

RESISTENCIA DEL MOSQUITO *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (DIPTERA: CULICIDAE) A INSECTICIDAS EN EL ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Insecticide Resistance in *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera: Culicidae) from Zulia State, Venezuela

Matías Reyes-Lugo y Mark Neus

Sección Entomología Médica "Dr. Pablo Anduze" (SEMPA), Instituto de Medicina Tropical "Dr. Félix Pifano", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Apartado 40395. Caracas, Venezuela. E-mail : reyesr@camelot.rect.ucv.ve

RESUMEN

Se evalúa la susceptibilidad de larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) provenientes de cuatro localidades del estado Zulia, frente a seis insecticidas pertenecientes a tres familias de plaguicidas Betacyflutrina, Cyflutrina y Lambdacyhalotrina (piretroides), Fenthion y Malathion (Organofosforados) y Propoxur (Carbámico). Larvas del IV estadio de *Culex quinquefasciatus* se expusieron a los insecticidas siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud (W.H.O). Se detectó una mayor susceptibilidad de *Cx. quinquefasciatus* a Betacyflutrina en relación al resto de los insecticidas, siguiendo en orden creciente de tolerancia Cyflutrina, Lambdacyhalotrina, Fenthion, Malathion y por último Propoxur. Para lograr un 99,99% de mortalidad en las larvas de *Cx. quinquefasciatus* evaluadas utilizando Malathion o Propoxur, se requiere de dosis más altas que las dosis diagnósticas 1 mg i.a/l y 3 mg i.a/l de la W.H.O, respectivamente, en consecuencia estas poblaciones son consideradas resistentes.

Palabras clave: *Culex quinquefasciatus*, insecticidas, resistencia, estado Zulia, Venezuela.

ABSTRACT

The susceptibility of larvae mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) proceeding of four localities of Zulia state with six insecticide of the four family of plaguicides Betacyflutrin, Cyflutrin y Lambdacyhalotrin (piretroides), Fenthion y Malathion (Organofosforates) and Propoxur (Carbamic)

was tested. *Culex quinquefasciatus* larvae's of age IV were exposed using the World Health Organization (W.H.O) methodology. More susceptible to Betacyflutrin, order tolerance increased following Cyflutrin, Lambdacyhalotrin, Fenthion, Malathion and Propoxur was found. In order to kill 99.99% of *Cx. quinquefasciatus* larvae Malathion and Propoxur higher doses, recommended by W.H.O, 1.0 mg a.i/l and 3 mg a.i/l, respective are necessary. Concluding that *Cx. quinquefasciatus* from Zulia state its resistant to these insecticides.

Key words: *Culex quinquefasciatus*, insecticide, resistance, Zulia state, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La existencia del fenómeno de la resistencia a insecticidas en mosquitos vectores es conocida en el ambiente científico y por las autoridades sanitarias antes de la década de los años 50. Algunas especies de *Anopheles spp.* transmisores de malaria fueron los primeros insectos, de interés en salud pública, a las que se les detectó resistencia a DDT [6].

La Organización Mundial de la Salud (W.H.O) en 1955 la define como "la capacidad que posee una población de insectos a tolerar dosis de sustancias tóxicas que resultarían letales, para la mayoría de los individuos de una población normal de una misma especie" [18]. La resistencia es una característica que se transfiere de una generación a otra de acuerdo a las Leyes de la Genética Mendeliana.

Para poder establecer si una población de una especie de insecto es resistente o no a un determinado insecticida, deben realizarse ante todo bioensayos con las metodologías actualmente aceptadas por la W.H.O [19].

Los resultados de los bioensayos, se expresan preferentemente como líneas de regresión (L.R) log-dosis Probit [22] del porcentaje de mortalidad contra dosis de insecticida en miligramos de ingrediente activo por litro (mg i.a/l). Cuando se tienen varias L.R de diferentes cepas del mismo insecto frente a un insecticida, su ubicación relativa sobre el eje de las abscisas respecto al punto de intersección de los ejes de coordenadas, permite inferir sobre la presencia de individuos susceptibles o resistentes, es decir; si una L.R está ubicada más alejada del punto de intersección de los ejes de coordenadas respecto a otra, pudiéndose considerar a la primera cepa como menos susceptible al insecticida de interés [22].

Por otro lado, dependiendo de la magnitud de las pendientes de las L.R, se deduce si la respuesta de los insectos frente a los insecticidas, es homogénea o no, lo que significa presencia en menor o mayor proporción de cada uno de los posibles genotipos que las componen, es decir; pendientes elevadas se interpretan como una respuesta homogénea, donde predominan genotipos similares y cuando las pendientes son pequeñas, el recorrido de la L.R abarca un amplio espectro de respuestas, entonces la población evaluada posee una composición de genotipos heterogénea.

También, dos líneas de regresión pueden poseer pendientes iguales, pero estar ubicadas a diferentes distancias del punto de intersección del eje de coordenadas, en otras palabras, una de ellas está más distante de este punto con relación a la segunda, es decir que ambas poblaciones responden similarmente al insecticida evaluado. Sin embargo, la más alejada, tiene una composición genotípica constituida por individuos menos susceptibles que la primera. En otra situación, si una de las L.R posee una pendiente pequeña, tal que en el punto correspondiente al 99,9% de mortalidad, la dosis respectiva supera a la diagnóstica suscrita por la W.H.O [20] para ese insecticida, entonces se puede afirmar que se está ante una población de insectos resistente al mismo y que muy probablemente la resistencia vaya en aumento.

Se ha detectado a escala mundial una importante reducción de la eficacia de las fumigaciones con organofosforados contra diferentes especies de mosquitos [5, 11, 17, 18]; considerándose que la utilización de un mismo tipo de insecticida por períodos de tiempo superiores a 5 años, como la causa del desarrollo de poblaciones resistentes [5].

En *Cx. quinquefasciatus*, Say 1823 ha sido detectada resistencia a Malathion y Propoxur en varios países Latinoamericanos y de la Cuenca del Caribe, en Cuba y Brasil se señala como causa de ello, a su uso intensivo, por largos períodos de tiempo, a pesar de que no fueron utilizados directamente contra este mosquito [1, 2, 4].

La resistencia a organofosforados en poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* se debe a la presencia de los alelos A y B que codifican para esterasas no específicas y también para un sistema alterado de acetilcolinoesterasa [1, 2, 3, 4, 12, 15, 16];

lo que incrementa el nivel de resistencia a Malathion con un espectro amplificado de resistencia cruzada a Temephos y Propoxur [1].

La principal estrategia de control de insectos vectores en Venezuela, ha sido el uso de insecticidas, especialmente organofosforados, destacándose el Malathion con más de tres décadas de uso ininterrumpido. Para el estado Zulia se considera este hecho, como el responsable de la aparición de resistencia cruzada entre Malathion y Propoxur en las poblaciones de *Aedes aegypti* L. [14].

En el presente estudio se analizan los niveles de susceptibilidad a insecticidas de poblaciones larvales de *Cx. quinquefasciatus* provenientes de cuatro localidades del estado Zulia afectadas por una epidemia de Encefalitis Equina Venezolana, unos meses después de controlados con plaguicidas las poblaciones de mosquitos vectores. Para ello, se desarrollaron bioensayos, siguiendo la metodología específica de la W.H.O [19, 20].

MATERIALES Y MÉTODOS

Colonias de mosquitos

En enero de 1996 y abril de 1997, se realizó una búsqueda de huevos, larvas y adultos de *Culex quinquefasciatus* en cuatro localidades pertenecientes a tres municipios del estado Zulia: San Rafael del Moján e Isla de Toas (Mara), San Francisco (Maracaibo) y Los Puertos de Altagracia (Miranda) estas últimas circunvecinas a la ciudad de Maracaibo. Colectándose en floreros en los cementerios locales, pozos sépticos y neumáticos de automóviles abandonados. Los insectos fueron trasladados al insectario de la Sección de Entomología Médica "Dr. Pablo Anduze" (SEMPA) Instituto de Medicina Tropical (IMT) Universidad Central de Venezuela (UCV) en Caracas, donde se mantuvieron y desarrollaron colonias experimentales durante un período de tres meses siguiendo metodologías modificadas para la cría de mosquitos [7, 8].

Bioensayos larvales

Los bioensayos larvales se realizaron según la metodología de la W.H.O [19, 20]. Para estas pruebas se prepararon una serie de soluciones madres en acetona (99% de pureza), a partir de insecticidas grado técnico. Los insecticidas probados fueron: organofosforados (Fenthion y Malathion), piretroides (Betacyflutrina, Cyflutrina y Lambdacyhalotrina) y el carbámico (Propoxur). Larvas del IV estadio de *Culex quinquefasciatus* se colocaron a prueba frente a las diferentes concentraciones de los insecticidas seleccionados, se utilizaron cinco réplicas de 20 larvas c/u por cada concentración de insecticida, con un volumen final ajustado a 100 ml de agua. El grupo control consistió en dos réplicas de 20 larvas c/u, a las cuales se les colocó 1 ml de acetona, para obtener una concentración final de acetona del 1%. Los valores de mortalidad obtenidos en

estas pruebas se registraron 24 horas después de haber colocado el insecticida, posteriormente analizados con el Programa de Log-dosis Probit [13], lo que permitió obtener las concentraciones letales 50 y 90 (CL50 y CL90), así como los parámetros básicos de las curvas de regresión lineal logarítmica de la mortalidad contra las distintas concentraciones de insecticidas. Los niveles de susceptibilidad de las cepas estudiadas se compararon con los valores de la dosis diagnósticas reportadas [19, 20, 21, 23, 24].

RESULTADOS

Cx. quinquefasciatus y piretroides

En la TABLA I se pueden observar las dosis letales correspondientes a mortalidades que van desde 10 a 90% para las cepas *Cx. quinquefasciatus* del Los Puertos de Altigracia, San Rafael del Moján, San Francisco e Isla de Toas, frente a los piretroides evaluados.

En el caso de Betacyflutrina, las dosis letales se encontraron en un intervalo que varió entre $0,9 \times 10^{-4}$ y $7,2 \times 10^{-4}$ mg i.a/l, los valores de este insecticida correspondientes a DL50 para las tres primeras localidades son similares, en una prueba T de comparación de medias ($P < 0,95$) [10]. Para DL90, esto último, sólo ocurre entre Los Puertos de Altigracia y San Rafael del Moján, mientras que San Francisco se ubicó por debajo de las dos primeras.

Por otro lado, para obtener el 90% de mortalidad en San Francisco con Betacyflutrina se necesita 1,6 veces menos de

lo requerido para un efecto idéntico en las cepas de San Rafael del Moján y Los Puertos de Altigracia, TABLA I.

En la TABLA III se presentan los parámetros básicos de las L.R de la mortalidad contra las distintas concentraciones de Betacyflutrina, los puntos de intersección con el eje de las abscisas son cercanos entre las tres curvas, las pendientes de las líneas se ordenan de manera creciente Los Puertos de Altigracia, San Rafael del Moján y San Francisco; en otras palabras, la heterogeneidad en la respuesta frente a este insecticida disminuye en ese orden, resultando similares las cepas Los Puertos de Altigracia y San Rafael del Moján.

Para Cyflutrina, TABLA I, puede apreciarse que los valores DL50 y DL90 de *Cx. quinquefasciatus* provenientes de las localidades de Isla de Toas, San Rafael del Moján y San Francisco, resultan cercanos. La comparación de medias con la prueba de T indicó similitud entre las mismas ($P < 0,95$) [10]. Obtener el 100% de mortalidad en estas tres poblaciones de mosquitos requiere concentraciones superiores a 0,001 mg i.a/l.

En la TABLA I se muestran los valores correspondientes a DL50 y DL90 de *Culex quinquefasciatus* frente a Lambdacyhalotrina. Las DL50 se ubican en el mismo orden de magnitud que en los dos primeros insecticidas evaluados (10×10^{-3} mg i.a/l).

Sin embargo, comparativamente, cantidades menores de Betacyflutrina en relación a Cyflutrina y Lambdacyhalotrina son necesarias para obtener un 50% de mortalidad, mientras los valores DL90 para Lambdacyhalotrina son más elevadas (de 1 a 18 veces) que las respectivas de Betacyflutrina y Cyflutrina, TABLA I.

TABLA I
MORTALIDAD DE *CULEX QUINQUEFASCIATUS* EN PORCENTAJE SEGÚN LA CONCENTRACIÓN DE BETACYFLUTRINA, CYFLUTRINA Y LAMBDAHALOTRINA EN MG I.A/L, ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Mortalidad %	Concentración Betacyflutrina/Cyflutrina/Lambdacyhalotrina en mg i.a/l			
	Los Puertos de Altigracia	San Rafael del Moján	San Francisco	Isla de Toas
10 B	0,00009	0,00011	0,00012	-
C	-	0,00032	0,00015	0,00008
L	0,0002	0,00009	-	0,00007
30 B	0,00017	0,0002	0,00017	-
C	-	0,00042	0,00028	0,0004
L	0,0004	0,0002	-	0,0003
50 B	0,00026	0,00028	0,00023	-
C	-	0,0005	0,00043	0,0006
L	0,0007	0,0003	-	0,0006
70 B	0,00039	0,00041	0,0003	-
C	-	0,0061	0,00067	0,001
L	0,001	0,0004	-	0,002
90 B	0,00072	0,00069	0,00044	-
C	-	0,0008	0,00125	0,002
L	0,003	0,0007	-	0,006

B = Betacyflutrina. C = Cyflutrina. L = Lambdacyhalotrina.

En líneas generales, las pendientes de las líneas de regresión obtenidas para Cyflutrina y Lambdacyhalotrina son reducidas, indicativo de respuestas heterogéneas de las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* frente a estos dos piretroides, excepto en la cepa San Rafael del Moján que ante Cyflutrina generó una pendiente más elevada, reflejo de una respuesta más homogénea, TABLA III.

***Cx. quinquefasciatus* y organofosforados**

En la TABLA II se presentan los valores de las dosis letales de Fenthion, las cuales generan mortalidades que van desde 10 hasta 90%, en general; se observa que las dosis letales de la Cepa San Rafael del Moján en algunos casos duplica a las de San Francisco en consecuencia San Rafael del Moján es menos susceptible que San Francisco. La dosis diagnóstica de Fenthion, para *Cx. quinquefasciatus* que establece la W.H.O es 0,05 mg i.a/l [19], en un análisis de comparación de medias (prueba de T), se detectó valores por debajo de la dosis diagnóstica ($P < 0,95$) [10].

El análisis comparativo entre los resultados de *Cx. quinquefasciatus* frente a Fenthion y Malathion, TABLA II, indica que las concentraciones de Malathion requeridas para obtener mortalidades de 50 y 90% respectivamente, son en promedio, respecto a Fenthion, 99 a 125 veces más elevadas, lo que es confirmado con una prueba T de comparación de medias, ($P < 0,95$).

En cuanto a la respuesta frente a Malathion del análisis de las pendientes de las L.R, se deduce que las cepas San Francisco e Isla de Toas son más heterogéneas por poseer las pendientes más bajas. Sin embargo, si consideramos la ubicación relativa de las L.R de Isla de Toas y Los Puertos de Altigracia sobre el eje de coordenadas respecto a San Francisco y San Rafael del Moján, las dos primeras están a una distancia mayor respecto a la intersección de estos en comparación a

las dos últimas, es decir; son menos susceptibles a Malathion, TABLA III y FIG. 1.

La dosis diagnóstica para Malathion 1 mg i.a/l [19], es superada por las cepas de *Cx. quinquefasciatus* evaluadas, entonces se consideran como resistentes a este organofosforado, FIG. 1.

***Culex quinquefasciatus* y carbámico (Propoxur)**

La dosis diagnóstica para Propoxur 3 mg i.a/l [19] es superada en las cepas de mosquitos que se evaluaron frente a este insecticida, es decir; San Rafael del Moján e Isla de Toas. Efectivamente, en estas localidades, la dosis diagnóstica se ubica en 5,98 y 10,06 mg i.a/l, respectivamente. Sin embargo, comparativamente, el menor valor observado para los mosquitos procedentes de San Rafael del Moján sugieren que son más susceptibles que los de Isla de Toas. Las pendientes de las L.R para este insecticida evidencian que la cepa de San Rafael del Moján es más heterogénea en cuanto a la composición de individuos, con una predominancia de los resistentes, al poseer una pendiente menor respecto a Isla de Toas, TABLA III.

DISCUSIÓN

Las cuatro cepas de *Culex quinquefasciatus* del estado Zulia evaluadas, presentaron valores reducidos para las pendientes de las líneas de regresión de mortalidad contra los seis insecticidas considerados, TABLA III, es decir; las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* en este Estado, presentan un comportamiento heterogéneo frente a los plaguicidas probados, en otras palabras; el recorrido de las L.R al ser representadas gráficamente abarcan un amplio espectro de respuestas.

En algunos casos, las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* están constituidas fundamentalmente por individuos resistentes.

TABLA II
MORTALIDAD DE *CX. QUINQUEFASCIATUS* EN PORCENTAJE SEGÚN LA CONCENTRACIÓN DE MALATHION Y FENTHION (ORGANOFOSFORADOS) EN MG I.A/L, ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Mortalidad %	Concentración Malathion / Fenthion en mg i.a/l			
	San Francisco	Los Puertos de Altigracia	Isla de Toas	San Rafael del Moján
10M	0,2	0,6	0,5	0,4
F	0,0033	-	-	0,0041
30M	0,3	0,9	0,9	0,6
F	0,042	-	-	0,0062
50M	0,5	1,3	1,2	0,8
F	0,0049	-	-	0,0082
70M	0,7	1,7	1,6	1,1
F	0,0058	-	-	0,011
90M	1,1	2,5	2,6	1,6
F	0,00732	-	-	0,016

M = Malathion. F = Fenthion.

TABLA III

PARÁMETROS DE LAS CURVAS DE REGRESIÓN LOG DOSIS-PROBIT DE LA MORTALIDAD VERSUS CONCENTRACIONES DE INSECTICIDAS (mg i.a/l). *Culex quinquefasciatus* DE CUATRO LOCALIDADES DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Piretroides	Betacyflutrina			Cyflutrina			Lambdacyhalotrina		
	A	P	M	A	P	M	A	P	M
Localidades									
San Francisco	5,29 ± 9,38 e-2	4,4 ± 0,38	6,42	5,32 ± 6,45 e-2	2,75 ± 0,36	-	-	-	-
Los Puertos de Altagracia	5,35 ± 9,61 e-2	2,86 ± 0,25	6,53	-	-	-	5,66 ± 7,64	2,25 ± 0,24	7,11
San Rafael del Moján	5,34 ± 9,79 e-2	3,29 ± 0,26	6,55	5,20 ± 0,08	6,36 ± 0,51	-	5,58 ± 7,33 e-2	2,98 ± 0,24	6,59
Isla de Toas	-	-	-	5,03 ± 7,53 e-2	2,74 ± 0,36	-	5,64 ± 7,48 e-2	1,31 ± 0,14	7,3

Organofosforados	Fenthion			Malathion		
	A	P	M	A	P	M
Localidades						
San Francisco	5,09 ± 9,22 e-2	7,49 ± 0,69	7,71	5,26 ± 6,84 e-2	3,42 ± 0,4	8,75
Los Puertos de Altagracia	-	-	-	4,66 ± 8,35 e-2	4,25 ± 0,31	9,02
San Rafael del Moján	4,86 ± 7 e-2	4,34 ± 0,43	7,88	4,71 ± 7,19 e-2	4,39 ± 0,39	8,84
Isla de Toas	-	-	-	5 ± 8,18 e-2	3,79 ± 0,31	9,07

Carbamico (Propoxur)

Localidades	A	P	M
San Rafael del Moján	5,07 ± 0,14	3,81 ± 0,46	9,17
Isla de Toas	5,58 ± 0,11	6,63 ± 0,79	9,57

Recta de regresión $Y = A + P \times (X - M)$. A = Punto de corte en el eje de las X (mg i.a/l). P = Pendiente. M = media de mg i.a/l.

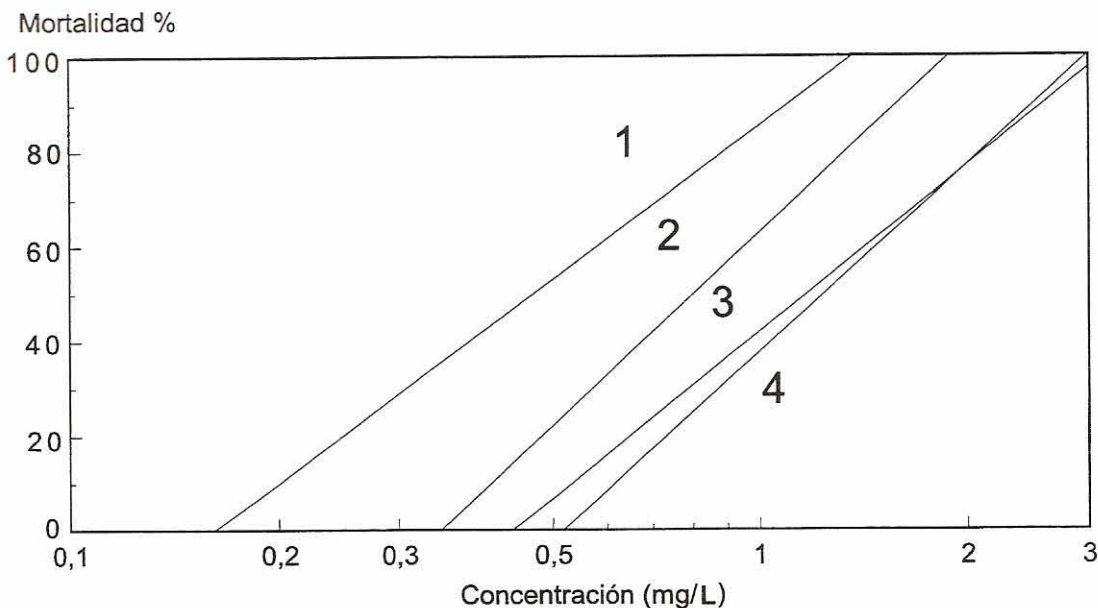


FIGURA 1. REGRESIÓN LINEAL LOGARÍTMICA DE MORTALIDAD EN PORCENTAJE CONTRA CONCENTRACIÓN EN mg i.a/l DE MALATHION EN *Culex quinquefasciatus* PROVENIENTES DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA.

En efecto, las dosis diagnósticas tentativas (el doble de la dosis necesaria para lograr un 99,9% de mortalidad) estimadas en esta investigación para Malathion y Propoxur, son más elevadas que las suscritas por la W.H.O [19, 20, 21, 23, 24], por lo que las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* evaluadas pueden ser consideradas como resistentes a estos insecticidas.

La alta actividad de esterasas se considera como la causa de resistencia a organofosforados en *Culex quinquefasciatus*, particularmente a Malathion [1, 2]. De hecho, se ha establecido, que la acetilcolinoesterasa alterada, incrementa los niveles de resistencia a Malathion y provee resistencia cruzada a Temephos y Propoxur en *Cx. quinquefasciatus* [1, 15].

El hallazgo de resistencia a Malathion y Propoxur, en los mosquitos del estado Zulia, nos sugieren la presencia de resistencia cruzada a los insecticidas organofosforados y carbamatos, posiblemente a través de acetylcolino-esterasa alterada. Una prueba de esterasas aplicada a muestras de estas poblaciones, evidenció una importante proporción de larvas produciendo de la mencionada enzima (>48%), es decir; dichas poblaciones son resistentes a los insecticidas mencionados.

En Cuba, desde que ocurrió el mayor brote de Dengue en 1981, se ha utilizado frecuentemente Malathion, Temephos, Propoxur y Piretroides para erradicar *Aedes aegypti* L. Como resultado, *Ae. aegypti* es finalmente controlado pero *Culex quinquefasciatus*, un mosquito que utiliza los mismos criaderos que *Ae. aegypti*, desarrolló resistencia cruzada a los organofosforados y al Propoxur [1].

Los resultados de esta investigación indican la presencia de resistencia cruzada en *Culex quinquefasciatus* a Malathion y Propoxur en el estado Zulia, de manera similar a lo detectado para *Aedes aegypti* en esta misma entidad federal, lo que es atribuido a la larga historia de uso de este insecticida en el país [14].

La resistencia a Malathion nunca desaparece completamente, y por lo general esto produce bajos niveles de resistencia a un amplio espectro de insecticidas organofosforados [1]. Sin embargo, los mosquitos evaluados resultaron más susceptibles a Fenthion que a Malathion.

En el desarrollo de la resistencia a Propoxur, también podrían estar contribuyendo los insecticidas de uso doméstico en spray de venta libre, especialmente aquellos que contienen una mezcla de piretroides con Propoxur cuyas dosis de aplicación (cantidad de insecticida desalojado, por la válvula del spray mientras el usuario la mantiene en funcionamiento) en algunos casos son subletales por ello una importante proporción de insectos sobrevive e inmediatamente comienzan a producir descendencia resistente.

En esta investigación, se detectó una mayor susceptibilidad de las cepas de *Cx. quinquefasciatus* del Zulia a Betacyflutrina, mientras que para el resto de los piretroides, la susceptibilidad disminuyó, en el siguiente orden Cyflutrina y Lambdacyhalotrina.

Aunque, en ninguno de éstos se llegó a superar la dosis diagnóstica [19, 20], la susceptibilidad frente a los mismos se observó disminuida. Un comportamiento similar se observó para el organofosforado Fenthion. En efecto, lo reducido de las pendientes de las L.R para Cyflutrina, Lambdacyhalotrina y Fenthion, indican que son poblaciones con respuestas heterogéneas a estos insecticidas con una notable tendencia al incremento de los individuos resistentes.

La presencia de resistencia a Malathion y Propoxur en las poblaciones de *Culex quinquefasciatus* del Zulia debería ser considerada en este estado en las futuras campañas de control de vectores con insecticidas, a fin de evitar continuar seleccionando poblaciones resistentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BISSET, J.A.; RODRÍGUEZ, M.M.; DÍAZ, C.; ORTÍZ, E.; MARQUETTI, M.C.; HEMINGWAY, J. The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Cuba. **Bull. Entom. Res.** 80:245-250. 1990.
- [2] BISSET, J.A.; RODRÍGUEZ, M.M.; HEMINGWAY, J.; DÍAZ, C.; SMALL, G.J.; ORTÍZ, E. Malathion and pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from Cuba. **Med. and Veter. Entom.** 5:223-228. 1991.
- [3] BRACCO, J.E.; BARATA, J.M.; MARINOTTI, O. Evaluation of insecticide resistance and biochemical mechanisms in a population of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Sao Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 94(1):115-120. 1999.
- [4] BRACCO, J.E.; DALDON, M.; MARINOTTI, O.; BARATA, J.M. Resistance to organophosphorous and carbamates insecticides in a population of *Culex quinquefasciatus*. **Rev. Sau. Pub.** 31(2):182-183. 1999.
- [5] BROWN, A.W.A. Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. **J. Amer. Mosq. Control Assoc.** 2(2):123-140. 1986.
- [6] BUSVINE, J.R. Insecticide-resistant strains of insects of public health importance. **Roy. Soc. Trop. Medic. and Hyg. Ordinary Meeting:** 11 – 36. 1956.
- [7] CHADEE, D.D. The life table characteristics of laboratory population of *Culex quinquefasciatus* Say, the vector of Bancroftian filariasis. **Bull. Soc. Vect. Ecol.** 19 (2):121-124. 1994.
- [8] CHRISTOPHERS, S.R. *Aedes aegypti* (L.). **Technique V. The yellow fever mosquito. Its life history, biology and structure.** Cambridge University Press. 739 pp. 1960.
- [9] CURTIS, C.F.; HILL, N.; KASIM S.H. Are there effective resistance management strategies for vectors of human disease. **Biol. Jour. Linn. Soci.** 48:3-18. 1993.

- [10] DANIEL, W.W. **Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud**. Editorial Limusa. 485 pp. 1977.
- [11] GRATZ, N.G. Emergency control of *Aedes aegypti* as a disease vector in urban areas, **J. Amer. Mosq. Cont. Assoc.** 7(3):15-20. 1991.
- [12] PEIRIS, H.T.R.; HEMINGWAY, J. Temephos resistance and the associated cross-resistance spectrum in a strain of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) from Peliyagoda, Sri Lanka. **Bull. Entom. Res.** 80: 49-55. 1990.
- [13] RAYMOND, M. Présentation d'un programme d'analyse log-Probit pour micro-ordinateur. Cah. Orstom, **Ser. Ent. Med. Parast.** 22(2):117-121. 1985.
- [14] REYES-LUGO, M.; NEUS, M. 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. 1998.
- [15] RIVET, Y.; MARQUINE, M.M.; RAYMOND, M. French mosquito populations invaded by A2 - B2 esterases causing insecticide resistance. **Biol. J. Linn. Soc.** 49(3): 249 - 255. 1993.
- [16] RODRÍGUEZ, M.M.; ORTÍZ, E.; BISSET, J.A.; HEMINGWAY, J.; SALCEDO, E. Changes in malathion and pyrethroid resistance after cypermethrin selection of *Culex quinquefasciatus* L populations of Cuba. **Med. Vet. Entom.** 7: 117-121. 1993.
- [17] SEVERINI, C.; ROMI, R.; MARINUCCI, M.; RAYMOND, M. Mechanisms of insecticide resistance in field populations of *Culex pipiens* from Italy. **J. Amer. Mosq. Control Assoc.** 9 (2):164-168. 1993.
- [18] SHIDRAWI, G.R. Programa Mundial de la O.M.S para la vigilancia de vectores resistentes a los plaguicidas. **Bol. Ofic. San. Panam.** 113 (3):223-232. 1992.
- [19] W.H.O. World Health Organization. **Criteria and meaning of tests for determining the susceptibility or resistance of insects to insecticides**. WHO/VBC/81.6 . 4 pp. 1981.
- [20] W.H.O. World Health Organization. **Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides**. WHO/VBC/81.807. 6 pp. 1981.
- [21] W.H.O. World Health Organization. Safe use of pesticides. Fourteenth report. WHO Exp. Comm. Vector Biol. Control. **WHO Tech. Rep. Ser.** 813 pp. 1991.
- [22] W.H.O. World Health Organization. Vector Resistance to Pesticides. **W.H.O Tech. Rep. Ser.** 818. 1992.
- [23] WHOPES. World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme. **Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance**. Edited by D.C Chavasse and H.H. Yap. World Health Organization. Division of Control of Tropical Diseases. WHO Pesticide Evaluation Scheme, WHO/CTD/WHOPES/97.2. 150 pp. 1997.
- [24] WHOPES. World Organization Health Pesticide Evaluation Scheme. Review of Alphacypermethrin 10% SC and 5% WP, Cyphluthrin 5% EW and 10% WP. **Report of the Second WHOPES Working Group Meeting**. World Health Organization. Division of Control of Tropical Diseases. WHO Pesticide Evaluation Scheme. WHO/CTD/WHOPES/98.10 31 pp. 1997.