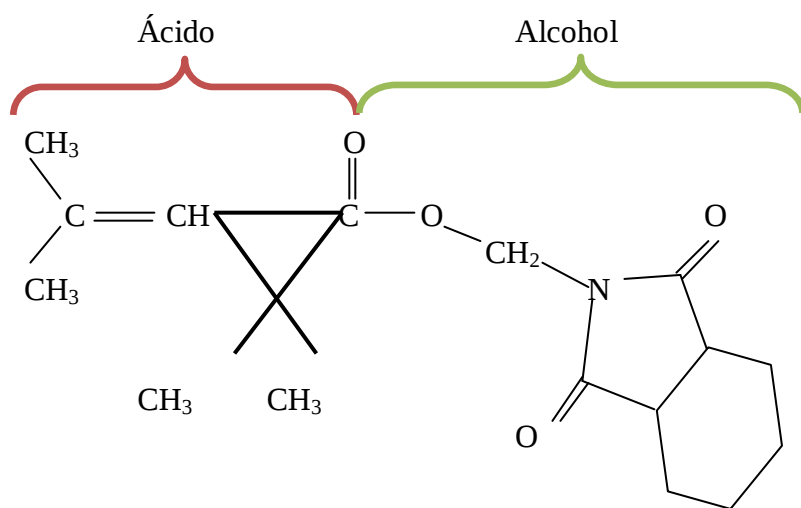
Están definidos de una manera bastante amplia; incluye los piretroides que contienen distintos tipos de alcoholes excepto el fenoxibencil alcohol, como por ejemplo: Aletrina (que fue el primer insecticida piretroide sintetizado en 1949 por Milton S. Schechter), posteriormente la Tetrametrina en 1965, la Resmetrina en 1967 (Fig.3), y por último la Bioaletrina en 1969. Muchos de estos antiguos compuestos Tipo 1 son inestables en condiciones ambientales y esta característica impide su uso en cultivos de campo. (Ware y Whitacre 2004; Bloomquist 2011).

Piretroide de primera generación

ALETRINA



TETRAMETRINA Piretroides de segunda generación



RESMETRINA

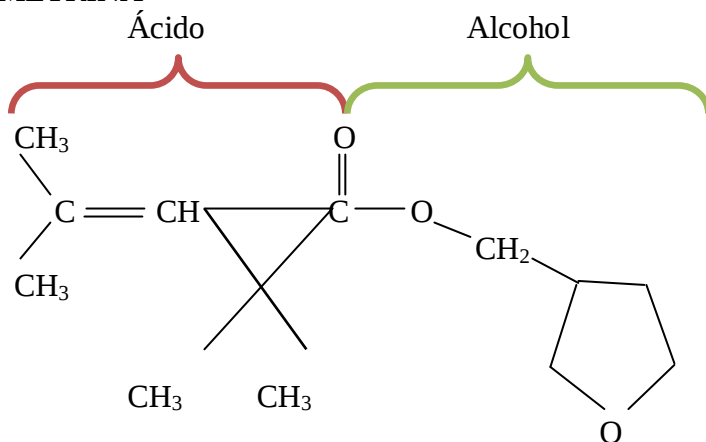


Fig.3: Estructura química de los Piretroides Tipo I: Aletrina, Tetrametrina, Resmetrina. (Tomado de Bloomquist 2011).

II.C.1.2.) Piretroide Tipo II:

Estos pesticidas contienen un alcohol α -ciano-3-fenoxibencil, el cual, aumenta la actividad insecticida aproximadamente por un factor de 10. La introducción del radical fenoxibencil (por ejemplo, Permetrina, Cypermctrina, Deltametrina) (Figura 4) o ciertos alcoholes halogenados (por ejemplo, Teflutrina) mejoraron la estabilidad química y permitieron el manejo de los piretroides para uso agrícola y salud pública. Más aún, en algunos piretroides importantes de este tipo se ha alterado la porción ácida de la molécula para incluir un anillo fenílico (por ejemplo, Fenvalerato y Fluvalinato),

II.C.1.3.) Clasificación de los Piretroides según su evolución:

Los piretroides han tenido una evolución interesante, que ha sido dividida convenientemente en cuatro generaciones. La **primera** generación contiene solo un piretroide, la Aletrina, la cual apareció en 1949. Su síntesis es muy compleja, involucra 22 reacciones químicas para llegar al producto final (Fig 3).

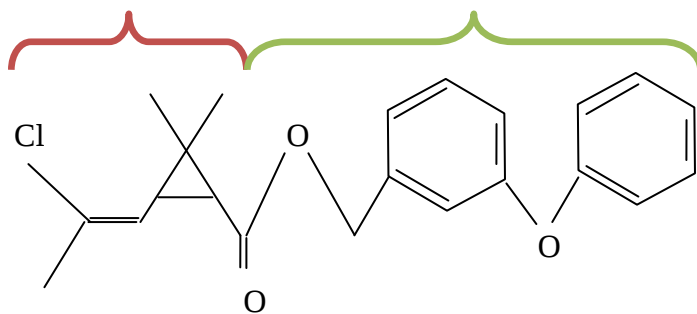
La **segunda** generación incluye Tetrametrina (1965), seguida por Resmetrina (1967) (20 veces más efectiva que el piretro), luego Bioresmetrina (1967) (50 veces más efectiva que el piretro), luego la Bioalethrina (1969), y finalmente Fonotrina en 1973 (Bloomquist 2011).

Piretroide de tercera generación

PERMETRINA

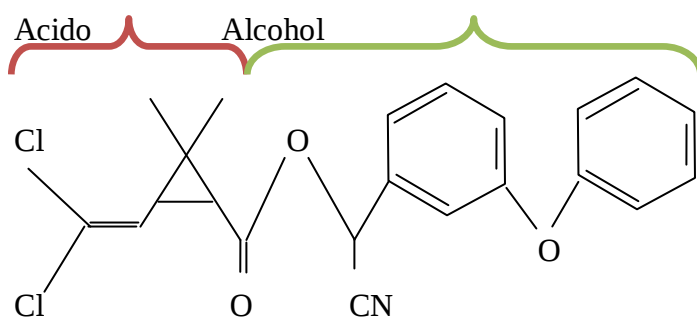
Acido

Alcohol



CIPERMETRINA

(DL₅₀ 250 mg/ml) Piretroides de cuarta generación



DELTAMETRINA

(DL₅₀ 135 mg/ml)

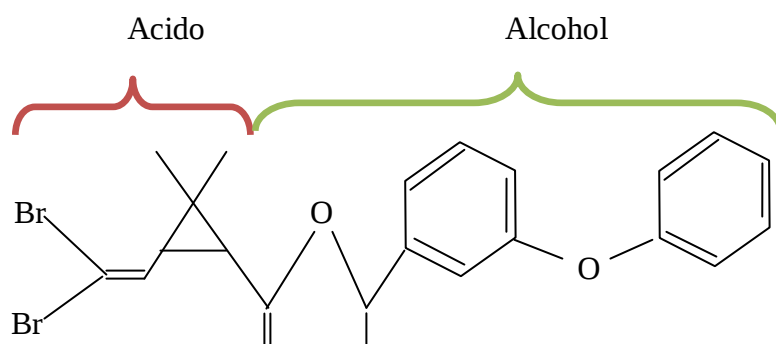


Fig. 4: Estructura química de los Piretroides Tipo II: Permetrina, Cypermetrina, Deltametrina (Tomado de Bloomquist 2011).

La **tercera** generación incluye Fenvalerato y Permetrina, que aparecieron entre 1972-73. Estos se convirtieron en los primeros piretroides agrícolas debido a su excepcional actividad insecticida (0.1 kg ia/ha) y a su foto estabilidad. Estos virtualmente no son afectados por la luz ultravioleta del sol, duran de 4-7 días como residuos eficaces sobre el follaje del cultivo (Bloomquist 2011).

La **cuarta** y actual generación, posee la mayor efectividad con dosis muy bajas ubicada en el rango de 0.01 a 0.05 kg ia/ha. Esta generación incluye Bifentrina, Cipermetrina, Ciflutrina, Deltametrina, *Lambda*-cihalotrina, *Beta*-ciflutrina, Fenpropatrina, Flucithrinato, Fluvalinato (descontinuado), Praletrina, *Tau*-fluvalinato, Teflutrina, Tralometrina y *Zeta*-cipermetrina. Todos ellos son fotoestables, es decir, que en presencia de luz solar no sufren fotólisis y como tienen una volatilidad mínima ofrecen una efectividad residual extendida, hasta de 10 días en condiciones óptimas (Bloomquist 2011).

Adiciones recientes a la **cuarta** generación de piretroides son Acrinatrina, Imiprotrina, registradas en 1998, y *Gamma*-cihalotrina, que está en desarrollo (Bloomquist 2011).

II.C.2.) Modo de acción de los Piretroides:

Según Bloomquist (2011) los signos de intoxicación con piretroides se desarrollan rápidamente y existen varios síndromes de envenenamiento para los dos tipos de compuestos. Los signos típicos de intoxicación por piretroides Tipo I incluyen:

Hiperexcitabilidad y convulsiones en insectos, y temblores de todo el cuerpo en mamíferos. En insectos, los piretroides del Tipo II causan principalmente ataxia y descoordinación, mientras que en mamíferos producen colesteatosis (retorsiones sinuosas) y salivación. En

insectos, los efectos de los piretroides (especialmente los del tipo I) pueden desarrollarse en 1-2 minutos después del tratamiento y pueden resultar en la caída, es decir, la pérdida de la postura normal y de la locomoción. La exposición de humanos a cualquiera de los dos tipos de piretroides puede causar parestesia, una sensación de quemazón o picazón de la piel, pero este efecto es más intenso con los derivados del Tipo II

En términos fisiológicos, la intoxicación con piretroides afecta la generación de impulsos nerviosos tanto dentro del sistema nervioso central como del periférico. En condiciones normales, las neuronas poseen un voltaje que traspasa las membranas, de unos -60 mV, en el lado interno. El impulso nervioso o potencial de acción consiste en una despolarización transitoria (onda positiva) cuya onda de ascenso es impulsada por la conductancia de iones de Na^+ a través de los canales de sodio, seguido por el cierre del mismo y la salida de iones de K^+ por sus respectivos canales hasta repolarizar la membrana (Eckert & Randall 1983). Estos flujos de iones ocurren debido a la apertura y cierre de canales de proteínas empotradas dentro de la membrana nerviosa. El potencial de acción se propaga a lo largo del axón hasta llegar a las terminales nerviosas, donde estimula la liberación de los transmisores químicos (Fig. 5) (Bloomquist 2011).

Potencial de acción y canales dependientes de voltaje

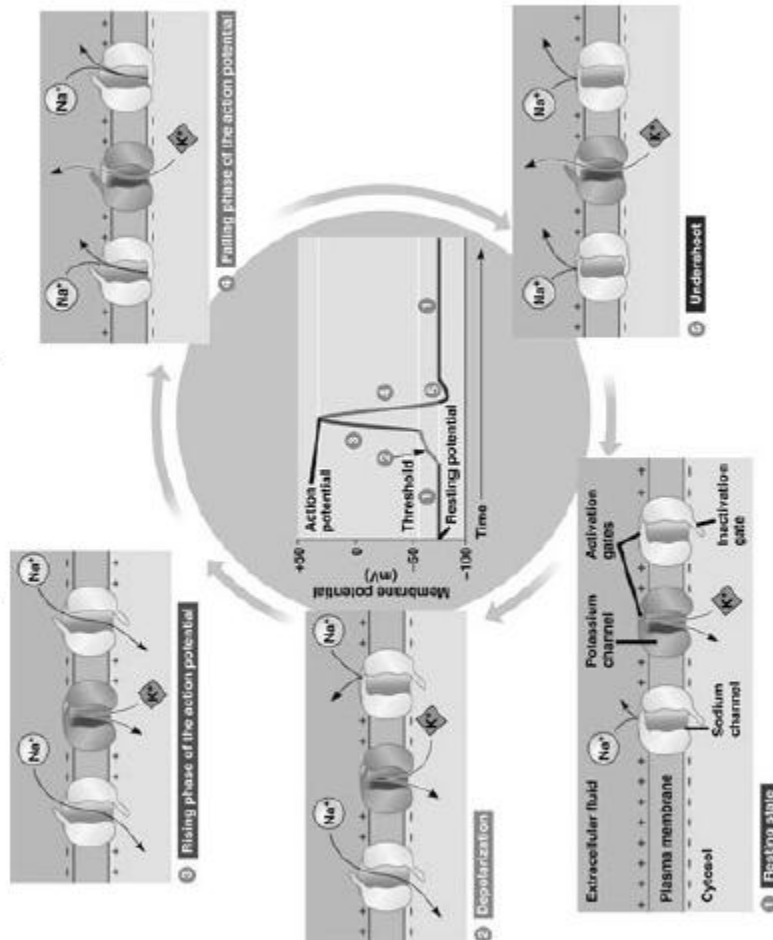


Fig.5: Esquema sobre el Potencial de acción y los Canales dependientes de Voltaje. (Tomado de: Sierra 2007)

Los compuestos del Tipo I inducen picos múltiples de las descargas en los nervios sensoriales periféricos, de los nervios motores y las interneuronas dentro del sistema nervioso central (SNC). En contraste, los piretroides del Tipo II despolarizan el potencial de las membranas de los axones, lo cual, reduce la amplitud del potencial de acción y eventualmente lleva a la pérdida de excitabilidad eléctrica. Todos estos efectos ocurren porque los piretroides prolongan la conductancia de los iones de Na^+ al hacer más lento o impedir el cierre de los canales de sodio (Fig. 5).

Las acciones algo diferentes observadas para los compuestos de Tipo I y Tipo II se deben a las diferencias en el grado del efecto fisiológico: la duración de las corrientes de sodio modificadas para los compuestos del Tipo I dura décimas o centésimas de milisegundos, mientras las del Tipo II duran algunos minutos o más. Estos efectos sobre la corriente de sodio también causan un profundo incremento en la liberación de neurotransmisores de los terminales nerviosos. La sinapsis neuromuscular de los insectos es un blanco especialmente importante para los piretroides, como también, para otros insecticidas (Bloomquist 2011).

II.D.) Otros tipos de insecticidas utilizados para el control de cucarachas:

Actualmente, además de los piretroides, existen una serie de insecticidas en el mercado agroquímico, salud pública, higiene industrial y consumo masivo (nivel doméstico) de diferentes naturalezas, que poseen distintos mecanismos. Algunos de estos productos se vienen utilizando desde antes que los piretroides y otros son de uso reciente.

II.D.1.) Insecticidas halogenados:

Los insecticidas halogenados son productos orgánicos sintéticos que, generalmente, contienen cloro en su molécula y poseen una alta toxicidad para insectos.

Dentro de este grupo existen sustancias con diferentes estructuras que pueden clasificarse de la siguiente forma:

- 1.a DDT y análogos
- 1.b HCH
- 1.c Ciclodienos clorados
- 1.d Terpenos clorados

II.D.2.) Insecticidas Órgano Fosforados o Fosforados Orgánicos:

Los insecticidas órgano fosforados (OFs) son derivados orgánicos del ácido fosfórico con una acción tóxica más o menos selectiva. Estos compuestos se pueden mezclar con agua pero más típicamente son miscibles en solventes orgánicos. Los OFs se pueden clasificar en varios grupos dependiendo de los átomos que estén directamente pegados al fosfato central. Entonces, la mayoría de los OFs existen como fosfatos, fosfonatos, fosforamidatos, fosforotioatos, fosforoditioatos, ortofosfatos; de estos, los tres últimos son los más utilizados en el control de vectores en salud pública, higiene industrial y consumo masivo, (en espray a nivel doméstico) (Bloomquist 2011).

II.D.3.) Los insecticidas Carbamatos:

Los insecticidas carbamatos existen como ésteres del ácido carbámico, y típicamente tienen alguna clase de anillo arilo sustituyente como el grupo que abandona la enzima carbamilada. Estos compuestos son más solubles en solventes orgánicos. Otros carbamatos son de una naturaleza más alifática y pueden tener suficiente miscibilidad en agua para actuar como insecticidas sistémicos efectivos (por ejemplo el Aldicarb). Estos carbamatos a menudo son altamente tóxicos para los mamíferos y, por tanto, deben manejarse con cuidado. Entre los insectos, estos productos son particularmente tóxicos para los himenópteros benéficos tales como las abejas melíferas. Entre los más utilizados en Venezuela tenemos a: Carbaril; Propoxur y Bendicarb (Bloomquist 2011).

Actualmente existen una variedad de nuevos pesticidas que utilizan mecanismos de acción distintos a los piretroides, órganos fosforados y carbamatos; estos productos están compitiendo con los anteriores por el mercado de plaguicidas de la industria agroquímica, cuyos perfiles se ajustan al control de los blátidos. Según Bloomquist 2011: “Se clasifican estos agentes químicos de acuerdo a su actividad biológica”, así tenemos:

1. Piretroides no estéricos: Etofenprox
2. Bloqueadores de canales de Sodio: Indoxcarb
3. Competidores de la acetil colina por receptores nicotínicos: Imidacloprid, Espinosad
4. Competidores de receptores del GABA por bloqueo de canales de Cl⁻Fipronil, Espinosad

5. Inhibición competitiva con la Octopamina: Amitraz
6. Alteración del metabolismo energético, inhibidores respiratorios: Hidrametilnona

II.E.) Resistencia a los Piretroides:

En general, el criterio para definir la resistencia ha sido la supervivencia del 20% o más de los individuos sometidos a ensayos con concentraciones diagnósticas establecidas (WHO 1992). De manera similar la WHO define la resistencia: “Como la característica hereditaria que imparte una tolerancia incrementada a los plaguicidas, de tal forma que los individuos resistentes sobreviven a concentraciones de los compuestos que normalmente serían letales para la especie” (WHO 1992).

Blattella germanica ha desarrollado importantes niveles de resistencia a piretroides en muchas partes del mundo. Básicamente, esta situación se debe a una inadecuada utilización de estos agentes químicos, lo cual comprende, entre otras causas a: dosis subletales, la no observancia de rotación de plaguicidas y errores en el momento de la aplicación de los mismos. Se han descrito niveles disminuidos de susceptibilidad en *B. germanica* frente a Deltametrina y Lambdacihalotrina para Venezuela (Reyes Lugo 1999), y en Singapur, Corea y USA (Chooy col. 2000, Wiew col. 2001 y Chang y col. 2010).

II.E.1.) Mecanismos de resistencia a los insecticidas:

Los mecanismos más frecuentes de resistencia en insectos se pueden clasificar en cuatro categorías (Miller 1988):

1. Resistencia por conducta, en la que el comportamiento del insecto se ha modificado para evadir las áreas tratadas con insecticida a fin de evitar tener contacto con el mismo.
2. Resistencia por penetración, en la que la composición del exoesqueleto del insecto se ha modificado para impedir la penetración del insecticida.
3. El blanco o receptor donde tiene efecto el insecticida se ha modificado para reducir la sensibilidad a la acción del mismo.
4. Resistencia metabólica, en la que las rutas metabólicas de los insectos se ha cambiado en rutas que detoxifican los insecticidas o rechazan el metabolismo de las formas tóxicas de los compuestos aplicados. Las vías de resistencia metabólicas más importantes comprenden oxidasas multifuncionales, glutatión -S-transferasa, esterasas y citocromo P450 en el caso de los piretroides.
5. Resistencia fisiológica, en que las sustancias xenobióticas se almacenan en los cuerpos grasos del insecto con el objeto de evitar sus efectos tóxicos.

II.E.2.) Efecto Knock Down:

El **efecto de volteo** (Knock Down) se definió como la incapacidad que tiene un insecto de caminar normalmente (aunque puede parecer que está vivo), su lectura se realiza una hora después de la exposición al insecticida (Ramsey y col. 2002). Los insectos volteados o moribundos con síntomas de incoordinación se mantienen durante tres días con el fin de

observar si existe una recuperación de las actividades locomotoras del insecto o su mortalidad (WHO 1998).

II.E.3.) Resistencia Cruzada:

Se define como el fenómeno por el cual un insecto que se ha hecho resistente a un insecticida empleado para combatirlo, se vuelve más resistente a varios otros a los que no ha sido expuesto. El mecanismo de resistencia es igual para diversos tipos de insecticidas y puede haber transferencia de material genético del insecto que confiera la resistencia (Scott y col. 1990; Hemingway 1992).

II.E.4.) Dinámica de la Resistencia

La dinámica de los mecanismos de resistencia se presenta esquemáticamente en la Figura 6 (Georghiou 1990). El círculo representa una sección transversal del insecto: la parte izquierda del círculo representa a un insecto susceptible, y la derecha a un insecto resistente. Normalmente, el insecticida penetra rápidamente a través del integumento, y alcanza el sitio de acción. Este sitio puede ser una enzima vital, un tejido nervioso, o un receptor proteico. Las moléculas de insecticidas se unen a su sitio de acción y al alcanzar cierta concentración umbral provocan la muerte del insecto.

Los genes de resistencia se pueden seleccionar en cada etapa de esta ruta: el integumento se puede seleccionar por baja permeabilidad, de esta manera se reduce la velocidad de penetración del insecticida; las enzimas metabólicas nuevas o más abundantes pueden seleccionarse; éstas fraccionan las moléculas de insecticidas de manera más eficiente; y sitios de acción alterados también se pueden seleccionar de tal manera que el

insecticida ya no se une a ellos. De estos tres tipos de mecanismos, el metabolismo y la insensibilidad en el sitio de acción son los más importantes (Tabla 2). Una reducción en la velocidad de la penetración cuticular ayuda a estos dos tipos de mecanismos de manera sinérgica.

Tabla 2. Importancia de los diferentes mecanismos de resistencia a cinco clases de insecticidas (Tomado de: Georgiou 1990).

Mecanismos	Clase de insecticida ^a				
	DDT	OF	CARB	PIR	BT
Metabólicos					
Esterasas		***	*	**	
Monooxigenasas	**	**	***	**	
Dehidroclorinasa	***				
Glutación transferasas		**			
No metabólicos					
Acetilcolinesterasa alterada		***	***		
Canales de sodio alterados	***			***	
Receptor alterado de la toxina					***
Penetración reducida	*	*	*	*	

^a OF = organofosforado; CARB = carbamato; PIR = piretroide; BT = *Bacillus thuringiensis*
 *** = muy importante; ** = importante; * = secundario

Los mecanismos de resistencia se han discutido en varias publicaciones recientes como (Roushy Tabashnik 1990; Cuany y col. 1993; Ketterman y col. 1993, 1993; Mullin y Scott 1990; Otto y Weber 1992; Thompson y col. 1993). Varios avances importantes que ayudan de manera directa a la investigación en manejo de la resistencia se han logrado durante los últimos años. Por ejemplo, se ha progresado en la elucidación de la genética molecular de la resistencia; se han clonado los genes que codifican a los mecanismos de la resistencia, revelando si la resistencia se debe a la sustitución de uno o más nucleótidos (Feyereisen y col. 1989; Amichot y col. 1992; Ffrench-Constant y col. 1993; Taylor y col. 1993; Williamson y col. 1993); a la amplificación génica (Raymond y col. 1985; Devonshire y Field 1991; Ferrari y Georgiou 1991; Mouchés y col. 1990; Oei y col. 1992;), o a otros

medios. Se han determinado los mecanismos de resistencia bioquímicos a nuevos insecticidas, tales como piretroides (Soderlund y Bloomquist 1990; Mullin y Scott 1990; Otto y Weber 1992; Soderlund y Bloomquist 1990), *Bacillus thuringiensis* (Van Rie y col. 1990; Ferr y col. 1991; Gould y col. 1992; y a *Bacillus sphaericus* (Nielsen-Leroux y Charles 1993).

Se han desarrollado pruebas prácticas para la determinación de mecanismos de resistencia específicos y aplicados a un solo insecto. Dentro de ésta se incluye la prueba del papel filtro para la determinación de esterasas no específicas (Pasteur y Georghiou 1989); la determinación de acetilcolinesterasa insensible (AChE) (Dary y col. 1991), prueba del plato de microtitulación para esterasas (Dary y col. 1990), AchE (Brogdon 1988; Hemingway y col. 1986; Raymond y col. 1985), monooxigenases (MFO), glutatión transferasas (GSH), y otros (Georghiou 1990).

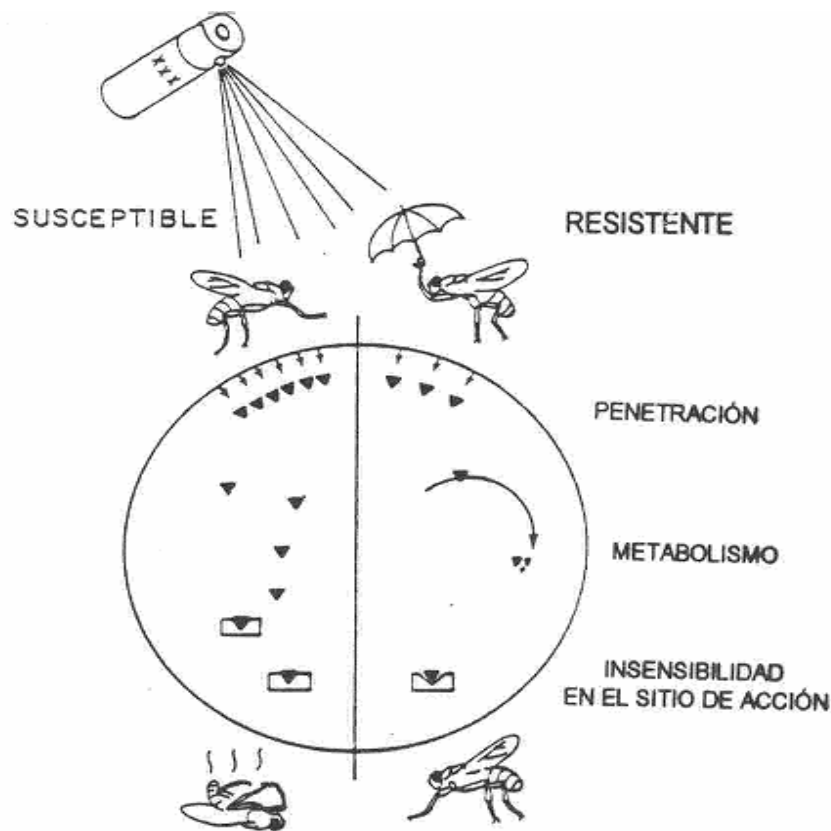


Figura 6. Representación esquemática de los tres principales mecanismos de resistencia en una sección transversal de un insecto susceptible (izquierda) y uno resistente (derecha). (Adaptado de Georgiou 1987).

II.E.5.) Análisis de Eficacia.

Se sabe que el desarrollo de resistencia en una población dada de blátidos depende de la interacción entre la plaga y el piretroide (Deltametrina) que se aplicó para determinar el nivel de susceptibilidad de éstas.

Puede darse la situación de que las chiripas sean resistentes no solo a la Deltametrina sino también hacia a otros insecticidas piretroides, carbamatos y órgano fosforados, como por ejemplo: Tetrametrina, Permetrina, Cypermctrina, Fenvalerato, Propoxur y Diazinon, que han sido utilizados durante muchos años en nuestro país.

Esta resistencia cruzada es el fenómeno por el cual el mecanismo desarrollado por una población de insectos para resistir al insecticida usado para su control, le confiere además resistencia a otros insecticidas no presentes en el ambiente como son: Fipronil, de reciente introducción en el mercado, Imidacloprid, Indoxcarb y Espinosad que aún no se comercializan en nuestro país (Grayson 1960).

Cuando la resistencia surge, una de las alternativas sería revertir el fenómeno, remplazando al compuesto en uso para control por otro al cual no haya resistencia cruzada o adicionar un sinergista, como Butóxido de Piperonilo (PBO), que bloquee el mecanismo detoxificante que causa la resistencia (Strong y col. 1997).

Sin embargo, es poca la información disponible concerniente al uso de tales programas para impedir futuros desarrollos de resistencia, o restablecer susceptibilidades en poblaciones de campo que poseen resistencia a piretroides, órganos fosforados, entre otros.

Miller (1986) y Hemingway 1992, reportaron que los esquemas de alternancia de insecticidas pueden tener un limitado efecto una vez que el nivel de resistencia en la población de *B. germanica* es alto.

HIPÓTESIS

En Venezuela, la Deltametrina es uno de los insecticidas piretroides más utilizado para el control de *Blattella germanica*, principalmente en los ambientes urbanos. Dada esta circunstancia, se espera que la susceptibilidad de los individuos de este insecto sea mayor en aquellos provenientes de poblaciones con baja o nula presión de control y menor en aquellos provenientes de poblaciones con alta presión de control.

Para nuestro caso, esperamos que los individuos de *B. germanica* pertenecientes a la colonia obtenida de una industria alimentaria (Industria Amapola, C.A.) posea bajos niveles de susceptibilidad a la Deltametrina, mientras que los provenientes de las colonias Guatopo (ambiente rural) y Hospital Militar de Caracas sean más susceptibles, especialmente esta última por ser una población con 11 años sin ser sometida a presión control, razón por la cual la consideramos la población control.

OBJETIVO GENERAL

Comparación de los niveles de susceptibilidad a la Deltamentrina en tres colonias de *Blattella germanica* conformadas a partir de individuos provenientes de una Industria de Alimentos, un ambiente hospitalario y una estación de guardaparques en un Parque Nacional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinación de la dosis diagnóstica de Deltametrina presente en las colonias de *B. germanica* conformadas a partir de individuos provenientes de una Industria de alimentos, un ambiente hospitalario y una estación de guardaparques de un parque Nacional.
2. Determinación de los niveles de susceptibilidad de las colonias de *B. germanica* conformadas a partir de individuos provenientes de una Industria de alimentos, un ambiente hospitalario y una estación de guardaparques de un Parque Nacional

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

III.A.) Cría de *Blattella germanica*

Para el desarrollo de este proyecto se tomaron tres colonias de *B. germanica*. La primera se colectó de la cocina del Hospital Militar, ubicado en la Parroquia San Juan de Caracas, en el año 2000. Durante este tiempo se ha mantenido en el insectario del Laboratorio de Entomología Médica Pablo Anduze del Instituto de Medicina Tropical de la Facultad de Medicina de la UCV. Esta colonia no ha tenido, desde entonces, contacto con ningún insecticida, por lo que se espera sea susceptible a la Deltametrina (Tabla 3).

La segunda colonia se conformó con ejemplares colectados en la Industria Amapola, empresa dedicada a la producción de galletas para consumo humano, ubicada en la Urb. Industrial Río Tuy en los Valles del Tuy, entre Charallave y Cúa, Estado Miranda. Se recolectaron estos blátidos con trampas cebadas (frascos de vidrios con vaselina en las paredes y leche en polvo como atrayente). Esta industria cumple con Normas BPF (Normas de Buenas Prácticas de Fabricación), y Sistemas HACCP (Plan para el Análisis de Riesgo y Puntos de Control Críticos). El área de producción, sanitarios, depósitos, almacenes y demás instalaciones se mantienen en buenas condiciones higiénicas. Esta industria, preocupada porque el olor de cualquier sustancia química que se use en las áreas de producción pueda afectar la palatabilidad de sus productos, contrata los servicios de operadoras de control de plagas que aplican tratamientos con piretroides, entre estos la Deltametrina, por su rápida acción y bajo olor y toxicidad y disponibilidad en el mercado.

La tercera colonia de *Blatella germanica* se conformó con ejemplares colectados en el Parque Nacional Guatopo, en la estación de guardaparques “La Colonia”, ubicada en el Estado Guárico, a 20 minutos de Altagracia de Orituco. Esta instalación consta de una planta baja con dos habitaciones, un baño y un depósito en el que se almacena archivo muerto del Instituto Nacional de Parques (Inparques) (estos archivos provienen de diferentes oficinas ubicadas en Caracas); en el piso superior posee una cocina, sala, baño y dos habitaciones más. La captura de blátidos se realizó mediante trampas cebadas y colecta activa en la cocina.

El guardaparques informó que desde hace 18 años ese puesto no se ha fumigado, por tanto, es de suponerse que las chiripas podrían ser susceptibles; sin embargo, no fue posible averiguar si los archivos fueron fumigados en las oficinas de Inparques de Caracas y hayan traído chiripas que hayan tenido contacto con pesticidas (se desconoce el tránsito de estos archivos y las condiciones en que circularon por estas instalaciones) (Tabla 3).

Tabla 3: Institución y ubicación de la misma de donde se colectaron los individuos que conformaron las tres colonias evaluadas. Cada colonia se identifica con sus siglas respectivas

Colonia	Institución	Ubicación
HMC	Hospital Militar de Caracas	Parroquia San Juan, Caracas, Dtt. Capital
IACA	Industrias Amapola C.A.	Carretera Charallave-San Casimiro, Urb. Industrial Río Tuy, Parcela 77 – 78 entre Charallave y Cúa, Edo Miranda
Guatopo	Parque Nacional Guatopo	Estación de guardaparques La Colonia, Edo Guárico.

Todas las cucarachas se mantuvieron a temperatura ambiente de $23,79\text{ }^{\circ}\text{C} \pm$ y una humedad relativa de $65,12\% \pm 8,81\%$ con fotoperíodo de 12:12 horas, en frascos de vidrio

de 3 litros, en cuya boca se colocó vaselina y tapa de tela de tul para evitar el escape de los insectos. Estos se alimentaron con perrarina pulverizada y seca (contenido proteico 20%) y agua *ad libitum*; a los mismos se les realizó el mantenimiento semanalmente según protocolo desarrollado en la SEMPA. Las pruebas se realizaron con adultos machos y ninfas del último instar con un mínimo de 5 días de edad a partir de su llegada al mismo.

III.B.) PRIMER BIOENSAYO: Determinación de la Dosis Diagnóstica

La Organización Mundial de la Salud (2006) recomienda para el control de cucarachas la aspersión de Deltametrina en concentración de 0,1 y 0,25 gr/l (10 mg/ml y 25 mg/ml). Se eligió 20 mg/ml como la dosis del primer bioensayo o dosis diagnóstica.

En primer lugar, se les aplicó simultáneamente a 20 individuos de *Blattella germanica* 1 µl de solución de Deltametrina; la misma se realizó mediante aplicación tópica con la ayuda de una micropipeta y sobre los primeros esternitos ventrales del abdomen. Previamente, los insectos fueron tranquilizados por medio de frío al colocarlos a -4°C en una nevera entre 8 a 10 minutos, luego se voltearon y se les realizó el tratamiento antes de que se recuperaran.

Se cuantificó el número de individuos volteados o en “shock” cada 10 minutos hasta completar una hora de observación; el registro de esos datos permitió la evaluación de los tiempos de paralización o “knock down” 50 y 90 (TKD₅₀ y TKD₉₀).

Luego los 20 insectos se colocaron en recipientes de vidrio de boca ancha de 500 ml de capacidad, con papel plegado en su interior, con vaselina en la boca y cubierto con tela de gasa y suficiente agua, alimento y alojados dentro de cavas de anime a temperatura ambiente y humedad aproximada del 60%. La mortalidad se registró a las 72 horas. Pasado este lapso de tiempo, se colocaron los 20 individuos tratados con la primera

concentración seleccionada de Deltametrina sobre un disco de papel de filtro de 15 cm de diámetro. Se consideraron muertas aquellas chiripas que, de manera espontánea o cuando se les estimuló con un pincel, hasta un máximo de 30 segundos, no lograron salir del disco. Se repitió este procedimiento en todas las colonias de *B. germanica* en estudio. Se realizaron: 4 repeticiones, 4 controles solo con acetona y 4 testigos absolutos sin tratamiento.

La mortalidad se expresó en porcentaje (% M) para cada uno de los tratamientos evaluados (experimentales, controles y testigos absolutos). En todos los casos se promediaron los valores de las cuatro repeticiones correspondientes, estos resultados se presentan en forma de tablas y gráficos.

Se utilizaron los datos de mortalidad a las 72 horas para el cálculo de los parámetros estadísticos DL_{50} y DL_{90} y los respectivos intervalos de confianza. Todos los parámetros se expresaron en mg/ml, así como las curvas dosis-respuesta ó línea log-probit. Los cálculos de los parámetros se realizaron con el Programa Minitab 16 Statistics.

Para la validación de la susceptibilidad de *B. germanica*, la Organización Mundial de la Salud (1998) recomienda los siguientes criterios basados en los porcentajes de mortalidad obtenidos con las dosis diagnósticas (Tabla 4). Las mismas regirán para las mortalidades obtenidas con los tratamientos

Tabla 4: Criterios de susceptibilidad según WHO (1998) con base a la dosis diagnóstica 0,1 – 0,25g/l

% Mortalidad	Criterio
98 – 100	Indica mortalidad (susceptibilidad)
80 - 97	La mortalidad sugiere posibilidad de resistencia que necesita ser confirmada
< 80	Sugiere resistencia

III.C) DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD

La determinación de los niveles de susceptibilidad de las diferentes colonias de *B. germanica* se realizó al exponerlas a diferentes concentraciones de Deltametrina diluido en acetona a partir de una solución madre de 50mg/ml. La Deltametrina utilizada fue de grado técnico (aproximadamente 98,5%) en forma de polvo cristalino blanco inodoro suministrado por Insecticidas Internacionales C.A. (INICA), lote MN 98T5239B, código 190000041.

Basados en los lineamientos (Especificaciones para cepas de laboratorio y de campo) de la WHO (1998) y del Plan de Evaluación de Pesticidas de la citada organización (WHO 2006) para *B. germanica*, a partir de la solución madre se realizó un segundo bioensayo.

La exposición de estos individuos a insecticidas o a una serie de tiempos de exposición, debería producir una línea recta que relacione el logaritmo de la concentración o el tiempo de exposición con la mortalidad, lo cual se conoce como dosis respuesta o línea log-probit. (WHO 1998; Saume 1992).

Se recomienda iniciar la evaluación con un amplio rango de concentraciones a partir del primer bioensayo y, posteriormente, luego de observar los resultados, ir reduciendo o aumentando el rango y seleccionar aquellas concentraciones que produzcan el efecto deseado de mortalidad, preferiblemente el 100% (Saume 1992).

La eficacia se obtendrá para cada una de las concentraciones del insecticida evaluadas respecto a la obtenida de los testigos absolutos, para ello se utilizará el Test de Mortalidad de Abbott; sólo se aplicará cuando la mortalidad del grupo control se ubique entre 5% y 20% (Robertson y Preisler 1992):

$$E = \frac{(\% \text{ de mortalidad grupo experimental} - \% \text{ mortalidad grupo control}) \times 100}{100 - \% \text{ de mortalidad en el grupo control}} = \text{Mortalidad corregida en grupo experimental en } \%$$

Por otro lado, se aplicará Weibull (Método Estadístico Lineal: Intervalos de Confianza, Percentiles DL_{50} y DL_{90} , χ^2 , Desviación Estándar) para establecer si existen diferencias estadísticamente significativas en la mortalidad generada por los diferentes tratamientos (Kalamarakis y Markellou 2007; Sokal y Rohlf 1979). De ser necesario se realizará una comparación de medias por medio del Test de Duncan.

A los valores de susceptibilidad de *Blattella germanica* a la Deltametrina de las Colonias: Hospital Militar de Caracas, Puesto de guardaparque La Colonia (P.N. Guatopo) e Industrias Amapola C.A, obtenidos a través de los ensayos de aplicación tópica, se les realizó el cálculo Probit a las concentraciones aplicadas. Cada Probit presenta sus cálculos paramétricos y gráficos. Así mismo, se estimó la razón de resistencia (la razón de resistencia se calcula dividiendo la DL_{50} de la población de campo entre la DL_{50} de la población de laboratorio), si los valores son mayores de la unidad son indicativos de una mayor tolerancia al insecticida (Saume 1992).

Otro parámetro importante calculado fue el de la pendiente de la curva, a través del método tradicional Curva-Dosis-Respuesta de la curva Probit (Saume 1992). Cabe destacar que una curva bastante inclinada implica que la población de chiripas es homogénea en cuanto a la susceptibilidad a una o varias dosis de un mismo insecticida.

Si la curva es menos inclinada, la población será más heterogénea, y si se desplaza más hacia la derecha respecto a la colonia de referencia, será menos susceptible. Así mismo, se incluye el efecto Knock Down para comparar resultados. (Para los cálculos estadísticos no paramétricos se usó el software Minitab 16 Statistics).

A cada curva Probit se le halló la Ecuación de la Recta mediante el Método Matemático que expresa: “Sea $P(X, Y)$ un punto cualquiera de una recta, se desea obtener la ecuación de la recta, es decir, la expresión algebraica que relaciona las coordenadas de los puntos de dicha recta. Entonces, si la recta corta al eje Y en el punto C (0,b), se tiene:

$$Y - Y_1 = Y_2 - Y_1 / X_2 - X_1 * (X - X_1)$$

Dicha ecuación indica que el punto (X_1, Y_1) está sobre la recta y que su pendiente es m. (Enciclopedia Matemática Mega 2000). Esto aplica ya que la curva Probit tiene puntos percentiles que la forman y se tomó los puntos que corresponden a los de la DL_{50} que sería el punto X_1 , y la DL_{90} que sería Y_1 ; y la DL_{51} sería X_2 y la DL_{91} sería Y_2 . Los puntos coordenados, la pendiente y ecuación de la recta han sido calculados con el software Herramientas para Matemática. Para graficar la pendiente calculada de la curva Probit se hará con el software Geogebra.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

IV.1) DOSIS DIAGNÓSTICA

En la tabla 5 se presentan los resultados de KD (al cabo de una hora) y mortalidad (a las 72 horas) de las tres colonias de *B. germanica* frente a la dosis diagnóstica escogida, correspondiente a los grupos experimentales, control y testigos absolutos.

Tabla 5: Valores de KD y Mortalidades en % de las colonias HMC, IACA, GUATOPO frente a dosis diagnóstica de 20mg/ml (KD 1 hora – Mortalidad 72 horas).

Colonia	% Knock Down			% Mortalidad		
	Grupo Experimental	Control (Acetona)	Testigos Absolutos	Grupo Experimental	Control (Acetona)	Testigos Absolutos
HMC	11,25%	0	0	96,25%	0	0
IACA	10,00%	0	0	83,13%	0	0
GUATOPO	8,75%	0	0	95%	0	0

IV.2.) DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD

A partir de los resultados obtenidos con la dosis diagnóstica y la aplicación de los criterios de la WHO (1998), presentados en la tabla 4, se decidió exponer a los individuos de *B. germanica* de las distintas Colonias a las concentraciones presentadas en la tabla 6, con el fin de obtener el mejor ajuste de la curva Probit. Para la Colonia HMC se seleccionaron las concentraciones 0,5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml y 20 mg/ml; para la Colonia de Guatopo las de 0,5 mg/ml, 5 mg/ml, 12,5 mg/ml y 20 mg/ml y para IACA las de 5 mg/ml, 12,5 mg/ml, 20 mg/ml y 35 mg/ml.

Tabla 6: Rango de Concentraciones seleccionadas para las diferentes Colonias de *B. germanica*

COLONIAS	Concentraciones mg/ml
HMC	0,5 ; 10; 15; 20
IACA	5; 12,5; 20; 35
GUATOPO	0,5; 5; 12,5; 20

IV.2.1.) Mortalidad, Probit y efecto Knock Down de *B. germanica* pertenecientes a la Colonia HMC.

En la tabla 7 se muestran los valores de mortalidad promedio y porcentual de *B. germanica*, pertenecientes a la Colonia Hospital Militar de Caracas (HMC), según las concentraciones de Deltametrina aplicada.

Tabla 7: Valores promedio y porcentuales de Mortalidad a las 72 horas de individuos de *B. germanica* de la Colonia HMC, a distintas concentraciones de Deltametrina.

Concentraciones de Deltametrina	Nº Promedio de chiripas muertas	% de Mortalidad Total
0,5 mg/ml	12,75	63,75
10 mg/ml	16,75	83,75
15 mg/ml	17,00	85
20 mg/ml	19,25	96,25

En la figura 7 se encuentra representada la Curva Dosis-Respuesta de la Colonia HMC, en la cual se observan los valores obtenidos de la DL_{50} 0,12mg/ml y DL_{90} 17,71 mg/ml.

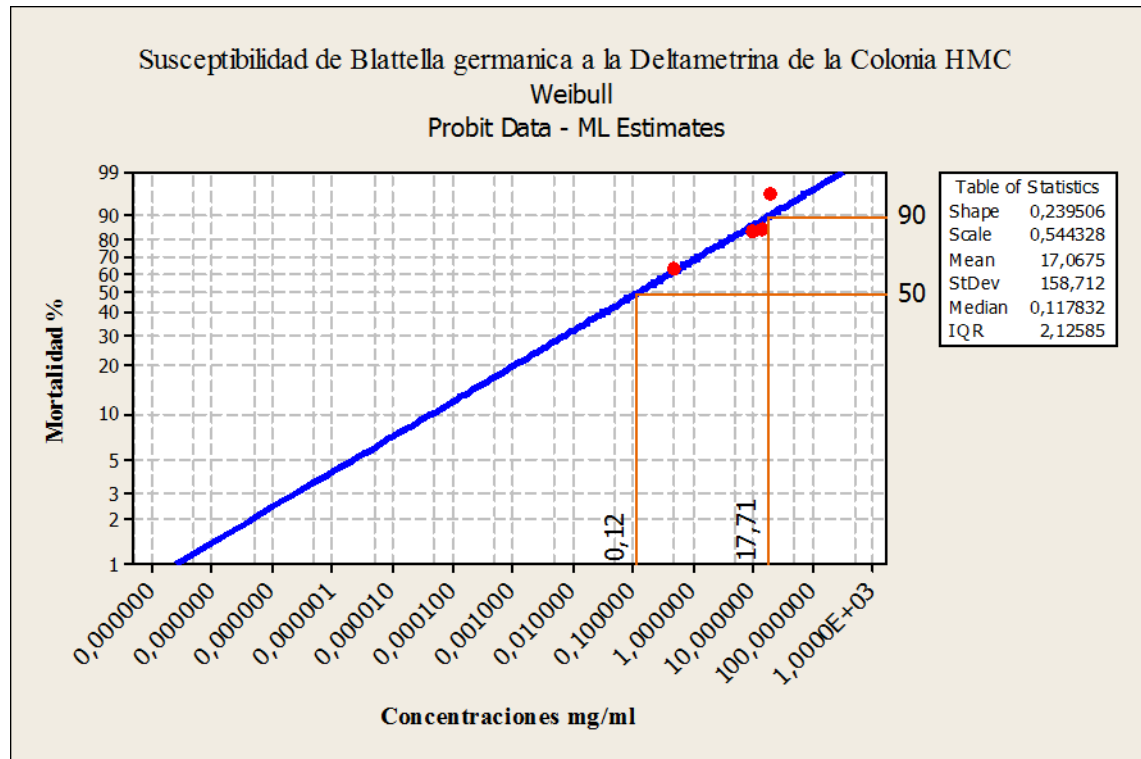


Figura 7: Análisis Probit de la Colonia HMC

IV.2.2.) Pendiente, Ecuación y Punto de corte de la Curva Probit de la Colonia HMC

Se calculó matemáticamente el valor de la pendiente (m) y la ecuación de la curva Probit de la figura 7, la cual se muestra en la figura 8, cuyo valor es $m = 2,37$ y la ecuación de la curva es $Y = 2,37 X + 50$ y corta en el eje Y.

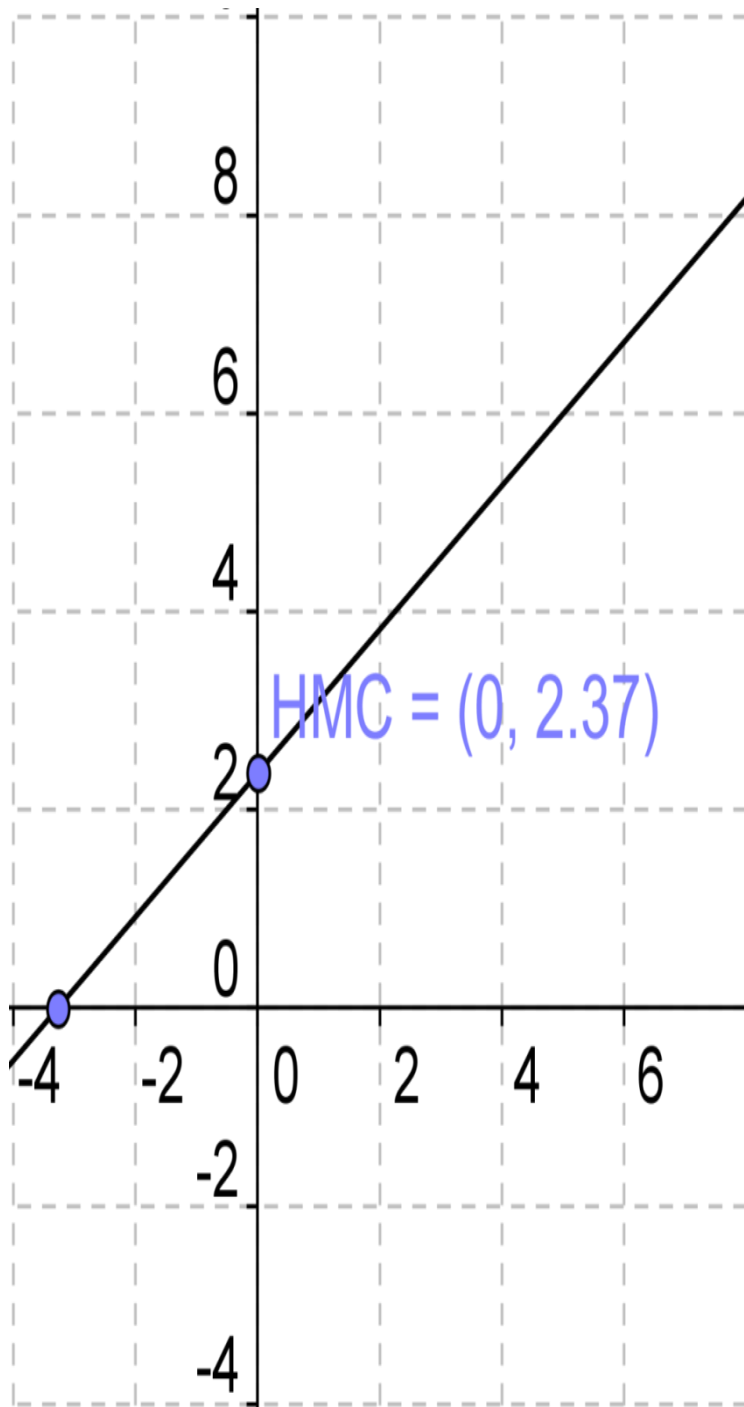


Figura 8: Pendiente de la Curva Probit de la Colonia HMC

IV.2.3.) Efecto Knock Down para la Colonia HMC.

En la figura 9 se observan los valores porcentuales de individuos de *B. germanica* de la Colonia HMC caídos al cabo de una hora, para las distintas concentraciones de Deltametrina. Se puede observar que, contrario a lo esperado, las concentraciones de 0,5 y 15 mg/ml generaron mayor porcentaje de KD que las otras concentraciones, especialmente la de 20 mg/ml.

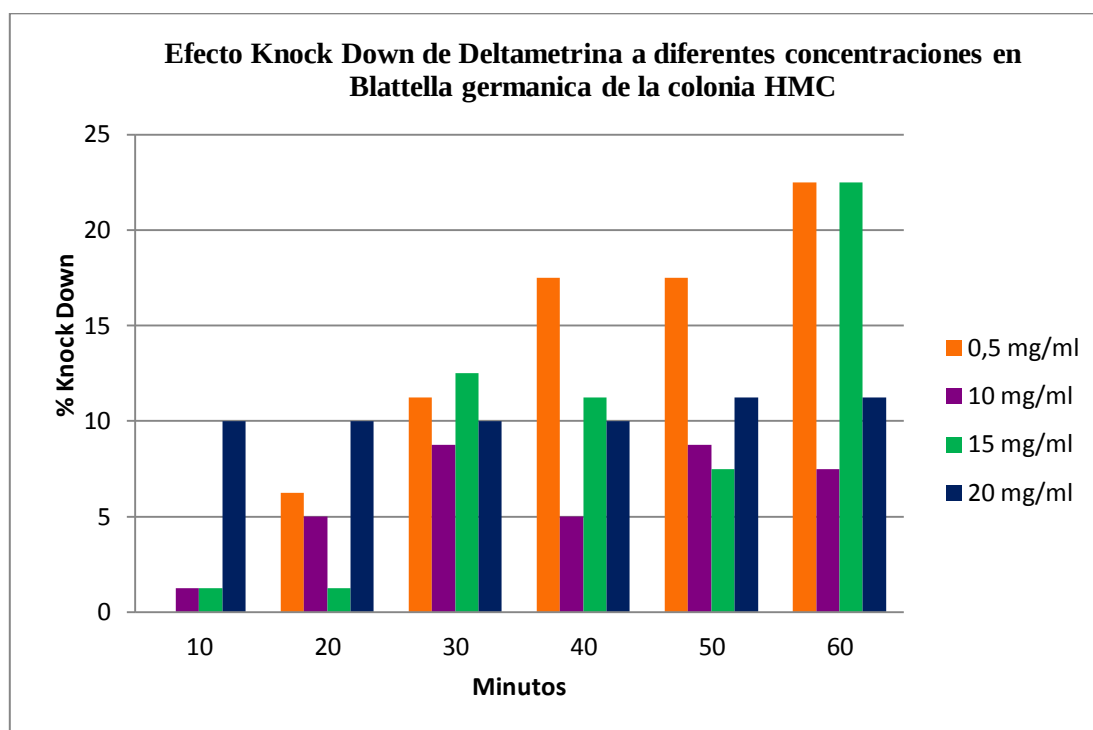


Figura 9: Efecto Knock Down de la Deltametrina sobre *B. germanica* de la Colonia HMC, para las concentraciones 0,5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml y 20 mg/ml.

IV.2.4.) Mortalidad, Probit, y Efecto Knock Down de *B. germanica* perteneciente a la Colonia Guatopo.

En la tabla 8 se muestran los valores de mortalidad promedio y porcentual de *B. germanica* perteneciente a la Colonia Guatopo, según la concentraciones de Deltametrina aplicada.

Tabla 8: Valores promedio y porcentual de Mortalidad a las 72 horas, de individuos de *B. germanica* de la colonia Guatopo, a distintas concentraciones de Deltametrina

Concentraciones de Deltametrina	Nº Promedio de chiripas muertas	% de Mortalidad Total
0,5 mg/ml	4	20
5 mg/ml	12,25	61,25
12,5 mg/ml	16,25	81,25
20 mg/ml	19	95

En la figura 10 se encuentra representada la Curva Dosis-Respuesta de la Colonia Guatopo, en la cual se observan los valores obtenidos de la DL_{50} 2,98mg/ml y DL_{90} 17,11mg/ml.

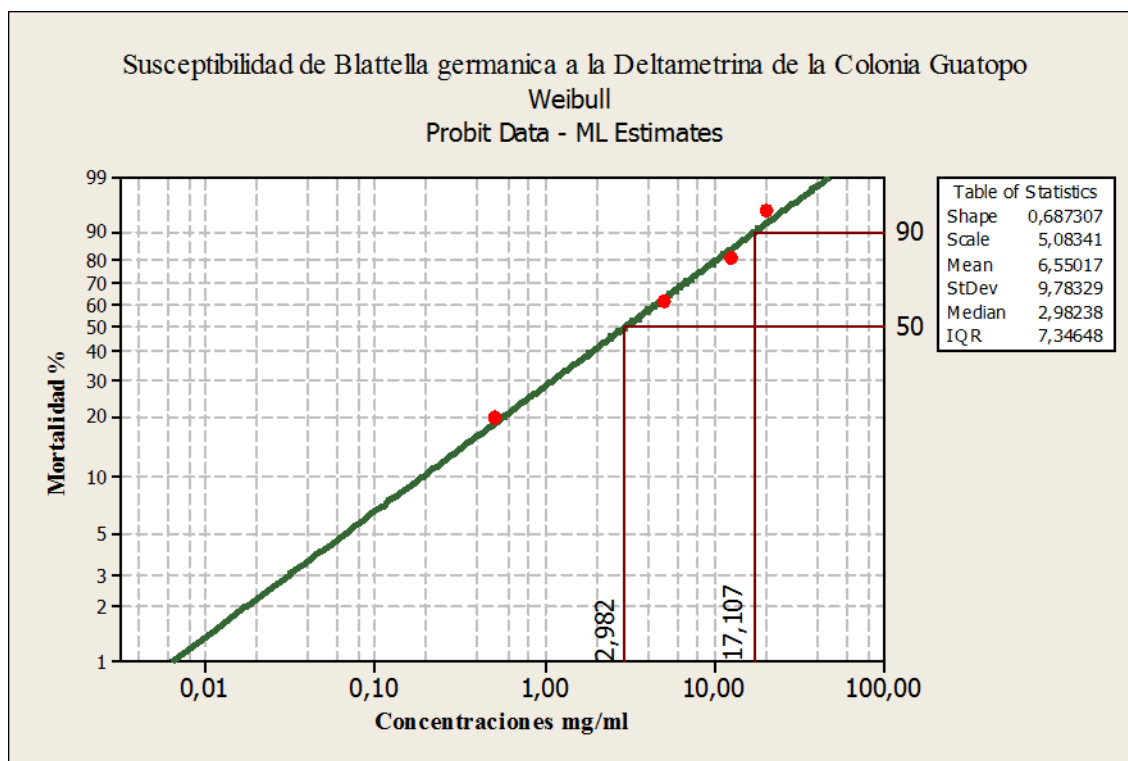


Figura 10: Análisis Probit de la Colonia Guatopo

IV.2.5.) Pendiente, Ecuación y Punto de corte de la Curva Probit de la Colonia Guatopo.

Se calculó matemáticamente el valor de la pendiente (m) y la ecuación de la curva Probit de la figura 10, la cual se muestra en la figura 11, cuyo valor es $m = 2,85$ y la ecuación de la curva es $Y = 2,85 X + 41$ y corta en el eje Y.

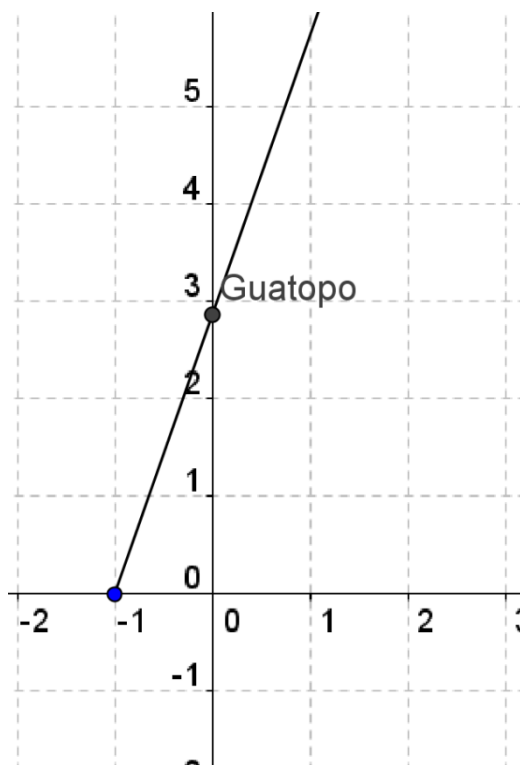


Figura 11: Pendiente de la Curva Probit de la Colonia Guatopo

IV.2.6.)Efecto Knock Down para la Colonia Guatopo.

En la figura 12 se observan los valores porcentuales de individuos de *B. germanica* de la Colonia Guatopo caídos al cabo de una hora, para las distintas concentraciones de Deltametrina. En los primeros 20 minutos no se observó KD frente a la concentración 5 mg/ml; a partir de los 30 minutos se registran los primeros insectos en KD frente a 5 mg/ml. Sin embargo la tendencia general es un incremento del KD a medida que incrementan las concentraciones de Deltametrina y el tiempo. No obstante frente a 5 mg/ml se registran valores de KD superiores a los obtenidos en el resto de las concentraciones.

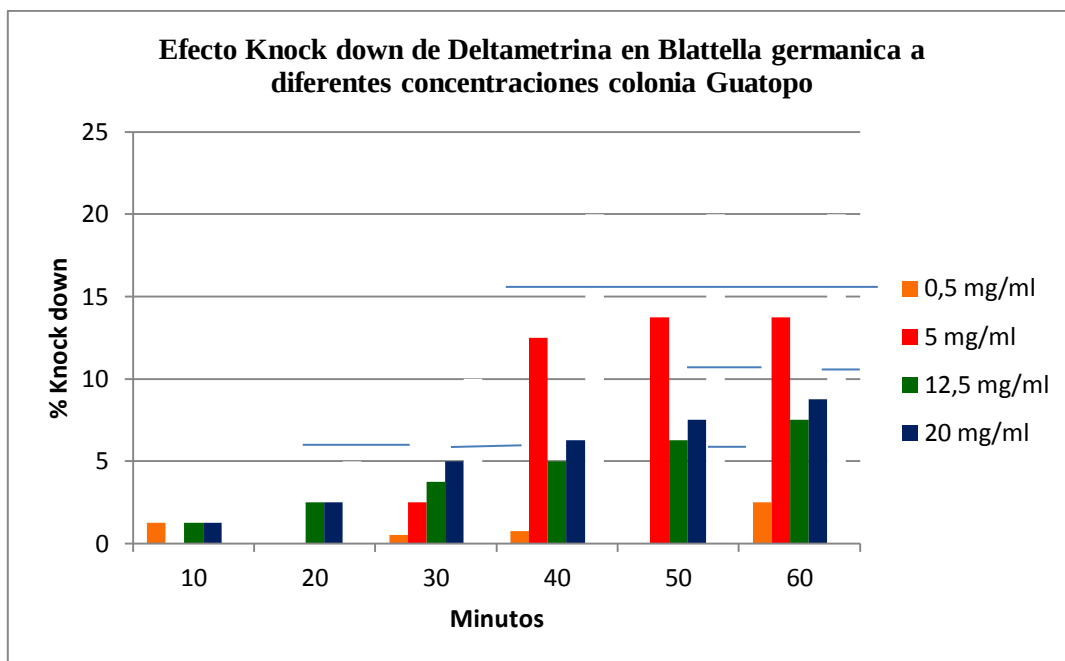


Figura 12: Efecto Knock Down de la Deltametrina sobre *B. Germanica* de la Colonia Guatopo, para las concentraciones 0,5 mg/ml, 5 mg/ml, 12,5 mg/ml y 20 mg/ml.

IV.2.7.) Mortalidad, Probit, y Efecto Knock Down de *B. germanica* perteneciente a la Colonia IACA.

En la tabla 9 se muestran los valores de mortalidad promedio y porcentual de *B. germanica* pertenecientes a la Colonia Industrias Amapola, C.A (IACA), según las concentraciones de Deltametrina aplicada.

Tabla 9: Valores promedio y porcentuales de mortalidad a las 72 horas, de individuos de *B. germanica* de la colonia IACA, a distintas concentraciones de Deltametrina.

Concentraciones de Deltametrina	Nº Promedio chiripas muertas	% Mortalidad Total
5 mg/ml	12,50	62,5
12,5 mg/ml	16,25	81,25
20 mg/ml	16,75	83,13
35 mg/ml	17	85

En la figura 13 se encuentra representada la Curva Dosis-Respuesta de la Colonia IACA, en la cual se observan los valores obtenidos de la DL_{50} 1,69mg/ml y DL_{90} 38,61mg/ml.

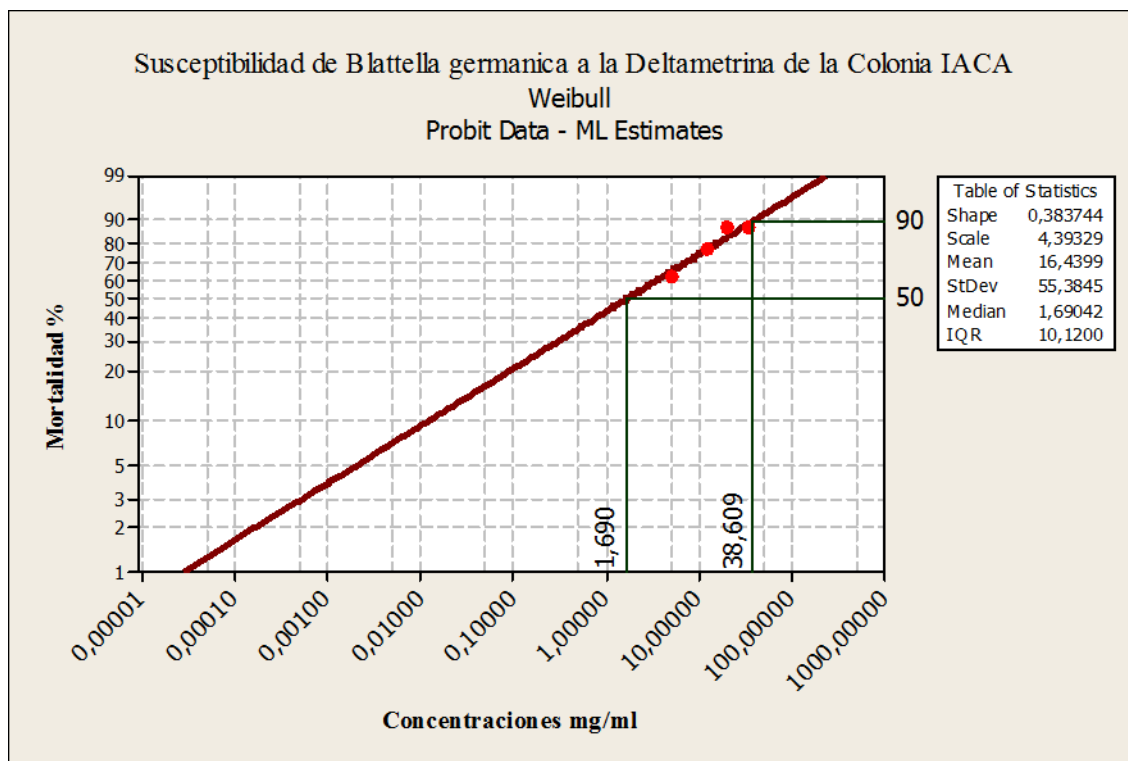


Figura 13: Análisis Probit para la colonia IACA

IV.2.8.) Pendiente, Ecuación y Punto de corte de la Curva Probit de la Colonia IACA.

Se calculó matemáticamente el valor de la pendiente (m) y la ecuación de la curva Probit de la figura 13, la cual se muestra en la figura 14, cuyo valor es $m = 0,85$ y la ecuación de la curva es $Y = 0,85 X + 49$ y corta en el eje Y.

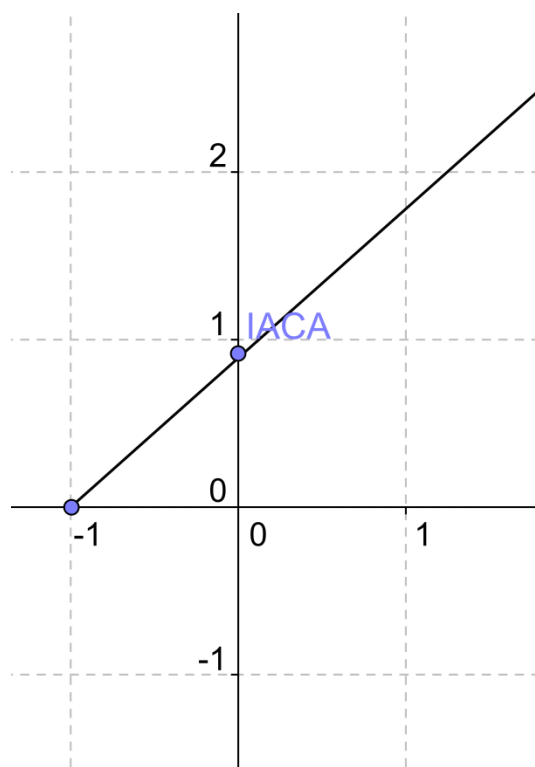


Figura 14: Pendiente de la Curva Probit de la Colonia IACA

IV.2.9) Efecto Knock Down para la Colonia IACA.

En la figura 15 se observan los valores porcentuales de individuos de *B. germanica* de la Colonia IACA caídos al cabo de una hora, para las distintas concentraciones de Deltametrina. En los primeros 30 minutos se observa un bajo KD para las concentraciones 12,5 mg/ml, 20 mg/ml y 35 mg/ml, en los siguientes minutos se incrementa el efecto KD. Por otro lado, se aprecia que para la concentración de 5 mg/ml el KD comienza a aumentar de manera consistente desde los primeros 20 minutos alcanzando un valor máximo de 23% a la hora.

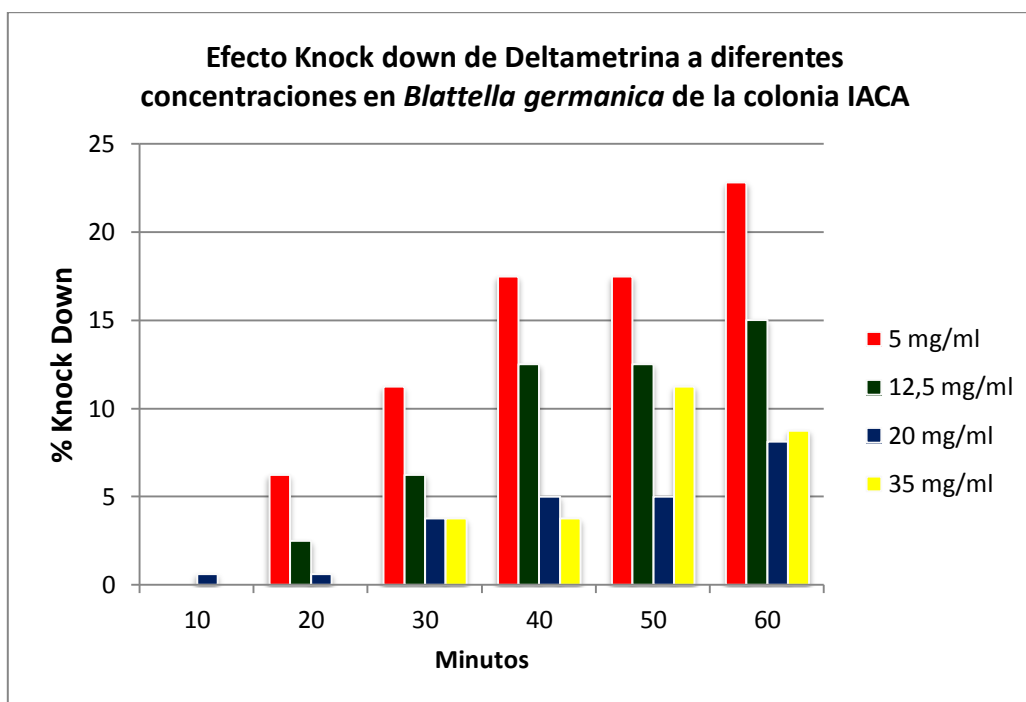


Figura 15 Efecto Knock Down de la Deltametrina sobre *B. germanica* de la Colonia IACA para las concentraciones 5 mg/ml, 12,5 mg/ml, 20 mg/ml y 35 mg/ml.

IV.3.) DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA

En la siguiente tabla 10, se resumen los valores DL_{50} y DL_{90} obtenidos para las tres distintas colonias tratadas con Deltametrina.

Tabla 10: Valores de la dosis letal 50 y 90 con sus respectivos Intervalos de Confianza IC (Cálculos por Minitab 16 Statistics).

COLONIA	DL_{50}	DL_{90}
HMC	0,12 (0,0065-0,4176)	17,71 (9,552-50,1591)
Guatopo	2,98 (2,0469–3,9301)	17,11 (13,2447–23,9309)
IACA	1,69 (0,1790–3,6946)	38,61 (24,6808–116,483)

De la Tabla 10 se desprende que el menor valor de DL_{50} se obtuvo en la Colonia HMC y la mayor en la Colonia Guatopo; en cuanto al valor de la DL_{90} el menor se obtuvo en la Colonia Guatopo y el mayor en la Colonia IACA.

Los porcentajes promedio de mortalidad obtenidos por la aplicación de la Deltametrina sobre las chiripas de Guatopo e IACA se muestran en la tabla 11. Los resultados muestran que en estas colonias recolectadas en campo, la mortalidad fue inferior a la colonia HMC (Laboratorio), sugiriendo posible resistencia en las dosis evaluadas, según criterios de la WHO 1998. Sin embargo, IACA presenta un porcentaje de mortalidad mucho más cerca del criterio que sugiere resistencia, que la de Guatopo (tabla 4).

Debido a que los grupos control (testigos absolutos y los tratados con acetona), de las Colonias HMC, Guatopo e IACA presentaron mortalidad cero (0), no se utilizó dicho ajuste, ya que solo aplica si los grupos control presentan mortalidad entre 5% y 20%(tabla 5) (Robertson y Preisler 1992).

A continuación, se muestra en la figura 16 la gráfica de las tres pendientes de las Colonias HMC (2,37), Guatopo (2,85) e IACA (0,85) en un eje cartesiano con coordenadas para poder realizar las comparaciones entre las curvas dosis-respuesta de los Probit, en cuanto a las características de homogeneidad – heterogeneidad. Dichas comparaciones se tratarán con detalle en la Discusión (Capítulo V).

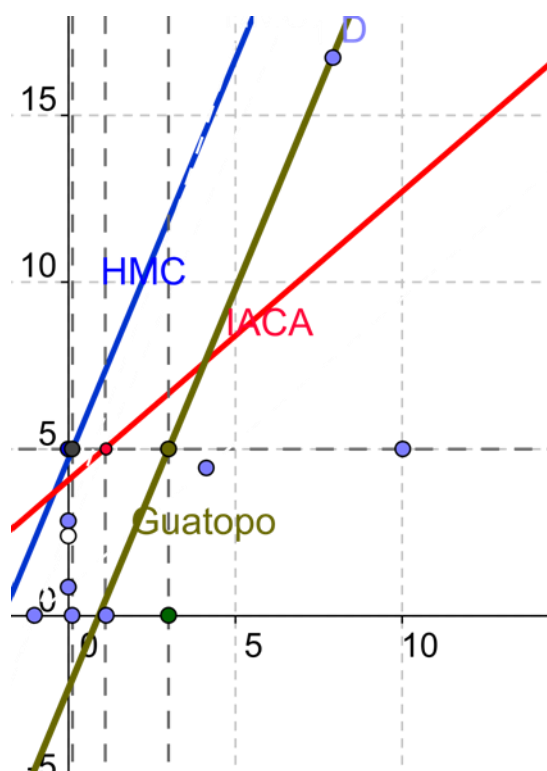


Figura 16: Pendientes de las Colonias HMC, Guatopo e IACA pertenecientes a la *B. germanica*

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

V.1.) Dosis Diagnóstica

Tras observar los resultados obtenidos en la tabla 5, se aprecia que para la dosis de 20mg/ml, el efecto “Knock Down” (KD) o caída al cabo de una hora fue bajo y muy similar en las tres colonias de *B. germanica* tratadas. Por otro lado, la mortalidad a las 72 horas fue mayor respecto al efecto KD, corroborando lo señalado por Lionel y *col.* (2000), quienes sugieren que la Deltametrina tiene bajo efecto KD y alta letalidad. Los piretroides con un alto KD son normalmente menos lipofílicos que aquellos con alta actividad letal. La polaridad óptima para KD es mayor que la necesaria para la letalidad y los compuestos más polares penetran mejor el sistema nervioso para lograr el citado KD.

V.2.) Determinación de la susceptibilidad

A partir de los resultados obtenidos para la dosis diagnóstica de 20mg/ml (tabla 5), se optó por escoger las concentraciones presentadas en la tabla 6, tratando de obtener valores por debajo y por encima del 50% de mortalidad, buscando el mejor ajuste de la curva Probit (Saume 1992).

Para las colonias HMC y Guatopo se escogieron concentraciones menores de 20mg/ml debido al alto porcentaje de mortalidad obtenido para ambas en dicha concentración; para la colonia IACA se seleccionó una concentración máxima de 35mg/ml debido al menor porcentaje de mortalidad presentado para la concentración de 20mg/ml, así como dos concentraciones menores a esta última.

V.2.1.) Efecto “Knock Down” (KD) de la Deltametrina sobre individuos de *B. germanica* pertenecientes a las tres colonias evaluadas.

Tal y como se señaló anteriormente sobre el efecto KD obtenido para la dosis diagnóstica, la comparación de los resultados conseguidos de las 3 colonias evaluadas muestra que efectivamente la Deltametrina posee baja eficacia KD, tal y como lo señalan Lionel y *col.* (2000). Los resultados logrados fueron bastante variables y en la mayoría de los casos los mayores valores de KD comienzan a observarse a partir de los 30 minutos posteriores a la aplicación tópica de las distintas concentraciones. Por otro lado, y contrario a lo esperado, las concentraciones menores a la dosis diagnóstica (20mg/ml) fueron las que provocaron mayor efecto KD, principalmente entre los 40-60 minutos posteriores a la aplicación. Estos resultados parecen mostrar la existencia de mucha variabilidad entre los individuos de las distintas colonias. Sin embargo, tampoco descartamos que hayan ocurrido problemas inherentes a la metodología utilizada, en especial la exposición de las chiripas a bajas temperaturas, previos a la aplicación del insecticida.

V.2.2.) Mortalidad de *B. germanica*, DL_{50} , DL_{90} y curvas Probit obtenidas para las 3 colonias evaluadas.

En primer lugar se observa que para ninguna de las 3 colonias evaluadas se logró alcanzar una mortalidad igual o mayor al 98%, valor mínimo sugerido por la WHO (1998) para indicar susceptibilidad a un insecticida. Ninguna de las concentraciones mayores evaluadas logró superar el 96% de mortalidad, siendo los valores obtenidos en las colonias HMC y Guatopo las más cercanas entre sí (96% y 95%, respectivamente), para la concentración de 20mg/ml. La colonia IACA apenas obtuvo un 85% de mortalidad para su máxima concentración evaluada de 35mg/ml.

De los resultados sobre porcentaje de mortalidad a las distintas concentraciones evaluadas se puede observar que, si bien las colonias HMC y Guatopo obtuvieron un porcentaje muy similar para la máxima concentración de 20mg/ml, los resultados para las concentraciones menores a esta fueron mucho más disímiles. De hecho, la colonia HMC presentó porcentaje de mortalidad superior al 50% para la menor concentración, la de 0,5mg/ml, resultado no observado para la colonia Guatopo, cuyo porcentaje de mortalidad para dicha concentración fue apenas de 20%. Para las otras dos concentraciones también se observaron diferencias entre estas 2 colonias.

Algunos porcentajes de mortalidad para las concentraciones intermedias evaluadas para la colonia Guatopo fueron bastante similares a las presentadas por la colonia IACA, específicamente las de 5mg/ml y 12,5mg/ml. Estos resultados parecen sugerir que la

colonia Guatopo es más o menos intermedia, en cuanto a la susceptibilidad a la Deltametrina, entre las colonias más disímiles entre sí, como lo son la HMC e IACA.

Saume (1992) señala que la determinación de las DL_{50} y DL_{90} , es la única medida cuantitativa para determinar el cambio en la susceptibilidad de una población de individuos a un componente químico en particular; para ello, se debe disponer de poblaciones susceptibles. Tal fue el caso de nuestra colonia HMC, considerada en este caso como la colonia de laboratorio. Los valores de $DL_{50} = 0,12\text{mg/ml}$ y $DL_{90} = 17,71\text{mg/ml}$ (Fig.7) obtenidos para esta colonia, aparecen claramente dentro del rango de concentración recomendada por la WHO (1998, 2006): 10-25mg/ml. Esta colonia respondió de esta manera debido a que ha estado aislada del contacto con piretroides durante más de 11 años; sin embargo, no es totalmente susceptible pues la misma descende de individuos provenientes de la cocina del Hospital Militar de Caracas, las cuales estuvieron bajo presión de control de plagas efectuada en la misma durante muchos años.

La colonia Guatopo no presentó la misma tendencia observada en la colonia HMC para la menor concentración evaluada. La proyección de la curva Probit (Fig.10) indica una $DL_{50} = 2,98\text{mg/ml}$, muy por encima de la de HMC (Fig.7) y de la de IACA, inclusive ($DL_{50} = 1,69\text{mg/ml}$)(Fig.13). Sin embargo, el valor de la $DL_{90} = 17,11\text{mg/ml}$ fue claramente inferior a la de la colonia IACA ($DL_{90} = 38,61\text{mg/ml}$) y prácticamente similar a la de la colonia HMC.

Este disímil resultado obtenido para la colonia Guatopo parece estar sujeto a la variabilidad que presentan los individuos colectados para la conformación de la misma,

efectuado en la cocina de la estación de guardaparque. En las instalaciones de dicha estación se observó que almacenaban archivos desincorporados de las oficinas principales de Inparques. Aun cuando el personal que allí labora manifestó que desde hace más de 18 años no se aplica fumigación a la estación, se presume que estos individuos recolectados pudieron provenir de parentales traídos en dichos archivos, los cuales probablemente tuvieron contacto con piretroides y otros plaguicidas en las instalaciones administrativas centrales ubicadas en Caracas, bien sea por algún plan de control efectuado por empresas especializadas, o bien por el uso particular de insecticidas de uso doméstico, con componentes químicos como la Aletrina, Bioresmetrina, Aflutrina, entre otros, o con cebos formulados en gel a base de otros productos, y aplicados por el mismo personal que allí labora. Igualmente, el transporte cotidiano de insumos y alimentos para las instalaciones del guardaparque, son otra posible vía de entrada de nuevos individuos.

Este tipo de situaciones es bastante común. Por ejemplo, Chang y col. (2007) encontraron resistencia cruzada a piretroides en individuos de *B. germanica* recolectados en cocinas de restaurantes en Corea del Sur, haciendo referencia a la poca efectividad en el control de esta plaga con piretroides y que fueron reportadas por empresas de fumigación privadas. Igualmente, y para esos mismos locales, Chang y col. (2010), evaluando 7 colonias de *B. germanica* colectadas y a las que se trataron tópicamente con Bifentrina, Clorpirifos, Metil-clorpirifos y Permetrina diluidos en acetona, reportaron que existen diferentes mecanismos de resistencia involucrados.

Por otro lado, Wei y col. (2001) encontraron baja susceptibilidad a la Permetrina y Deltametrina en individuos de *B. germanica* colectados en cocinas en Alabama, EEUU, hallando niveles de resistencia cruzada con Fipronil, un aril heterocíclico antagonista de la GABA. Al respecto, Bloomquist (2011) señala que este compuesto se utiliza con frecuencia en oficinas, cocinas de restaurantes y en hogares, debido a su baja toxicidad, fácil aplicación y efectividad. El uso de este tipo de producto es muy difundido a nivel comercial desde hace poco más de 10 años, pues contribuye en el control de las chiripas con piretroides, tal y como lo señalan Wei y col. (2001).

Muy probablemente la colonia Guatopo representaría un ejemplo de cómo se recupera la susceptibilidad con el tiempo, en ausencia de la presión selectiva de estos agentes químicos. De hecho, Scott y col. (1990), trabajando con 4 colonias diferentes de *B. germanica*, señalan que uno de los mecanismos de resistencia más importante a piretroides como la Fenflutrina, Cypermctrina y Deltametrina, es el gen Kdr, el cual mostró insensibilidad a la acción de estas sustancias, recuperándose la misma una vez que cesa la presión selectiva de estos químicos. Según Hemingway (1992), esta resistencia a los piretroides es un rasgo heredado en el gen Kdr, el cual es de carácter recesivo en poblaciones de mosquitos.

La colonia IACA presentó bajos porcentajes de mortalidad a las distintas concentraciones, y aún con una máxima de 35mg/ml no superó el 85%, valor muy cercano al citado por la WHO (1998) como indicativo de ser una colonia resistente a la Deltametrina (<80%) (tabla 4).

Asimismo, esta colonia presentó la curva Probit con la pendiente menos inclinada (Fig. 14), característica de una población heterogénea, con individuos susceptibles y resistentes en ella y con alta presión selectiva. Esta característica está sustentada en el hecho de que las áreas de producción, almacenamiento de productos terminados, depósitos, vestidores, entre otros, han sido tratados con piretroides como la Deltametrina, Lambdacihalotrina y Cypermetrina cada 15 días, a una concentración del 0,05% y dosis de 20mg/m² aproximadamente, aplicados con bombas de dispersión de gotas gruesas. Otras áreas, como los drenajes, talleres, depósitos de desechos, se tratan con insecticidas órgano-fosforados. No se observó ningún plan de rotación de plaguicidas en la planta, salvo el de cambiar un tipo de piretroide por otro. Esto incrementa los niveles de resistencia hacia este tipo de insecticidas por parte de la plaga, tal y como lo reportan Chang y *col.* (2007).

Por otro lado, nos encontramos que las faenas de limpieza y desinfección contribuyen a exponer a las chiripas a concentraciones sub-letales, pues dichas faenas lavan el insecticida aplicado a las superficies de los equipos e instalaciones después de ser fumigados, favoreciéndose así el desarrollo de individuos con resistencia.

V.2.3.) Homogeneidad y heterogeneidad de las distintas colonias evaluadas.

Las características de homogeneidad y heterogeneidad de las poblaciones son los indicios que señalan las características de susceptibilidad y resistencia a los compuestos químicos, tal y como lo señala Saume (1992). Como se puede apreciar, las curvas Probit de las colonias HMC y Guatopo fueron más similares entre sí que respecto a la de la colonia IACA (Fig. 16) y describen a 2 poblaciones más homogéneas y con grados de susceptibilidad a la Deltametrina más similares. Esto indica que, a pesar de las pequeñas variabilidades en sus respuestas a los tratamientos, estas poblaciones se han vuelto más susceptibles a la Deltametrina debido a la suspensión de presión selectiva, al no estar en contacto con el insecticida (Scott y *col.* 1990). No es el caso de la colonia IACA, la cual presenta una pendiente de la curva menos inclinada, característica de una población heterogénea, con individuos susceptibles y resistentes, con alta presión selectiva.

Esta población heterogénea de la colonia IACA muy probablemente tiene su origen en dos factores. El primero debido a la presión selectiva de los insecticidas que se aplican en la industria de galletas para el control de plagas, en los que probablemente se ha desarrollado resistencia a piretroides (Chang y *col.* 2007, 2010; Saume 1992), pero por otro lado, en esta población aún existen individuos susceptibles, razón por la cual la población no es homogénea y la pendiente de la curva Probit es leve. El segundo factor, no menos importante, es el flujo génico que seguramente ocurre en esta población, al entrar en contacto con individuos provenientes de otras industrias o localidades cercanas o lejanas. Esto ocurre porque en toda actividad fabril entran y salen materiales de todo tipo, por ejemplo, el ingreso de materia prima, insumos, papelería, entre otros, que son traídos en

distintos contenedores como cajas, cubetas, cajones o paletas, fabricados con distintos materiales como cartón, plástico y madera. Todos estos recipientes le brindan refugio, transporte, alimento y lugares de reproducción a la *B. germanica*. Al ser colocados en diferentes zonas de la industria (depósitos, áreas de producción y sanitarios), facilita la dispersión de esta plaga por toda la instalación y equipos. Esto permite el desarrollo de la hibridación de las diferentes poblaciones que interactúan allí (Crissman y col. 2010).

Lamentablemente, no se tiene conocimiento del perfil de las poblaciones de *B. germanica* que ingresan a la planta por estas vías, en cuanto a cuáles insecticidas son susceptibles y a cuáles tolerantes o resistentes. No hay información de cuáles mecanismos de resistencia están involucrados: gen Kdr, citocromo P₄₅₀monooxigenasa, hidrolasas y esterasas (Miller 1988, Dong y col. 1988, Wei y col. 2001, Pridgeon y col. 2003). Sin embargo, a la luz de nuestros resultados, no dudamos que alguno o algunos de los mecanismos de resistencia antes señalados deben estar presentes en la población IACA.

Esta posible variación en la población de *B. germanica* contribuye al rasgo heterogéneo de la misma, tendiendo con el tiempo a hacerse más homogénea en la medida que se haga más resistente por la presión de los insecticidas. A medida que esto ocurra, la gráfica de su curva Probit se hará más inclinada y se desplazará más hacia la derecha.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

*- Se determinó que el efecto de caída o “Knock Down” (KD) de la Deltametrina fue muy bajo en las tres distintas colonias de *Blattella germanica* evaluadas. Asimismo, y contrario a lo esperado, las menores dosis fueron las que presentaron mayores valores de KD y 30 minutos posterior a la aplicación del piretroide.

*- Los valores de porcentaje de mortalidad de *B. germanica* a las 72 horas de aplicada la Deltametrina, fueron mayores que los porcentajes de KD obtenidos.

*- Las colonias HMC y Guatopo tuvieron alto porcentaje de mortalidad para las dosis de 20mg/ml, valor dentro del rango de dosis diagnósticas sugeridas por la WHO. La colonia IACA obtuvo menor porcentaje, por lo que tuvo que incrementarse la dosis diagnóstica (35mg/ml) que permitiera ajustar la curva Probit.

*- Ninguna de las 3 colonias evaluadas tuvo una mortalidad igual o mayor al 98%, valor mínimo sugerido por la WHO para indicar susceptibilidad a un insecticida. Ninguna de las concentraciones mayores evaluadas logró superar el 96% de mortalidad, siendo los valores obtenidos en las colonias HMC y Guatopo las más cercanas entre sí (96% y 95%, respectivamente para la concentración de 20mg/ml). La colonia IACA apenas obtuvo un 85% de mortalidad para su máxima concentración evaluada de 35mg/ml.

*- Los valores de las DL_{50} para las 3 colonias fueron bastante disímiles entre sí, caso contrario a las DL_{90} , donde las colonias HMC y Guatopo fueron prácticamente similares y

dentro de los valores de dosis diagnóstica recomendados por la WHO, no así la de la colonia IACA, la cual necesitaría duplicar el mayor valor recomendado (25mg/ml).

*- Las curvas Probit de las colonias HMC y Guatopo fueron más inclinadas y similares entre sí con respecto a la de la colonia IACA, describiendo a 2 poblaciones más homogéneas y con grados de susceptibilidad a la Deltametrina más similares, debido, quizás, a la suspensión de presión selectiva por el insecticida. La colonia IACA presentó una curva Probit con pendiente menos inclinada, característica de una población heterogénea, con individuos susceptibles y resistentes, sometidos a alta presión selectiva por insecticidas, lo que implicaría la conformación de una población en vías de hacerse resistente.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- *- Se recomienda establecer y mantener colonias de *Blattella germanica* y otras especies de blátidos libres de la presión de los distintos tipos de insecticidas y que sirvan de referencia de susceptibilidad confiables para las evaluaciones de dosis diagnósticas de los mismos.

- *- Se recomienda realizar evaluaciones de susceptibilidad de los distintos blátidos plagas en industrias de alimentos, restaurantes, comercios y hogares, a los fines de poder conocer si sus poblaciones van en vía de hacerse más resistentes a los distintos tipos de insecticidas comúnmente utilizados en su control.

- *- Se recomienda realizar estudios tendientes a dilucidar cuales mecanismos de resistencia están presentes en los distintos blátidos plagas en industrias de alimentos, restaurantes, comercios y hogares, de manera de que la aplicación de plaguicidas para su control sea con un criterio que considere dichos mecanismos y de esta forma se realice un mejor manejo de la misma, lo cual redundaría positivamente sobre la vida útil de las moléculas de los plaguicidas involucrados, y al mismo tiempo minimizaría el impacto tanto ambiental como sobre la salud humana derivados por el uso de los mismos.

- *- Se recomienda diseñar planes de rotación de plaguicidas para manejar la resistencia a los insecticidas disponibles en el mercado.

- *- Se recomienda incorporar en los planes de control otros tipos de plaguicidas con distintos modos de acción y con distintos caminos de degradación

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- Blático: Blattodea, del latín Blatta, Cucaracha; del Griego Eidés: Familia de las cucarachas domésticas. (WHO 1991)
- Esternito: Es el lado ventral del mesosoma. Posee cinco placas transversales; éstos generalmente tienen poca ornamentación entre la I y la IV placa, es justo a cada lado de ellas en donde se sitúan los estigmas o aberturas respiratorias de las cucarachas. (Georgiou 1991).
- Efecto de volteo (Knock Down) se definió como la incapacidad que tiene un insecto de caminar normalmente (aunque puede parecer que está vivo), su lectura se realiza una hora después de la exposición al insecticida (Ramsey y col. 2002).
- Heterogéneo: En Latín: Heterogénéus, es aquello que está compuesto de partes distintas, de distintas naturaleza. (Saume 1992).
- Hibridación: Es el proceso de unir dos hebras complementarias de ADN. (Crissman, J 2010).
- Homogéneo: Igual, indiferenciado, uniforme, similar que tienen igual valor de propiedades. (Saume 1992).
- Probit: En estadística se llama Función de Distribución o Función Cuartil de diversos procesos: Datos biológicos, datos empresariales, etc. (Minitab 15 Software Estadístico 2011).

- Resistencia: Cantidad de perturbaciones (Insecticidas), o presión que puede aguantar un insecto y seguir siendo capaz de volver a su estado original. (WHO 1991).
- Resistencia Cruzada: Es un fenómeno por el cual una población de Cucarachas, sometidas a presión de selección con un plaguicida adquiere resistencia a él y a otros que aún no se les han aplicado. (Georgiou 1991).
- Susceptibilidad: En Latín Susceptibilis: Es aquello capaz de recibir impresión de ser modificado por algo o alguien. (Saume 1992).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amichot, M., Castella, C., Cuany, A., Bergé, J.B., Pauron, D. 1992. Target modification as a molecular mechanism of pyrethroid Resistance in *Drosophila melanogaster*. *Pestic. Biochem. Physiol.* **44**:183-190.
- Bloomquist, J. 2011 *Insecticidas: química y características* Universidad de Minnesota. Radcliff's El Texto Mundial de MIP <http://pmword.unm.edu/2011>. [Consulta: 08 febrero 2012]
- Brogdon, W. 1988. Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* **90C**:145-150.
- Chang, K.S., Jung, J.S., Park, C., Lee, H., Lee, W., Lee, D., Shin, E. 2007 Insecticide susceptibility and resistance of *Blattella germanica* (Blattaria: Blattellidae) in Seoul, Republic of Korea. *Entomol. Research* **39**: 243-247
- Chang, K. S., Shin, E. H., Jung, J. S., Park, C., Ahn, Y. 2010. Monitoring for insecticide resistance in field-collected populations of *Blattella germanica* (Blattaria: Blattellidae). *J. Asia-Pacific Entomol.* Vol **13**: (4). <http://www.elsevier.com/locate/jape>. [Consulta 8 febrero 2011].
- Choo, L., Tang, C., Pang, F., Ho, S.H. 2000. Comparison of Two Bioassay Methods for Determining Deltamethrin Resistance in German Cockroaches (Blattodea: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* **93** (3): 905 – 1000
- Crissman, J., Booth, W., Santagelo, R., Mukha, D., Vargo, E., Schal, C. 2010. Population Genetic Structure of the German cockroach (Blattodea: Blattellidae) in Apartment building. *J. Med. Entomolgy* **47** (4):553-564.

- Cuany, A., Handani, J., Bergé, J.B., Fournier, D., Raymond, M., Georghiou, G.P., Pasteur, N. 1993. Action of esterase B1 on chlorpyrifos in organophosphate-resistant *Culex* Mosquitoes. *Pestic. Biochem. Physiol.* **45**: 1-6.
- Dary, O., Georghiou, G.P., Parsons, E., Pasteur, N. 1990. Microplate adaptation of Gomori's assay for quantitative determination of general esterase activity in single insects. *J. Econ. Entomol.* **83**: 2187-2192.
- Dary, O., Georghiou, G.P., Parsons, E., Pasteur, N. 1991. Dot-blot test for identification of insecticide-resistant acetylcholinesterase in single insects. *J. Econ. Entomol.* **84**: 28-33.
- Davis, B., Dulbecco, R., Eisen, H., Ginsberg, H., Wood, W. 1973. *Microbiology* Second Edition, Harper & Row Publisher, Inc. New York.
- Devonshire, A.L., Field, L.M. 1991. Gene amplification and insecticide resistance. *Annu. Rev. Entomol.* **36**: 1-23.
- Dong, K., Valles, S.M., Scharf, M.E., Zeichner, B., Bennett, G.W. 1998. The Knockdown Resistance (kdr) Mutation in Pyrethroid-Resistant German Cockroaches *Pest. Biochem. Physiol.* **60**: 195-204.
- Eckert, R., Randall, D. 1983. *Animal Physiology*. Second Edition. W. H. Freeman and Company San Francisco. USA.
- Ferrari, J.A., Georghiou, G.P. 1991. Quantitative genetic variation of esterase activity associated with a gene amplification in *Culex quinquefasciatus*. *Heredity* **66**: 265-272.
- Ferré, J., Real, M.D., Van Rie, J., Jansens, S., Peferoen, M. 1991. Resistance to the *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide in a field population of *Plutella lostellalis* due to a change in a midgut membrane receptor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **88**: 5119-5123.

Feyereisen, R., Loener, J.E., Farnsworth, D.E., Nebert, D.W. 1989. Isolation y sequence of cDNA encoding a cytochrome P₄₅₀ from an insecticide resistant strain of the house fly, *Musca domestica*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **89**:1465-1469.

Ffrench-Constant, R.H., Rocheleau, T.A., Stelchen, J.C., Chambers, A.E. 1993. A point mutation in a *Drosophila* GABA receptor confers insecticide resistance. *Nature (Lond.)* **363**:449-451.

Fotedar, R., Banerjee, U 1991. Nosocomial fungal infections study of posible role of cockroaches (*Blattella germanica*) as vector. *Acta Tropica* **50**: 339-343.

Gelves, W. 2011 *Blattella germanica* **Linnaeus, 1767 (Blattaria: Blattellidae)** Bases para un modelo Experimental de análisis del crecimiento Poblacional de Plagas: Su relación con la Edad y el Valor Reproductivo. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

GeoGebra Prim. 2011. Software. Compañía: GeogebraWiki International. Alemania.

Georghiou, G.P. 1987. Insecticides and pest resistance: the consequences of abuse. Faculty Research Lecture, Academic Senate, University of California, Riverside. 27 pp.

Georghiou, G.P. 1990. Overview of insecticide resistance. Pages 18-41 In: M. B. Green, H.M. LeBaron, y W.K. Moberg (eds). Managing resistance to agrochemicals. From fundamental research to practical strategies. *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* 421, Washington, D.C.

Gould, F., Martínez-Ramírez, A., Anderson, A., Ferré, J., Silva, F.J., Moar, W.J. 1992. Broad-spectrum resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in *Heliothis virescens* *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **89**: 7986-7990.

Grayson, J. M. 1960. Effects on the German cockroach of twelve generations of

selection for survival to treatments with DDT and benzene hexachloride. *J. Econ. Fend.* **46**: 124- 127.

Hemingway, J., Smith, C., Jayawardena, K.G.I., Herath, P.R.J. 1986. Field and laboratory detection of the altered acetylcholinesterase resistance genes which confer organophosphate and carbamate resistance in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Bull: Entomol. Res.* **76**: 559-565.

Hemingway, J. 1992. Genetics of Insecticide Resistance in Mosquito Vector of Disease *Parasitology Today* **8** (9): 296-298

Herramientas para Matemáticas. 2011, Software. V1.0 por Joel Almeida García.

Hsiu-Hua, P., Yeso, Chen, E.R. 2003. Cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*) as potential mechanical disseminators of *Entomoeba histolytica*. *Acta Tropica* **87**: 355-359

Kalamaris, A., Markellou, E. 2007. Efficacy evaluation of plant protection products at EU level: Data requirements and evaluation principles. *J. Pestic. Sci.* **32**(1): 1-9

Kenneth, R., George, R. 2005. *Microbiología Médica. Una introducción a las enfermedades infecciosas*. Editorial Mc Graw Hill. Interamericana Editores S.A. 4^{ta} Edición. México

Ketterman, A., Karunaratne, S.H.P.K., Jayawardena, G.I., Hemingway, J. 1993. Qualitative differences between populations of *Culex quinquefasciatus* in both the esterases A2 and B2 which are involved in insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.* **47**: 142-148.

- Lionel, E., Choon, S., Fung, Y., Shuit, H. 2000 Comparison of Two Bioassay Methods for Determining Deltamethrin Resistance in German Cockroaches (Blattodea: Blattellidae) *J. Econ. Entomol.* **93** (3): 905-910
- Ludek, Z., Coby, S. 2004. Evaluation of German cockroach (*Blattella germanica*) as a vector for verotoxigenic *Escherichia coli* F18 in confined swine production. *Veterinary Microbiology* **101**: 263-267.
- Miller, T.A. 1986. Mechanisms of Resistance to Pyrethroid Insecticides. *Parasitology today* **4**(7):58-62.
- Minitab 16 Statistics Professional Software. 2011
- Molina, D., Soto, A., Barazarte, H. 2004. Susceptibilidad a insecticidas piretroides en cepas de campo de *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) de Venezuela. *Entomotropica* **19**(1):1-5
- Mouchés, C., Pauplin, Y., Agarwal, M., Lemieux, L., Herzog, M., Avadon, M., Beyssat-Arnaouty, V., y Colaboradores. 1990. Characterization of amplification core and esterase B1 gene responsible for insecticide resistance in *Culex*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **87**: 2574-2578.
- Mullin, C.A. y J.G. Scout 1992. Molecular mechanisms of insecticide resistance. *Am Chem. Soc. Symp. Ser.* 505, Washington, D.C. 322 p.
- Nielsen-Leroux, C., Charles, J.F. 1993. Binding of *Bacillus sphaericus* binary toxin to a specific receptor on midgut brush-border membranes from mosquito larvae. *Eur. J. Biochem.* **210**:585-590. Organización Mundial de la Salud. (OMS). 1990. Química y Especificaciones de los Plaguicidas. Serie de Informes Técnicos 7989-13 Ginebra

Oei, C., Hindley, J., Berry, C. 1992. Binding of purified *Bacillus aphaericus* binary toxin and its deletion derivatives to *Culex quinquefasciatus* gut: elucidation of functional binding domains. *J. Gen. Microbiol.* **138**: 1515-1528.

Otto, D., Weber, B. 1992. *Insecticides mechanisms of action and resistance*.

Intercept. Andover, England.

Pasteur, N., Georgiou, G.P. 1989. Improved filter paper test for detecting and quantifying increased esterase activity: in organophosphate-resistant mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.* **82**: 347-353.

Pérez, E., Palacios, E., Villamizar, A. 2000. Enciclopedia Matemática: Mega. 1ra Edición. Terranova Editores Ltda., Santafé de Bogotá, DC. Colombia.

Pérez, M. 2003. Revista Médica: Resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a los antimicrobianos en Venezuela. vol **21**: N° 2: 14-22.

Pridgeon, J., Zhang, L., Liu, N. 2003 Overexpression of CYP4G19 associated with a pyrethroid-resistant strain of the German cockroach, *Blattella germanica* *Gene* **314**: 157-163.

Ramírez, J. 1989. La cucaracha como vector de agentes patógenos. *Bol. of Saint Panam.* **107**(1):41-53.

Ramsey, J., Arias, J., Frederickson, C., Salvatella, R. 2002. Manual para el rociado residual intradomiciliario: aplicación del rociado residual para el control de vectores.

Organización Panamericana de la Salud. Washington.

- Raymond, M., Fournier, D., Berte, J., Cuany, A., Bride, J., Pasteur, N. 1985. Single-mosquito test to determine genotypes with an acetylcholinesterase insensitive to inhibition by propoxur insecticide. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **1**:425-427.
- Reyes-Lugo, M. 1999. Evaluación de la susceptibilidad de *Blattella germanica* Linnaeus 1.767 (Dictyoptera: Blattellidae) a insecticidas. *Arc. Venezolanos Med. Tropical* **3**(1): 35-40.
- Reyes-Lugo, M. Neus, M. 1998. Niveles de susceptibilidad y Resistencia a insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* Linnaeus 1.762 provenientes del estado Zulia, Venezuela. *Lumen XXI* **1**(2):131-144.
- Reyes-Lugo, M. Neus, M. 2000. Susceptibilidad del mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1.823 (Diptera: Culicidae) a insecticidas en el estado Zulia. *Rev. Cient. Facultad de Veterinaria de la Universidad del Zulia*. **X**(6):441-447.
- Robertson, J., Preisler, H. 1992. Pesticide bioassays with arthropods. CRS PRESS, Boca Raton, FL.
- Roush, R.T., Tabashnik, B.E. 1990. *Pesticide resistance in arthropods*. Chapman and Hall, New York.
- Santander, J. 2003. Revista Médica: La Infección de *Salmonella typhi*. N° 8 mayo-agosto
- Saume, F. 1992. Introducción a la Química y Toxicología de insecticidas. Editorial. Industrias Gráficas Integral, 1^{era} Edición, Maracay, Edo. Aragua, Venezuela.
- Scott, J., Cochran, D., Siegfried, B. 1990. Insecticide Toxicity, Synergism, and Resistance in the German Cockroach. *J. Econ. Entomol.* Vol **83**: N° 5: 1698-1703.
- Schweitzer, G., Reza, Z., Jackson, G. 2006. *Food Safety and Foodborne disease surveillance systems*. Editorial The National Academies Sciences 127p.

Sierra, J. 2007. Tratado de dolor neuropático. Editorial Médica Panamericana XXI. Buenos Aires.

Soderlund, D.M., Bloomquist, J.R. 1990. Molecular mechanisms of insecticide resistance, Pages 58-96 In: R.T. Roush and B.E. Tabashnik (eds). Pesticides resistance in arthropods. Chapman and Hall, New York.

Sokal, R., Rohlf, F. 1979. *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H. Blume Ediciones. España.

Stek, M. 1982. Cockroaches and enteric pathogens *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **76** (4):566-567.

Strong, C. A., Koehler, P. G., Patterson, R. S. 1997. Insecticide Resistance Decline and Selection in Laboratory-Reared German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* **90** (1): 183- 187.

Tabashnik, B.E. 1989. Managing resistance with multiple pesticide tactics; theory, evidence and recommendations. *J. Econ. Entomol.* **82**:1263-1269.

Taylor, M.F.J., Heckel, D.G., Brown, T.M., Kreitman, M.E., Black, B. 1993. Linkage of pyrethroid insecticide resistance to a sodium channel locus in the tobacco budworm. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* **23**:763-775.

Thompson, M., Shotkoski, F., Constant, F. 1993. Cloning and sequencing of the cyclodiene resistance gene from the yellow fever mosquito. *Aedes aegypti*. *FEBS Letters* **325**:187-190.

- Van Rie, J., McGaughey, W.H., Johnson, D.E., Barnett, B.D., VanMelaert, H. 1990. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science* (Washington, D.C.) **247**:72-74.
- Villaroel, E. 2002. *Escherichiacoli* identificadas en pacientes con infecciones urinarias: Sensibilidad Antimicrobiana *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* **22**: N° 1: 18-21
- Wie, Y., Appel, A.G., Moar, W.J., Liu, N. 2001. Pyrethroid resistance and cross-resistance in the German cockroach, *Blattella germanica* (L.). *Pest. Manage. Sci.* **57**:1055-1059
- Ware, G., Whitacre, D. 2004. Introduction to the insecticide. *The Pesticide Book* 6th ed*. Editorial MeisterPro. University of Minnesota.
- Williamson, M.S., Denholm, I., Bell, C.A., Devonshire, A.L. 1993. Knockdown resistance (*kdr*) to DDT and pyrethroid insecticides maps to a sodium channel gene locus in the house fly (*Musca domestica*). *Mol. & Gen. Genet.* **240**:17-22.
- WHO. 1991. Control of Chagas' diseases. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: Technical Report Series 811.
- WHO. 1992. Vector resistance to pesticide. Fifteen report of the expert committee on vector biology and control. *WHO Tech. Rep. Ser.* **818**: 1-55. Ginebra.
- WHO/ CDS/CPC/MAL/1998. Report of the WHO informal consultation Insecticide Resistance WHO, Geneva Switzerland (28-30 septiembre 1998).
- WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1 *Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance*. Sixth edition. Department of Control of Neglected Tropical Diseases.

ANEXOS

ANEXOS

Susceptibilidad de *Blattella germanica* a la Deltametrina de la Colonia HMC Probit Analysis: Muertas; Total versus Dosis mg/ml

Distribution: Weibull

Response Information

Variable	Value	Count
Muertas	Success	263
	Failure	57
Total	Total	320

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	0,145668	0,117576	1,24	0,215
Dosis mg/ml	0,239506	0,0503690	4,76	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -137,275

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	4,91338	2	0,086
Deviance	5,54734	2	0,062

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Shape	0,239506	0,0503690	0,158601	0,361682
Scale	0,544328	0,324904	0,168961	1,75361

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	0,0000000	0,0000000	0,0000000	0,0000014
2	0,0000000	0,0000002	0,0000000	0,0000111
3	0,0000003	0,0000009	0,0000000	0,0000375
4	0,0000009	0,0000029	0,0000000	0,0000893
5	0,0000022	0,0000070	0,0000000	0,0001757
6	0,0000049	0,0000146	0,0000000	0,0003063
7	0,0000095	0,0000270	0,0000000	0,0004915
8	0,0000170	0,0000462	0,0000000	0,0007421
9	0,0000285	0,0000742	0,0000000	0,0010696

10	0,0000452	0,0001134	0,0000000	0,0014862
20	0,0010376	0,0019263	0,0000022	0,0138421
30	0,0073533	0,0106746	0,0000607	0,0561635
40	0,0329474	0,0377277	0,0007652	0,165285

50	0,117832	0,104803	0,0065269	0,417604
60	0,377867	0,250983	0,0455406	0,991700
70	1,18156	0,547982	0,292266	2,40940
80	3,96991	1,26052	1,81318	7,20014
90	17,7096	6,59950	9,55271	50,1591
91	21,3470	8,47241	11,2613	66,7354
92	26,0575	11,0809	13,3472	91,0317
93	32,3110	14,8043	15,9487	127,919
94	40,8817	20,2947	19,2835	186,490
95	53,1358	28,7567	23,7168	285,175
96	71,7234	42,6434	29,9160	465,732
97	102,538	67,7136	39,2667	839,464
98	161,918	120,966	55,2964	1792,13
99	319,954	281,551	91,4378	5592,53

Susceptibilidad de *Blattella germanica* a la Deltametrina de la Colonia Guatopo **Probit Analysis: Muertas; Total versus Dosis mg/ml**

Distribution: Weibull

Response Information

Variable	Value	Count
Muertas	Success	206
	Failure	114
Total	Total	320

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,11755	0,179392	-6,23	0,000
Dosis mg/ml	0,687307	0,0776795	8,85	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -148,783

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	1,63332	2	0,442
Deviance	1,70876	2	0,426

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI Lower	Upper
-----------	----------	----------------	-----------------------	-------

Shape	0,687307	0,0776795	0,550742	0,857736
Scale	5,08341	0,644745	3,96455	6,51802

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI Lower	Upper
1	0,0063012	0,0051326	0,0008144	0,0233522
2	0,0174022	0,0122009	0,0029948	0,0537873
3	0,0316254	0,0200707	0,0064377	0,0878925
4	0,0484251	0,0284436	0,0111087	0,124792
5	0,0675076	0,0371713	0,0169949	0,164054
6	0,0886890	0,0461647	0,0240950	0,205420
7	0,111845	0,0553640	0,0324146	0,248724
8	0,136887	0,0647265	0,0419644	0,293851
9	0,163753	0,0742205	0,0527587	0,340721
10	0,192396	0,0838208	0,0648153	0,389275
20	0,573291	0,182591	0,260292	0,963313
30	1,13431	0,281704	0,616834	1,70749
40	1,91296	0,379073	1,18600	2,66570
50	2,98238	0,478205	2,04695	3,93014
60	4,47626	0,595903	3,32135	5,68991
70	6,65961	0,787530	5,20419	8,37411
80	10,1591	1,22043	8,08172	13,1079
90	17,1065	2,49445	13,2447	23,9309
91	18,2572	2,74489	14,0494	25,8706
92	19,5708	3,04165	14,9549	28,1284
93	21,0942	3,39908	15,9892	30,8012
94	22,8965	3,83889	17,1931	34,0350
95	25,0868	4,39583	18,6308	38,0624
96	27,8510	5,13033	20,4102	43,2872
97	31,5451	6,16081	22,7354	50,4971
98	36,9889	7,76786	26,0700	61,5522
99	46,8972	10,9170	31,9156	82,8265

Susceptibilidad de *Blattella germanica* a la Deltametrina de la Colonia IACA

Probit Analysis: Muertas; Total versus Dosis mg/ml

Distribution: Weibull

Response Information

Variable	Value	Count
Muertas	Success	252
	Failure	68
Total	Total	320

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Standard

Variable	Coef	Error	Z	P
Constant	-0,567971	0,273728	-2,07	0,038
Dosis mg/ml	0,383744	0,0984929	3,90	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -157,618

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	4,21098	2	0,122
Deviance	4,43377	2	0,109

Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Shape	0,383744	0,0984929	0,232043	0,634619
Scale	4,39329	1,58216	2,16893	8,89884

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	0,0000273	0,0000927	0,0000000	0,0022824
2	0,0001686	0,0004931	0,0000000	0,0076701
3	0,0004915	0,0013027	0,0000000	0,0156481
4	0,0010542	0,0025883	0,0000001	0,0260250
5	0,0019113	0,0044019	0,0000002	0,0387002
6	0,0031160	0,0067868	0,0000006	0,0536173
7	0,0047211	0,0097812	0,0000014	0,0707457
8	0,0067795	0,0134189	0,0000028	0,0900722
9	0,0093453	0,0177309	0,0000054	0,111596
10	0,0124733	0,0227460	0,0000096	0,135327
20	0,0881580	0,116830	0,0004858	0,500572
30	0,299264	0,303917	0,0056385	1,13774
40	0,763090	0,595623	0,0367024	2,14291
50	1,69042	0,987572	0,179071	3,69461
60	3,49826	1,43920	0,752437	6,16392
70	7,12638	1,86336	2,94029	10,6013
80	15,1832	2,81064	10,0987	23,3914
90	38,6091	11,9673	24,6808	116,483
91	43,3835	14,5099	26,9769	145,616
92	49,1328	17,7618	29,6046	185,164
93	56,1923	21,9999	32,6683	240,384
94	65,0802	27,6660	36,3234	320,334
95	76,6499	35,5107	40,8159	441,810
96	92,4313	46,9279	46,5697	639,249
97	115,531	64,8610	54,4060	994,328
98	153,650	96,9498	66,2486	1752,17
99	235,042	172,989	88,6212	4088,22