

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA Y EL EFECTO EN LA  
LOCOMOCIÓN DE ANÁLOGOS DE GIRGENSOHNINA EN *TRIATOMA*  
*DIMIDIATA* (LATREILLE 1811)(HEMIPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE)**

**EDWIN RODOLFO ESCOBAR OLARTE**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**BUCARAMANGA**

**2017**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA Y EL EFECTO EN LA  
LOCOMOCIÓN DE ANÁLOGOS DE GIRGENSOHNINA EN *TRIATOMA*  
*DIMIDIATA* (LATREILLE 1811)(HEMIPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE)**

**EDWIN RODOLFO ESCOBAR OLARTE**

**Trabajo de Grado Modalidad pasantía de Investigación para optar al título de**

**Biólogo**

**Tutor**

**JONNY EDWARD DUQUE LUNA**

**Doctor en Ciencias Biológicas**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**BUCARAMANGA**

**2017**

## **CONTENIDO**

	<b>Pag.</b>
INTRODUCCION	10
1. OBJETIVOS	13
1.1 Objetivo general	13
1.2 Objetivos específicos	13
2. MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1 Material Biológico	14
2.2 Moléculas y Material Químico	14
2.3 Dosis exploratorias (DE)	14
2.4 Aplicación tópica, dosis exploratorias (DE)	14
2.5 Exposición a superficies tratadas con las dosis exploratorias	15
2.6 Determinación de Dosis Letales (DL)	16
2.7 Análisis actividad locomotora	16
2.8 Análisis Estadísticos	17
3. RESULTADOS	18
3.1 Dosis exploratorias 24 horas	18
3.2 Dosis Exploratorias 48 horas	19

3.3 Dosis exploratorias 72 horas	19
3.4 Exposición a superficies tratadas con las dosis exploratorias	20
3.5 Dosis múltiples y análisis Probit	21
3.6 Análisis actividad locomotora	22
4. DISCUSIÓN	24
4.1 Análogos	24
4.2 Superficies	25
4.3 Locomoción	26
5. CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFIA	29

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

	Pag.
<b>Tabla 1.</b> Tabla 1. Mortalidad en ninfas N1 de <i>T. dimidiata</i> , a las 24 horas con una concentración de 500 mg.L <sup>-1</sup> .	18
<b>Tabla 2.</b> Mortalidad de las moléculas que presentaron actividad insecticida en ninfas N1 de <i>T. dimidiata</i> , a las 48 horas con una concentración de 500 mg.L <sup>-1</sup> .	19
<b>Tabla 3.</b> Mortalidad en ninfas N1 de <i>T. dimidiata</i> , a las 72 horas con una concentración de 500 mg.L <sup>-1</sup> .	20
<b>Tabla 4.</b> Mortalidad en el tratamiento de aplicación sobre superficies (porosa, no porosa) en ninfas NI de <i>T. dimidiata</i> en los distintos tratamientos, pasadas las 72 horas.	21
<b>Tabla 5.</b> Movimiento en las ninfas N1 de <i>Triatoma dimidiata</i> representado como movimiento sobre área para la molécula AL50 en los tipos de tratamiento (Impregnación y topicación) 30 minutos de grabación utilizando el equipo Videomex V (Columbos OH)	23
<b>Figura 1.</b> Representación gráfica de la regresión lineal y ajuste logarítmico para el cálculo de las dosis letales por medio del programa Polo plus 2.0, para la molécula AL50 en ninfas NI de <i>T. dimidiata</i> pasadas las 72 horas.	22

**Evaluación de la actividad insecticida y el efecto en la locomoción de análogos de girsensohnina en *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811)(Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)**

**RESUMEN**

**Edwin Rodolfo Escobar Olarte**

**Palabras clave:** *Triatoma dimidiata*, Enfermedad de Chagas, Análogos sintéticos de girsensohnina, Videomex V

La enfermedad de Chagas representa un grave problema de salud en Latinoamérica, es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* y se transmite principalmente a través de vectores hematófagos denominados triatomíneos. Actualmente se calcula que en todo el mundo hay entre 6 y 7 millones de personas infectadas. Para el control del vector generalmente se utilizan insecticidas comerciales tales como: carbamatos, organoclorados, organofosforados y piretroides, sin embargo debido a su uso frecuente, ya se registran resistencias a sus principios activos. Una nueva alternativa, para el control vectorial es el diseño de nuevos insecticidas, como es el caso de los análogos de girsensohnina sintetizados en el laboratorio LQOBio-UIS (AL47, AL48, AL49, AL50, AL51, AL52, AL81, AL82, AL83, AL84, AL85, AL86). Se propone evaluarlos en ninfas NI de *T. dimidiata* y determinando las dosis letales (DL) y evaluando si afectan la locomoción cuando es aplicado en diferentes dosis. Se tomó como referencia el protocolo de la OMS 2005, utilizando dosis exploratorias, para determinar la mejor molécula de acuerdo a su mortalidad, esto se hizo mediante aplicación tópica y exposición a superficies en ninfas NI de *T. dimidiata*. Con base a estos resultados se realizó un análisis Probit, para determinar las dosis letales (DL50 y DL95) y alteraciones en la locomoción mediante el software Videomex V. Los análogos sintéticos de girsensohnina que presentaron actividad insecticida fueron: AL47, AL50, AL52, AL81, AL84, de los cuales la molécula AL50 fue la de mayor actividad insecticida a las 72h con una mortalidad del  $20,8\% \pm 3,57$  para el tratamiento de topicación y 25% para las superficies no porosas, para las superficies porosas la mortalidad fue de 0% a una concentración de  $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Las DL50 y DL95 fueron  $1036,878 \pm 0,389$  y  $3991,4 \pm 0,508$  respectivamente, con respecto a la locomoción, la molécula (AL50) induce un comportamiento similar al insecticida comercial Deltametrina.

---

\*Proyecto de Grado

\*\*Faculta de Ciencias, Escuela de Biología, Director, Jonny Edward Duque Luna

**Evaluation of insecticidal activity and the effect on locomotion of analogs of gircensohnine in *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)**

**Edwin Rodolfo Escobar Olarte**

**Keywords:** *Triatoma didimiata*, Chagas disease, synthetic analogues of gircensohnina, Videomex V.

**ABSTRACT**

Chagas disease represents a serious health problem in Latin America, is caused by the flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi* and is transmitted mainly by hematophagous triatomine vectors. It is currently estimated that there are between 6 and 7 million people infected worldwide. To control of the vector, commercial insecticides as carbamates, organochlorines, oranophosphates and pyrethroids are usually used. However, due to their frequent use, resistance to their active principles is already registered. A new alternative for vector control is the design of new insecticides, such as the synthesized analogues of gircensohnina by LQOBio-UIS (AL47, AL48, AL49, AL50, AL51, AL52, AL82, AL82, AL83, AL84, AL85, AL86). It is proposed to evaluate them in NI nymphs of *T. dimidiata* and determining lethal doses (DL) and how they affect their locomotion when applied at different doses. The WHO protocol 2005, using exploratory doses, was used to determine the best molecule according to its mortality, this was done by topical application and surface exposure in NI nymphs of *T. dimidiata*. Based on these results, we performed a Probit analysis, which determines the lethal doses (LD50 and DL95) and alterations in locomotion using Videomex V software. The synthetic analogues of gircensohnina that presented insecticidal activity were: AL47, AL50, AL52, AL81, and AL84, of which the AL50 molecule presented the highest insecticidal activity at 72 h with a mortality of  $20.8\% \pm 3.57$  for treatment of topical and 25% for non-porous surfaces; for porous surfaces the mortality was 0% at a concentration of 500mg.L<sup>-1</sup>. The LD50 and DL95 were  $1036.878 \pm 0.389$  and  $3991.4 \pm 0.508$  respectively, with respect to locomotion, the molecule (AL50) induces a behavior similar to the commercial insecticide Deltametrin.

---

\*Work of Degree

\*\* Faculty of Sciences, Biology School, Director, Jonny Edward Duque Luna

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana, fue descubierta en 1909 por el médico Carlos Ribeiro Justiniano Chagas. Quien a su vez describió el agente etiológico, vectores, principales reservorios y mecanismo de infección (Rassi et al. 2012). Esta enfermedad representa un grave problema de salud en Latinoamérica, es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), este parásito se transmite principalmente mediante vectores hematófagos denominados triatominos. Actualmente se calcula que en todo el mundo hay entre 6 y 7 millones de personas infectadas (WHO 2016). Se considera que la enfermedad de Chagas es endémica de Centro América y sur América, aproximadamente con 7.7 millones de personas infectadas, 108,6 millones de personas en riesgo y 3,3 millones de casos sintomáticos. Posee una incidencia de 42.500 casos y 21.000 muertes cada año, un aspecto preocupante, es que ya se han registrado casos de infección en el sur de Estados Unidos de Norte América donde esta dolencia no es endémica (Reisenman et al. 2010). Medicamentos tales como nifutimox y benznidazol, pueden curar la infección si se aplican en una etapa temprana de la enfermedad, poseen efectividad en la fase aguda, pero su eficacia disminuye con el paso del tiempo, debido a la inadecuada farmacocinética, es decir, se requieren altos niveles de concentración de medicamento para producir el estrés oxidativo, que es la manera cómo afecta el parásito (Boiani et al. 2010). La principal vía de transmisión de esta dolencia ocurre cuando el triatomo defeca en el momento de alimentarse de su hospedero, depositando las formas infectivas del

parasito sobre la piel, ingresando al cuerpo por las heridas o la abrasión causada al rascarse (Reyes-novelo et al. 2011), también puede ocurrir contagio por transfusión de sangre, vía oral, transplacentaría o por el canal de parto, accidentes de laboratorio y trasplante de órganos (Rassi et al. 2012). Actualmente existen alrededor de 144 especies de triatominos, clasificados en 5 tribus y 15 géneros (Otálora-Luna et al. 2015). Los géneros *Triatoma infestans* (Klug, 1834), *Rhodnius prolixus* (Stål, 1859) y *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) son los principales vectores en el continente Americano (Alzogaray 2003). En Colombia existen 24 especies de triatominos, de los cuales 15 se han encontrado infectados naturalmente por *Tripanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), siendo *R. prolixus* y *T. dimidiata* las principales especies que transmiten la enfermedad (Guhl et al. 2007). *T. dimidiata* se encuentra en los departamentos de Casanare, Cesar, Cundinamarca, Guajira, Magdalena, Santander, Norte de Santander, Tolima y Vichada (Parra et al. 2012). La forma más efectiva de disminuir la incidencia de esta parasitemia es por medio de la acción conjunta de tres factores: el mejoramiento de las viviendas en las zonas rurales afectadas, la educación de los pobladores y el control por medio de la aspersión de insecticidas. Este último método es considerado como la mejor opción para reducir la incidencia de la enfermedad, debido principalmente a que se ataca el vector y se corta el ciclo de transmisión (Alzogaray 2003). Los principales ingredientes activos de los insecticidas comerciales para el control vectorial son: organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (Palomino et al. 2007). Sin embargo, debido a la aplicación de estos productos en las últimas décadas se han reportado resistencia a los insecticidas tradicionales, principalmente a los piretroides (Carneiro

et al. 2013, Mougabure-Cueto and Picollo 2015). Una de estas nuevas alternativas, para el control vectorial es el diseño de nuevos insecticidas, como es el caso de los análogos de girsensohnina que se han sintetizado en laboratorio LQOBio-UIS y probado en el CINTROP-UIS (Carreño Otero et al. 2014). Se propone evaluarlos en ninfas NI de *T. dimidiata* y determinando las dosis letales (DL) y como afectan su locomoción cuando es aplicado en diferentes dosis.

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la actividad insecticida de 12 análogos sintéticos de gingersohnina en ninfas NI de *Triatoma dimidiata*.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Establecer los límites de mortalidad (5 y 95%) de ninfas NI de *Triatoma dimidiata* frente a una serie análogos sintéticos de girsensohnina mediante topicación e impregnación de superficies porosas y no porosas.

Determinar las DL50 y DL95 de ninfas NI de *Triatoma dimidiata* frente a los análogos sintéticos de girsensohnina con mayor porcentaje de mortalidad.

Evaluar la actividad locomotora de ninfas NI de *Triatoma dimidiata* frente análogos sintéticos de girsensohnina con mayor porcentaje de mortalidad.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAL BIOLÓGICO**

Se utilizó la cepa de referencia de *T. dimidiata* CINTROP-UIS establecida hace más de diez años, los adultos fueron alimentados cada ocho o quince días con sangre de gallina *Gallus gallus*. Para los bioensayos se utilizó ninfas NI de 24 a 36 horas de edad, con ayuno desde la eclosión, con un peso promedio de  $1,4 \pm 2,1$  mg, se usa las ninfas NI en los diferentes bioensayos, debido a que el ciclo de vida de esta especie, de huevo a adulto es de 269 días, el cual puede oscilar entre 174 a 598 días (Reyes and Angulo 2009).

### **2.2 MOLÉCULAS Y MATERIAL QUÍMICO**

Los 12 análogos sintéticos de girsensohnina fueron diseñados y sintetizados por el laboratorio LQOBio-UIS. Se le asignó la siguiente nomenclatura: AL47, AL48, AL49, AL50, AL51, AL52, AL81, AL82, AL83, AL84, AL85, AL86 según (Carreño Otero et al. 2014). Como control positivo se utilizó el insecticida de grado técnico: Deltametrina (99,5%-ChemService), piretroide utilizado para el control vectorial en Santander. Para todas las diluciones y controles negativos se utilizó Acetona (99,98% HoneyWell).

### **2.3 DOSIS EXPLORATORIAS (DE)**

Las dosis exploratorias (DE) para evaluar cada una de las moléculas sintéticas y su control negativo acetona, en NI fueron: 500, 125, 25 mg.L<sup>-1</sup>, como control positivo se utilizó Deltametrina 0,3; 0,7 y 500 mg.L<sup>-1</sup> (Reyes et al. 2007).

### **2.4 APLICACIÓN TÓPICA, DOSIS EXPLORATORIAS (DE)**

Para esta prueba se tomó como referencia el protocolo (OMS, 2005) las DE fueron aplicadas con micro jeringa Hamilton de 5µl provista de descargador repetitivo. La aplicación de los tratamientos se realizó sobre los terguitos (región dorsal del abdomen del insecto) de cada ninfa en las cuales se aplicó 0,1µl de cada molécula. En todos los experimentos se realizaron 4 réplicas por dosis, evaluándose por cada replica 3 ninfas, para un total de 12 ninfas por dosis y 48 ninfas por bioensayo incluyendo el control negativo. Cada bioensayo se realizó dos veces en días diferentes. Se tomó el registro de la mortalidad desde 24, 48, hasta las 72 horas pos tratamiento.

## **2.5 EXPOSICIÓN A SUPERFICIES TRATADAS CON LAS DOSIS EXPLORATORIAS**

Para los experimentos se tomó como referencia el protocolo (OMS, 2005) con modificaciones. Se usaron placas de Petri de vidrio de 6 cm de diámetro, dentro de ellas se colocó discos de papel filtro (Munktell) para las superficies porosas. Para las superficies no porosas se usó solamente la caja de Petri (sin papel filtro), las cuales se impregnaron de manera homogénea con una micropipeta siguiendo un patrón en forma de espiral, del centro hacia fuera. El volumen utilizado fue de 437µl de la solución, la cual fue calculada según el protocolo OMS, 2005. Se dejaron secar las superficies impregnadas durante 5 minutos y luego se colocaron 12 ninfas por dosis para un total de 48 ninfas por bioensayo, después se cubrieron las placas Petri con vinipel perforado, y se tomó el registro de la mortalidad, 24, 48, hasta las 72 horas pos tratamiento. Como criterio de muerte se estableció que el insecto no presentara

actividad locomotora propia, ya sea de forma espontánea o cuando era estimulado con una pinza o pincel.

## **2.6 DETERMINACIÓN DE DOSIS LETALES (DL)**

Para realizar estos experimentos, se tomó la molécula que presentó mayor mortalidad, se realizó una nueva batería de dosis múltiples y asimétricas. Las concentraciones utilizadas fueron: 2000, 1400, 1000, 800, 500 mg.L<sup>-1</sup>, se utilizó Acetona como control negativo y solvente de las diferentes concentraciones. Se realizó el mismo tratamiento de topicación utilizado para las DE.

## **2.7 ANÁLISIS ACTIVIDAD LOCOMOTORA**

Se utilizó la mejor molécula con actividad insecticida, tomando como referencia la DL<sub>50</sub> para realizar el análisis de la actividad locomotora mediante el Monitor de Movimiento Múltiple del software Videomex V (Columbos OH), el cual registra múltiples movimientos por área. Se realizaron dos tipos de tratamiento aplicación tópica e impregnación, para ambos tratamientos se tomaron 3 ninfas NI las cuales fueron depositadas en un papel filtro, sobre el cual se colocó un anillo de acrílico de 4 cm de diámetro y 2 cm de alto cubierto por papel vinipel. Se utilizó la DL<sub>50</sub> de Deltametrina para *T. dimidiata* (Reyes et al. 2007) la cual corresponde (DL<sub>50</sub>= 0,44 mg.L<sup>-1</sup>) como control positivo. Se utilizaron dos controles negativos, agua y acetona, en total se utilizaron 12 ninfas por réplica bioensayo. El movimiento de las ninfas NI de *T. dimidiata* fue registrado durante 30 minutos para cada tratamiento, cada bioensayo fue repetido 3 veces en diferentes días. El instrumento utilizado para realizar este análisis fue el Videomex V (Columbos OH), que consta de un pequeño

cuarto iluminado en el cual una cámara registra el movimiento del objeto de estudio, dicha cámara toma las imágenes a blanco y negro, al momento de realizar el análisis se invierte la imagen, los objetos negros se observan blancos y el fondo blanco se observa negro, el cambio de encendido a apagado por el cambio de pixeles blancos que cambian a negro es lo que se registra como movimiento y de esta manera al determinar el área de estudio y el tamaño del insecto, se puede estimar la cantidad de movimiento como el cociente entre el movimiento y el área.

## **2.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Los tratamientos fueron separados por el tiempo en que se determinó la mortalidad (24, 48, 72 horas), para todos los datos se realizó una prueba de normalidad, (Kolmogorov Smirnov), posteriormente se realizó el análisis no paramétrico Kruskal-Wallis (KW) o Anova de una vía según la normalidad de los datos, para corroborar las diferencias significativas entre los distintos tratamientos utilizando el software "Statistics V13". Para determinar las DL50 y DL95 se utilizó un análisis probit, mediante el software Polo Plus (LeOra Software, 2007).

## **COMITÉ DE ÉTICA**

Este trabajo está anclado al proyecto número 1389 financiado por la VIE el cual cuenta con aval del comité de ética según CEINCI-UIS, acta No. 03 del 26 de julio de 2013.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 DOSIS EXPLORATORIAS 24 HORAS

De las 12 moléculas utilizadas en las DE, la actividad insecticida fue observada en 3 moléculas AL50, AL81, AL84, en la concentración de 500mg.L<sup>-1</sup>, sin embargo la mortalidad fue baja en esta concentración (4,17-8,3%) y en las demás concentraciones 125, 25, 0 mg.L<sup>-1</sup> fue nula (0%). La molécula AL81 fue la que presentó mayor mortalidad (8,3%), La mortalidad de las moléculas evaluadas presentara diferencias estadísticas significativas (Kruskal-Wallis: H (4, N=40)=29,61111 P<0,0000), (Tabla 1).

Tabla 1. Mortalidad en ninfas N1 de *T. dimidiata*, a las 24 horas con una concentración de 500 mg.L<sup>-1</sup>.

Moléculas	Promedio	% Mortalidad	Desviación Estándar
AL50	0,5 <sup>a</sup>	4,17	0,707
AL81	1 <sup>a</sup>	8,33	1,414
AL84	0,5 <sup>a</sup>	4,17	0,707
Deltametrina	12 <sup>b</sup>	100	0
Control	0 <sup>a</sup>	0	0

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas.  $P < 0,05$  (Kruskal-Wallis: H (4, N=40)=29,61111 P<0,0000)

#### 3.2 DOSIS EXPLORATORIAS 48 HORAS

La actividad insecticida fue observada en 4 moléculas AL47, AL50, AL81, AL84, para la concentración de 500mg.L<sup>-1</sup>, de igual manera la actividad insecticida fue baja en esta concentración (4,17-12,5%), y casi nula en las demás concentraciones (>4,17%). La molécula que presenta mayor mortalidad fue AL81 (12.5%), sin embargo se observó un aumento en la mortalidad de esta molécula con respecto a las 24 horas

(8,3%). La mortalidad de las moléculas evaluadas presentó diferencias estadísticas significativas [Kruskal-Wallis:H (5, N=48)=30,10938 P<0,0000], (Tabla 2).

Tabla 2. Mortalidad de las moléculas que presentaron actividad insecticida en ninfas N1 de *T. dimidiata*, a las 48 horas con una concentración de 500 mg.L<sup>-1</sup>.

Moléculas	Promedio	% Mortalidad	Desviación estándar
AL47	0,5 <sup>a</sup>	4,17	0,707
AL50	1 <sup>a</sup>	8,33	0
AL81	1,5 <sup>a</sup>	12,5	0,707
AL84	1 <sup>a</sup>	8,33	1,414
Deltametrina	12 <sup>b</sup>	100	0
Control	0 <sup>a</sup>	0	0

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas. P<0,05 [Kruskal-Wallis:H (5, N=48)=30,10938 P<0,0000]

### 3.3 DOSIS EXPLORATORIAS 72 HORAS

Finalmente 5 moléculas presentaron actividad insecticida, AL47, AL50, AL52, AL81, AL84, las cuales muestran diferencias significativas [Kruskal-Wallis: H (6, N=56)=30.20974 P<0,0000]. La molécula que presentó mayor porcentaje de mortalidad fue AL50 (20,8%), seguida de AL81 (16,6%), considerándose AL50 como la mejor molécula de las 12 evaluadas (Tabla 3), además de ser la única en la que se observó actividad insecticida en el tratamiento de superficies.

Tabla 3. Mortalidad en ninfas N1 de *T. dimidiata*, a las 72 horas con una concentración de 500 mg.L<sup>-1</sup>.

Moléculas	Promedio	% Mortalidad	Desviación Estándar
AL47	1 <sup>a</sup>	8,33	0
AL50	2,5 <sup>ab</sup>	20,83	0,707
AL52	1,5 <sup>a</sup>	12,5	2,121
AL81	2 <sup>a</sup>	16,66	1,414
AL84	1 <sup>a</sup>	8,33	1,414
Deltametrina	12 <sup>b</sup>	100	0
Control	0 <sup>a</sup>	0	0

Letras iguales que no hay diferencias estadísticamente significativas.  $P < 0,05$  [Kruskal-Wallis:  $H(6, N=56) = 30.20974$   $P < 0,0000$ ].

### 3.4 EXPOSICIÓN A SUPERFICIES TRATADAS CON LAS DOSIS EXPLORATORIAS

Como se mencionó anteriormente la molécula que presentó la mayor actividad insecticida fue AL50 (25%) sin embargo solo se observó mortalidad en la superficie no porosa. El control positivo Deltametrina en el tratamiento de superficie porosa, presentó menor actividad insecticida con respecto al tratamiento de superficie no porosa. Se reportó la mortalidad luego de 72 h con diferencias estadísticas significativas según Anova de una vía y el test de Tukey ( $F_{3, 4} = 89$   $p = 0,004$ ), (Tabla 4). Los tratamientos a las 24h y 48h no se tuvieron en cuenta para el análisis al no observarse diferencias.

Tabla 4. Mortalidad en el tratamiento de aplicación sobre superficies (porosa, no porosa) en ninfas NI de *T. dimidiata* en los distintos tratamientos, pasadas las 72 horas.

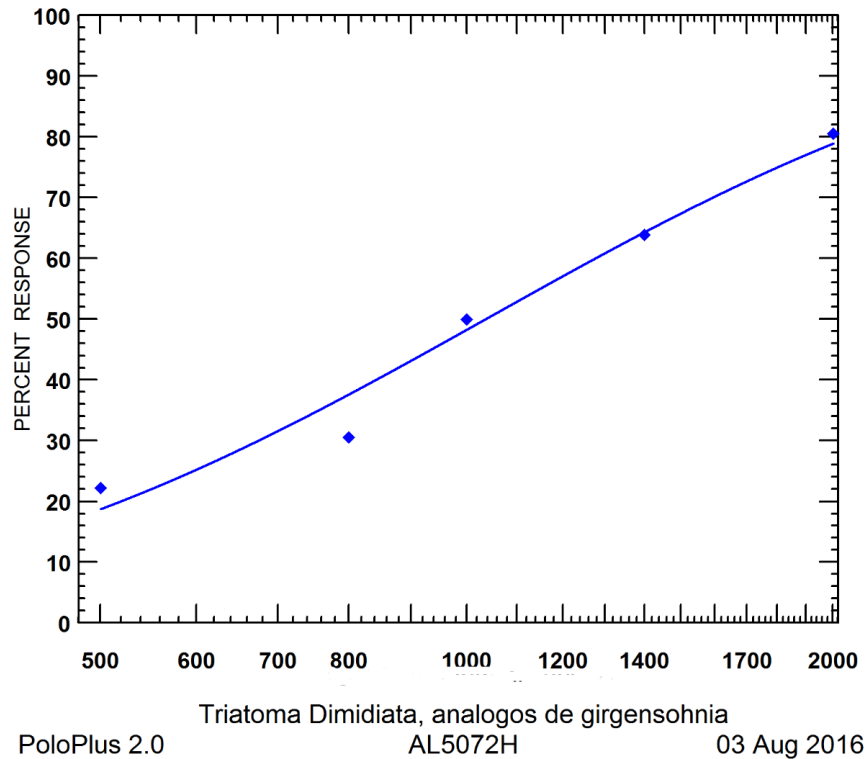
Moléculas	Promedio	% Mortalidad	Desviación Estándar
AL50 Porosa	0 <sup>a</sup>	0	0
AL50 no Porosa	3 <sup>b</sup>	25	0
Deltametrina Porosa	9 <sup>b</sup>	75	1,414
Deltametrina no Porosa	11.5 <sup>c</sup>	95,83	0,707

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas.  $P < 0,05$  (F 3, 4 = 89  $p = 0,004$ )

### 3.5 DOSIS MÚLTIPLES Y ANÁLISIS PROBIT

Dado la baja mortalidad que se observó en las DE, se aumenta las concentraciones para dilucidar las dosis letales 50 y 95 (DL50, DL95). Las dosis utilizadas fueron: 2000 mg.L<sup>-1</sup>, 1400 mg.L<sup>-1</sup>, 1000 mg.L<sup>-1</sup>, 800 mg.L<sup>-1</sup>, 500 mg.L<sup>-1</sup>. A las 24 horas se obtuvo la dosis letal (DL50= 1148,145±0,520), (DL95= 4057.8±1,575), a las 48 horas (DL50= 1091,943±0,618), (DL95= 4200±0,509) y a las 72 horas (DL50=1036,878 ±0,389), (DL95= 3991,4± 0,508). Estos valores se corroboran por medio de la gráfica de regresión lineal, implícita en análisis Probit, (Figura 1).

Figura 1. Representación gráfica de la regresión lineal y ajuste logarítmico para el cálculo de las dosis letales por medio del programa Polo plus 2.0, para la molécula AL50 en ninfas NI de *T. dimidiata* pasadas las 72 horas.



### 3.6 ANÁLISIS ACTIVIDAD LOCOMOTORA

En este análisis se realizó una comparación entre los dos tratamientos, topicación e impregnación, tomando como referencia las DL<sub>50</sub> (1034mg.L<sup>-1</sup> para AL50 - 0,44mg.L<sup>-1</sup> para Deltametrina) y como control negativo se usó acetona, sin embargo esta molécula al ser tan volátil podría pensarse que el movimiento se debe a este fenómeno, por este motivo se usa agua destilada como segundo control negativo. Se logró observar mayor movimiento en el tratamiento de impregnación, con respecto al observado en el tratamiento de topicación. En ambos tratamientos el control positivo Deltametrina muestra mayor movimiento en comparación a la

molécula AL50 [ANOVA: DF=7, F=25,54) p=0,000072], lo que indica que las dosis aplicadas DL50 del control positivo (Deltametrina) y la mejor molécula (AL50) presentan un comportamiento similar en los dos tratamientos (topicación e impregnación), (Tabla 5).

Tabla 5. Movimiento en las ninfas N1 de *Triatoma dimidiata* representado como movimiento sobre área para la molécula AL50 en los tipos de tratamiento (Impregnación y topicación) 30 minutos de grabación utilizando el equipo Videomex V (Columbos OH).

Tipo de Tratamiento	Moléculas	Mínimo Movimiento	Máximo Movimiento	Promedio	Desviación Estándar
Impregnación	AL50	1015,28	3374,78	2039,40 <sup>a</sup>	1210,15
	Delta	2636,72	3835,49	3386,31 <sup>b</sup>	653,40
	Agua	275,72	1514,47	1264,69 <sup>a</sup>	275,71
	Acetona	879,16	3780,51	2766,41 <sup>ac</sup>	879,16
Topicación	AL50	549,28	2407,11	1855,57 <sup>a</sup>	549,28
	Delta	168,13	2174,89	2050,37 <sup>d</sup>	168,13
	Agua	683,65	2958,91	2176,06 <sup>a</sup>	683,65
	Acetona	1295,33	3332,78	2578,60 <sup>bc</sup>	1295,33

Letras iguales que no hay diferencias estadísticamente significativas.  $P < 0,05$ , [ANOVA: DF=7, F=25,54) p=0,000072],

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1 ANÁLOGOS

En comparación con el principal insecticida que se está usando actualmente frente a los vectores de la enfermedad de Chagas (Piretroides) (Sfara et al. 2006), los análogos de girsensohnina, poseen muy baja actividad insecticida, esto se evidencia al comparar las DL<sub>50</sub> para *T. dimidiata* en ninfas de primer estadio NI, para la Deltametrina el piretroide de uso más común es de 0,44mg.L<sup>-1</sup> y para el mejor análogo (AL50) fue DL<sub>50</sub> =1036,878,mg.L<sup>-1</sup> (Reyes et al. 2007), lo cual es una dosis muy saturada, para obtener el mismo resultado en comparación con la Deltametrina.

De las moléculas que presentaron acción insecticida, no todas mostraron su acción a las 24 horas, la gran mayoría presentaron su acción insecticida con el transcurso del tiempo, siendo la mejor molécula AL50, quien expresa su mayor acción insecticida a las 72 en comparación con las otras moléculas que a las 24 y 48 horas la superaban como es el caso de la molécula AL81. En los resultados, el control Deltametrina siempre presentaba una mortalidad del 100% a una concentración de 500mg.L<sup>-1</sup>, en comparación con la mejor molécula AL50 que a esta misma concentración solo presenta una mortalidad del 20,83 ± 3,570, esta diferencia de mortalidad es explicada por las fases tóxicocinéticas y tóxicodinámicas que presenta el organismos frente a los diferentes insecticidas. Un estudio anterior en la cual se evaluaron los análogos de girsensohnina en *Rhodnius prolixus*, mostraron una mortalidad del 83,3%, para la molécula AL51 (en proceso de publicación) lo cual nos muestra como varia la actividad insecticida d en diferentes especies. La diferencia

en su actividad insecticida es debido a su objetivo molecular, siendo acetilcolinesterasa AChE para los análogos de girsensohnina, y canales de sodio para Deltametrina, por lo que tendrán una respuesta diferente en la absorción, distribución, metabolismo y procesos de excreción (Mougabure-Cueto and Picollo 2015)

## **4.2 SUPERFICIES**

En el bioensayo de superficies, los resultados de acción insecticidas son muy bajos, el tratamiento de superficies porosas, el resultado de acción insecticida es nulo, para todas las moléculas salvo en control positivo, sin embargo el tratamiento de superficies no porosas, solamente la molécula AL50 presenta acción insecticida. Posiblemente se deba a la baja concentración a la cual estaban expuestas las ninfas, también por el poco contacto con las moléculas, a diferencia del ensayo de topicación en el cuales siempre es la misma cantidad de molécula a la que se expone las ninfas, 0,1µL por ninfa. Los análogos de girsensohnina, son moléculas no volátiles disueltas en acetona que es una sustancia volátil, finalmente los cristales que forman tanto las moléculas como el control positivo se adhieren en el papel filtro, algunas de estos cristales se ubican en los poros del papel y no entran en contacto con el insecto, razón por la cual el tratamiento de superficie no porosa presenta una mayor acción insecticida tanto con las moléculas como con el control positivo (Stampini et al 2008). Estudios de campo corroboran esta afirmación con diferentes insecticidas, en las cuales las superficies porosas siempre presentan una menor efectividad con respecto a superficies no porosas (Palomino et al. 2007).

### 4.3 LOCOMOCIÓN

En el bioensayo de locomoción se comparan dos tratamientos, topicación e impregnación sobre superficie, esto debido al bajo resultado observado en el bioensayo de exposición a superficies, de igual manera se agregó un control negativo adicional debido a la volatilidad que posee la acetona, razón por la cual se podría pensar que el movimiento de la ninfa es debido a esta característica, por eso se toma agua destilada como segundo control negativo. La hiperactividad en los insectos es uno de los primeros síntomas de intoxicación producido por los piretroides.(Alzogaray et al. 2013). El tratamiento de impregnación de superficies se observó que el control positivo (Deltametrina) presenta un movimiento mayor respecto a la mejor molécula (AL50), estas dos moléculas mostraron mayor movimiento que el control negativo (Agua), este fenómeno es debido a la fase de excitación prolongada que sufre el insecto expuesto a la superficie sin embargo, en el tratamiento de topicación tanto la mejor molécula, como el control positivo muestran valores de movimiento menores a los controles negativos, este fenómeno es debido, a que el insecto entra en una fase de tatenacion, en la cual su movimiento se ve impedido por la acción del insecticida, dado que al aplicarse directamente las moléculas sobre el dorso del individuo, actúa de una manera más rápida, en la cual la fase de excitación no es tan prolongada como en el tratamiento de impregnación a superficies. [ANOVA: DF=7, F=25,54) p=0,000072], lo cual nos indica que a pesar de los moléculas evaluadas (AL50, Deltametrina) tienen diferentes mecanismos de acción y concentraciones diferentes, con respecto al movimiento presentan un

comportamiento similar, además de que la hiperactividad producidas por los piretroides en tratamientos de impregnación en triatominos, ya se han confirmado en estudios anteriores (Alzogaray and Zerba 2001).

## 5. CONCLUSIONES

- Los análogos sintéticos de girsensohnina que presentaron actividad insecticida fueron: AL47, AL50, AL52, AL81, AL84, de las cuales la molécula AL50 presentó una mayor actividad insecticida pasadas las 72H.
- Las DL<sub>50</sub> y DL<sub>95</sub> para la molécula AL50 fueron  $1036,878 \pm 0,389$  y  $3991,4 \pm 0,508$  pasadas las 72H, una concentración elevada si se compara con la DL<sub>50</sub> de Deltametrina la cual corresponde  $0,44 \pm 0,2$  según (Reyes et al. 2007).
- La locomoción de la mejor molécula (AL50) presento un comportamiento similar al control positivo (Deltametrina) en los dos tratamientos, razón por la cual se infiere que presentan una hiperactividad similar

## BIBLIOGRAFÍA

- Alzogaray, R. a. 2003.** El control químico de *Triatoma infestans* en Argentina. Retel (Revista Toxicol. Ene Linea). 1–18.
- Alzogaray, R. A., V. Sfara, A. N. Moretti, and E. N. Zerba. 2013.** Behavioural and toxicological responses of *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) to monoterpenes. Eur. J. Entomol. 110: 247–252.
- Alzogaray, R. a., and E. N. Zerba. 2001.** Behavioral response of fifth instar nymphs of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to pyrethroids. Acta Trop. 78: 51–57.
- Boiani, M., L. Piacenza, P. Hernández, L. Boiani, H. Cerecetto, M. González, and A. Denicola. 2010.** Mode of action of Nifurtimox and N-oxide-containing heterocycles against *Trypanosoma cruzi*: Is oxidative stress involved? Biochem. Pharmacol. 79: 1736–1745.
- Carneiro, Â. P., M. Josene Barbosa Pereira, and C. Galbiati. 2013.** Biocide activity of *Annona coriacea* seeds extract on *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae). Rev. Biol. Trop. 61: 419–427.
- Carreño AL, Vargas Méndez LY, Duque L. JE, Kouznetsov V V.** Design, synthesis, acetylcholinesterase inhibition and larvicidal activity of girsensohnine analogs on *Aedes aegypti*, vector of dengue fever. Eur J Med Chem. 2014;78:392–400.
- Guhl F, Aguilera G, Pinto N, Vergara D. 2007.** Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae:

Triatominae) en Colombia. *Biomédica*. 27(Supl. 1): 143-62.

**Mougabure-Cueto, G., and Picollo. M. I. 2015.** Insecticide resistance in vector Chagas disease: Evolution, mechanisms and management. *Acta Trop*. 149: 70–85.

**LeOra-Software. 2007.** POLO-Plus, POLO for Windows computer program, version 2.0. LeOra-Software, Petaluma, CA

**Otálora, F., A. J. Pérez, C. Sandoval, and E. Aldana. 2015.** Evolution of hematophagous habit in Triatominae (Heteroptera: Reduviidae). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 88:4

**Palomino, M., Leon, W., Valencia, P., Cardenas, F.,Ancaa, j. 2007.** Deltametrina sobre la mortalidad y knockdown en triatoma infestans , según tipo de superficie en arequipa , Perú field evaluation of the deltametrin residual effect on mortality and knockdown for triatoma infestans , *Rev Peru Med Exp Salud Publica*; 24(2): 136-43.

**Palomino, M.,Villaseca, P.,Cardenas, F., Ancca, J.,Pinto, M. 2008.** eficacia y residualidad de dos insecticidas piretroides contra *Triatoma infestans* en tres tipos de viviendas.Evaluación de campo en arequipa. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 25: 9–16.

**Parra G.J., Floréz M. and Angulo V.M. (Eds).** Vigilancia de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en Colombia (1era ED., pp. 127). Bogotá D.C. Colombia. Editorial Sic Editorial Ltda

- Rassi, A., A. Rassi, and J. Marcondes de Rezende. 2012.** American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infect Dis Clin N Am* 26 (2012) 275–291  
doi:10.1016/j.idc.2012.03.002
- Raymond M. 1985.** Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour microordinateur. *Cahiers ORSTOM (Ser Entomol Med Parasitol)*. 22:117-121
- Reisenman, C. E., G. Lawrence, P. G. Guerenstein, T. Gregory, E. Dotson, and J. G. Hildebrand. 2010.** Infection of Kissing Bugs with *Trypanosoma cruzi* Tucson Arizona, USA. *Emerging Infectious Diseases* • www.cdc.gov/eid • Vol. 16, No. 3
- Reyes, M., and V. M. Angulo. 2009.** Ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* Latreille , 1811 ( Hemiptera , Reduviidae ) en condiciones de laboratorio : producción de ninfas para ensayos biológicos. *Biomédica* ;29:119-26
- Reyes, M., V. M. Angulo, and C. M. Sandoval. 2007.** Efecto tóxico de  $\beta$  - cipermetrina , deltametrina y fenitrotión en cepas de *Triatoma dimidiata* ( Latreille , 1811 ) y *Triatoma*. *Biomédica*. 27: 75–82.
- Reyes-novelo, E., H. A. Ruiz-piña, J. Escobedo-ortegón, and M. A. Barrera-pérez. 2011.** Biología y ecología de *Triatoma dimidiata* ( Latreille , 1811 ), algunos aspectos de estudio *Biology and ecology of Triatoma dimidiata* ( Latreille , 1811 ), some aspects of study. 18: 11–16.
- Sfara, V., E. N. Zerba, and R. a. Alzogaray. 2006.** Toxicity of pyrethroids and repellency of diethyltoluamide in two deltamethrin-resistant colonies of *Triatoma*

infestans Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 101: 89–94.

**Stampini M, Girgenti P, Locatelli DP.** Activity of Deltamethrin on different surfaces against *Plodia interpunctella* larvae (Lepidoptera:Pyralidae). Ist di Entomol Agrar Univ degli Stud di Milano. 2008;1–6. Available from: <http://www.icup.org.uk/reports\ICUP884.pdf>

**World Health Organization.** Protocolo de evaluación de efecto insecticida en *Triatoma infestans*. Argentina: Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas 2005. p. 1-9

**World Health Organization.** Chagas diseases (American Trypanosomiasis) Geneve World health Organ Fact Sheet No. 340, 2016

**Stampini M, Girgenti P, Locatelli DP.** Activity of Deltamethrin on different surfaces against *Plodia interpunctella* larvae (Lepidoptera:Pyralidae). Ist di Entomol Agrar Univ degli Stud di Milano. 2008;1–6. Available from: <http://www.icup.org.uk/reports\ICUP884.pdf>

**Sfara, V., E. N. Zerba, and R. a. Alzogaray. 2006.** Toxicity of pyrethroids and repellency of diethyltoluamide in two deltamethrin-resistant colonies of *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 101: 89–94.