

**EFFECTO TÓXICO DE B-CIPERMETRINA, DELTAMETRINA Y FENITROTIÓN EN  
CEPAS DE LABORATORIO DE *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*  
EN COLOMBIA**

**Proyecto de grado presentado por  
MARLENE REYES JEREZ**

**Para aspirar al título de Biólogo**

**Dirigido por  
Dr Md. VICTOR MANUEL ANGULO SILVA**

**Asesores  
Lic Biología CLAUDIA MAGALY SANDOVAL  
Dr. EDUARDO NICOLÁS ZERBA  
Dr. RAUL ALZOGARAY**

**Este Trabajo hace parte del proyecto**

**Determine insecticida activity of organophosphorates and pyrethroids in  
*Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in Colombia**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
BUCARAMANGA, 2005**

**EFFECTO TÓXICO DE B-CIPERMETRINA, DELTAMETRINA Y FENITROTIÓN EN  
CEPAS DE LABORATORIO DE *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*  
EN COLOMBIA**

**MARLENE REYES JEREZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA  
BUCARAMANGA, 2005**

## **DEDICATORIA**

**A ti madre aunque hoy tu cuerpo no está presente siempre estarás en mi corazón.**

**A mi padre por enseñarme los verdaderos valores de la vida.**

**A Jhon Faber por todo su amor.**

**A Sergio y Laura con todo mi amor.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta investigación recibió apoyo financiero de la Organización Mundial de la Salud O.M.S; a través del Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales CINTROP-UIS, con la dirección del Doctor Víctor Manuel Angulo.

El CINTROP-UIS presto sus instalaciones para la realización del trabajo.

Agradezco la asesoría y evaluación de los manuscritos al Doctor Eduardo Nicolás Zerba Director del Centro de Investigaciones de Plagas e insecticidas. CIPEIN. (Buenos Aires-Argentina)

Agradezco la Evaluación oportuna de los manuscritos al Doctor Raúl Alzogaray Docente Investigador del Centro de Investigaciones de Plagas e insecticidas CIPEIN. (Buenos Aires-Argentina).

Agradezco a la Licenciada en Biología Claudia Magaly Sandoval por su dedicación en la guía de este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>2</b>
<b>2.1 OBJETIVO GENERAL</b>	<b>2</b>
<b>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>2</b>
<b>3. CAPITULO I</b>	<b>3</b>
<b>3.1 RESUMEN</b>	<b>3</b>
<b>3.2 SUMMARY</b>	<b>5</b>
<b>3.4 INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>3.5 MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>10</b>
<b>3.51</b> Material biológico	<b>10</b>
<b>3.5.2</b> Ciclo de vida de <i>Triatoma dimidiata</i> en laboratorio	<b>10</b>
<b>3.5.3</b> Producción de ninfas de V estadio de <i>Triatoma dimidiata</i> y estandarización del peso y tiempo de ayuno.	<b>10</b>
<b>3.5.4</b> Actividad insecticida de la $\beta$ -cipermetrina en ninfas de V estadio de <i>Triatoma dimidiata</i> en diferente condición nutricional	<b>11</b>
<b>3.5.5</b> Análisis de los resultados	<b>11</b>
<b>3.6 RESULTADOS</b>	<b>12</b>
<b>3.6.1</b> Ciclo de vida de <i>T. dimidiata</i> en laboratorio	<b>12</b>
<b>3.6.2</b> Ninfas de V estadio de <i>T. dimidiata</i> según Tiempo de ayuno y peso	
<b>3.6.3</b> Actividad insecticida de la $\beta$ -cipermetrina en ninfas de V estadio de <i>T. dimidiata</i> en diferente condición nutricional	<b>12</b>
<b>3.7 DISCUSIÓN</b>	<b>13</b>
<b>3.8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>16</b>

<b>3.9 LISTA DE TABLAS</b>	<b>19</b>
<b>4. CAPITULO II</b>	<b>21</b>
<b>4.1 RESUMEN</b>	<b>21</b>
<b>4.3 SUMMARY</b>	<b>23</b>
<b>4.4 INTRODUCCIÓN</b>	<b>25</b>
<b>4.5 MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>27</b>
4.5.1 Material biológico	27
4.5.2 Insecticidas	27
4.5.3 Bioensayos (Evaluación del efecto insecticida)	27
4.5.4 Análisis de datos	28
<b>4.6 RESULTADOS</b>	<b>29</b>
<b>4.7 DISCUSIÓN</b>	<b>31</b>
<b>4.8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>34</b>
<b>4.9 LISTA DE TABLAS</b>	<b>38</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>40</b>
<b>6. RECOMENDACIONES</b>	<b>41</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA GENERAL</b>	<b>42</b>

## TITULO DEL PROYECTO:

### **EFECTO TÓXICO DE B-CIPERMETRINA, DELTAMETRINA Y FENITROTIÓN EN CEPAS DE LABORATORIO DE *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata* EN COLOMBIA**

#### **INTRODUCCION**

*Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata* son vectores importantes de *Trypanosoma cruzi* agente transmisor de la enfermedad de chagas (Tripanosomiasis Americana) la cual está ampliamente distribuida en Latino América. En Colombia se estima que el 5% de la población se encuentra infectada y el 20% se encuentra en riesgo de adquirir la enfermedad la cual anualmente presenta una incidencia de 500.000 nuevos casos de los cuales el 55% corresponden a niños que posteriormente desarrollaran una cardiopatía de carácter mortal por tal motivo la estrategia de control vectorial y transfusional se basan en frenar la aparición de nuevos casos en niños y jóvenes.

En el país una de las estrategias que hacen parte del control integrado es la aplicación de insecticidas de acción residual de las poblaciones de vectores domiciliados.

En Santander se ha reportado a *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata* como las principales especies con tasas de infección con tripanosomatidos del 11.9% y del 48% respectivamente. Además la aparición en el país de especies que se creían de poca importancia como *Triatoma maculata* en el Cesar y la zona Norte del país por dicha situación se hace necesario la cuantificación de la eficacia insecticida tendientes al conocimiento del efecto insecticida de las especies vectoras en la región; mediante la implementación de metodologías como el protocolo de WHO 1994 de *Triatoma infestans* para evaluar la actividad insecticida de dos piretroides y un organofosforado. La estandarización de las líneas bases susceptibles a los insecticidas para cada especie permite la comparación de las cepas de referencia con las poblaciones de campo para dar inicio al monitoreo de resistencia en campo en Santander y demás zonas donde estas especies son endémicas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL:

Estimar la toxicidad de las cepas de *Triatoma dimidiata* en ninfas de I-V estadio y en cepas de *Triatoma maculata* en ninfas de I estadio a la  $\beta$ -cipermetrina, Deltametrina y Fenitrotion.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Adaptar el protocolo de *Triatoma infestans* WHO 1994 a las cepas de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*.
- Determinar el ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* en condiciones de laboratorio.
- Estandarizar el peso y tiempo en el estadio de los insectos utilizados en el bioensayo.
- Determinar la actividad insecticida de la  $\beta$ -cipermetrina en ninfas de V estadio de *Triatoma dimidiata* en diferente condición nutricional.
- Determinar la DL 50, 95 y 99 mediante aplicación tópica de los principios activos insecticidas Deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión en ninfas de I estadio de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*
- Determinar la DL 50, 95 y 99 mediante aplicación tópica de los principios activos insecticidas Deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión en ninfas de V estadio de *Triatoma dimidiata* .
- Medir el potencial insecticida Deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión en *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*.
- Estandarizar la línea base susceptible de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata* a los insecticidas Deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión (principios activos) en Santander.

### 3. CAPITULO I

#### 3.1 RESUMEN

**TITULO:** Ciclo de Vida de *Triatoma dimidiata* (latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae) y condiciones de las ninfas de V estadio para evaluación de la actividad insecticida \*

**AUTORES:** Marlene Reyes Jerez\*, Víctor Manuel Angulo Silva\*\*

\* Facultad de Ciencias; Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander.

\*\* Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales de la Universidad Industrial de Santander.

**DIRECTOR:** Victor Manuel Angulo Silva

**PALABRAS CLAVES:** Triatominos, *Triatoma dimidiata*,  $\beta$ -cipermetrina, ciclo de vida, insecticida, bioensayos

#### **DESCRIPCIÓN O CONTENIDO:**

El comportamiento de *Triatoma dimidiata* en laboratorio permite seleccionar parámetros necesarios para aplicación de protocolos estandarizados de evaluación de la actividad insecticida. Determinar el ciclo de vida de *Triatoma dimidiata* y las condiciones de las ninfas de V estadio, necesarias para establecer las líneas de base de susceptibilidad a piretroides.

En una cohorte de huevos se obtuvo el tiempo de desarrollo en condiciones controladas. Con el registro de peso y tiempo de ayuno, en ninfas alimentadas y no alimentadas de V estadio, se estableció el rango de mayor número de ninfas a usar en los bioensayos. Mediante aplicación tópica de  $\beta$ -cipermetrina se obtuvo la DL50 en cada grupo de ninfas seleccionado.

La incubación de los huevos tomo 28 días, el tiempo medio de huevo a adulto fue de 269 días y el 1<sup>er</sup>, 2<sup>do</sup>, 3<sup>er</sup>, 4<sup>to</sup> y 5<sup>to</sup> estadio fue de 33, 37, 41, 61 y 69 días

\* Tipo de proyecto: Trabajo de grado

respectivamente; y la mortalidad total fue de 22%. Las ninfas de V estadio alimentadas con ayuno de 7 días y sin alimentar con 10 a 12 días seleccionadas mostraron una DL50 de 432.565 ng/i y 1623.589 ng/i respectivamente.

*Triatoma dimidiata* presentó un tiempo de desarrollo intermedio entre los triatominos. Las ninfas de V estadio sin alimentar en las cuales se logró establecer la DL50 para  $\beta$ -cipermetrina representan material biológico de fácil obtención en el laboratorio, que permite el uso de gran cantidad de ninfas para la aplicación de protocolos estandarizados en la evaluación de la actividad insecticida, que permitan establecer criterios de selección de compuestos para la búsqueda de estrategias comunes de control.

### 3.2 SUMMARY

**TITLE:** Life cycle of *Triatoma dimidiata* (latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae) and conditions of nymphs V instar for evaluation of the insecticide activity.\*

**AUTHORS:** Marlene Reyes Jerez\*, Víctor Manuel Angulo Silva\*\*

\* Facultad de Ciencias; Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander.

\*\* Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales de la Universidad Industrial de Santander.

**DIRECTOR :** Victor Manuel Angulo Silva

**KEY WORDS:** Triatominae, *Triatoma dimidiata*,  $\beta$ -cypermethrin, life cycle, insecticide, bioassay.

#### **DESCRIPTION OR CONTENT:**

The behavior of *Triatoma dimidiata* in laboratory allows to select necessary parameters for application of standardized protocols of evaluation of the insecticide activity.

To determine the life cycle of *Triatoma dimidiata* and the conditions of the nymphs of V instar necessary to establish the base lines of susceptibility to pyrethroid.

In a cohort of eggs the time of development in controlled conditions was obtained. With the registration weight and time of fast, in nymphs fed and not fed of V instar, settled down the range of more number of nymphs to use in the bioassays. By of topical application of  $\beta$ -cypermethrin the was obtained DL50 in each group of nymphs selected. Egg incubation took 28 days, the mean time from egg to adult was of 269 days, and the 1st, 2nd, 3rd,4th and 5th instar was of 33, 37, 41, 61 and 69 days respectively; and the total mortality was of 22%. The nymphs 5th instar fed with 7 days of fast and without feeding with 10 to 12 days selected, they showed a DL50 of 432.565 ng/i and 1623.589 ng/i respectively.

*Triatoma dimidiata* presented a time of development intermission among the triatominos. The nymphs of 5th instar without feeding in which it was possible to

establish the DL50 for  $\beta$ -cypermethrin represent biological material Of easy obtaining in the laboratory that allows the use of great quantity of nymphs for the application of protocols standardized in the evaluation of the insecticide activity, to establish approaches of selection of compounds for the search of strategies common of control.

### 3.4 INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una zoonosis exclusiva de Latino América, causada por *Trypanosoma cruzi* y transmitida a los humanos por diferentes especies de insectos triatomínicos que ocupan hábitat domiciliarios y afecta 16 a 18 millones de personas y 100 millones están en riesgo de infección.

En Centro América y la Zona Andina la reducción de niveles de infestación por *Rhodnius prolixus* debido a la iniciación de programas estatales de intervención ha hecho que *Triatoma dimidiata* emerja como la especie de mayor importancia en la transmisión en algunas zonas geográficas de estos países; en Colombia se ha visto una amplia y creciente dispersión en los últimos años (2)

*T. dimidiata* se encuentra con frecuencia en las habitaciones humanas pero también en habitats peridomésticos y silvestres, muy cerca a viviendas rurales e incluso en zonas urbanas ; el hallazgo con sangre humana ingerida y altas tasas de infección por *T. cruzi* hacen suponer una participación activa en la transmisión de la infección al hombre (3,4). Este comportamiento y la menor eficacia de los insecticidas utilizados a provocado que los programas de intervención no logren los mismos resultados obtenidos en zonas infestadas con *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus* (5,6)

A pesar de que *T. dimidiata* es una especie endémica en estos países, son pocos los estudios sobre las características de su ciclo biológico y no existe información sobre la determinación de las condiciones requeridas para la utilización de estadios juveniles en pruebas de evaluación de la actividad insecticida. Algunos trabajos con material entomológico de Centro América han aportado información sobre el tiempo de desarrollo de los estados ninfales, capacidad de ayuno por estado de desarrollo, capacidad de ingesta y tiempo medio de desarrollo del ciclo de vida (7).

Antes de 1975, los insecticidas y sus formulaciones usados para el control de los vectores de la enfermedad de Chagas fueron evaluados directamente en campo, sin previos bioensayos de funcionamiento en laboratorio, con triatomínicos bajo condiciones estandarizadas. La expectativa fallida, en el uso en campo del DDT en las campañas iniciales de control de triatomínicos, han demostrado la importancia de tales bioensayos como primer paso para conocer la eficacia de estos; a fin de prever y manejar

eventuales futuros fracasos de tratamientos de control (8).

La determinación de la susceptibilidad de los Triatominos a insecticidas en el laboratorio es utilizada para monitorear la emergencia y la evolución de la resistencia de los insectos a estos. Uno de los mayores problemas que se ha tenido es la carencia de protocolos estandarizados que deben incluir las características de los insectos y las condiciones en las que deben realizarse los ensayos. Debe tenerse un número mínimo de individuos con características físicas similares, con pesos homogéneos pues es bien conocida la influencia del estado nutricional en la respuesta en pruebas de susceptibilidad a insecticidas.

Los trabajos hechos en Latinoamérica son escasos, dispersos con diversas metodologías que no son comparables y que dificultan la interpretación (9); por tal razón el programa de Investigación y Adiestramiento en Enfermedades Tropicales (TDR) de la Organización Mundial de la Salud OMS/Banco Mundial/PNUD adoptó un protocolo estandarizado de bioensayos, utilizado para cuantificar la eficacia y efectividad a insecticidas de los principios activos y sus formulaciones a nivel de laboratorio y de campo para las principales especies vectoras de la enfermedad de chagas como: *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*.

En estos se determinan algunas condiciones básicas como tiempo de ayuno, peso, edad en el estadio y estado de alimentación (9,10);

previos trabajos han encontrado importantes diferencias en susceptibilidad a insecticidas entre Triatominos de diferente especie, estadio, edad en el mismo estadio, periodos de ayuno, proximidad a la muda y estado nutricional este rango de variación individual en poblaciones de insectos, es comúnmente conocido (11,12,13,14,15).

Estas condiciones no han sido determinadas para *T. dimidiata*, especie que denota algunas diferencias en su comportamiento y desarrollo en el laboratorio con respecto a estas especies; por lo que se hace necesario para la aplicación de dicho protocolo estandarizar las características de las ninfas a utilizar en los bioensayos de evaluación de la actividad insecticida .

La determinación de las características del ciclo biológico para conocer el comportamiento de esta especie en laboratorio y la estandarización de las condiciones

físicas como: la influencia de la ingesta y el peso ( estado nutricional) que permitan evaluar la actividad insecticida en una cepa susceptible fue el propósito de este estudio.

### 3.5 MATERIALES Y MÉTODOS

**3.5.1 *Material biológico:*** Se utilizó una cepa procedente del municipio de San Joaquín área endémica para la Enfermedad de Chagas en Santander; La cría de esta cepa se inició desde 1998 y se ha mantenido en el laboratorio sin aporte de material externo en condiciones ambientales controladas ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 70-80 % HR y fotoperíodo controlado 12 horas luz, 12 horas oscuridad), alimentadas cada 15 días con sangre de gallina.

**3.5.2 *Ciclo de vida de T dimidiata en laboratorio*** Se realizó el seguimiento al ciclo de vida; a partir de una cohorte de 102 huevos mantenidos en las condiciones ya señaladas. Después de la eclosión las ninfas fueron colocadas en lotes de 20 individuos en frascos plásticos 4x15 cm. de boca ancha cubiertos con un tul, sostenidos con una banda de caucho. Se alimentaron cada 15 días con sangre de gallina; cada día se determinó y registró la mortalidad y el número de ninfas mudadas; con este registro del número de días que transcurrieron hasta la muda de cada insecto; se determinó el tiempo medio de desarrollo para cada estadio y tiempo promedio total de huevo a adulto.

**3.5.3 Producción de ninfas de V estadio de T. dimidiata para bioensayos y estandarización del peso y tiempo de ayuno.** Con 10 hembras y 10 machos se obtuvo la postura y el crecimiento de la colonia para obtener las ninfas V por un periodo aproximado de 15 meses.

Para identificar el rango de peso con el mayor número de ninfas de quinto estadio y sus condiciones nutricionales (alimentadas y no alimentadas); que permitieran evaluar los niveles de susceptibilidad a insecticidas; se determinó el peso y en individuos alimentados con diferentes días de ayuno y en individuos no alimentadas .

Lotes de aproximadamente 60 de estas ninfas de V estadio, separadas en grupos de 30 fueron alimentadas durante una hora a los 7, 8, 11, 12, 13,15 y 22 días después y los individuos de cada uno de estos lotes fueron pesados en una Balanza analítica 7 días después; el peso de cada individuo de cada grupo (identificado con el número de días de ayuno), fue registrado en una base de datos; y los individuos según su peso fueron incluidos en 8 rangos con intervalos de 100mg. De igual manera ninfas de V

estadio sin alimentar con 10 a 12 días en el estadio fueron pesadas. Para los bioensayos fueron seleccionados los individuos alimentados y no alimentados del rango de peso con mayor número de ninfas.

**3.5.4 Actividad insecticida de la  $\beta$ -cipermetrina en ninfas de V estadio de *T. dimidiata* en diferente condición nutricional** Ninfas de V estadio alimentadas del grupo seleccionado con el criterio anterior ( 7 días de ayuno ) fueron tratadas con el ingrediente activo  $\beta$ -cipermetrina al 99.4% (Chemotecnica Sintyal, Argentina) diluido en acetona (J.T Baker,México) por aplicación tópica de  $\beta$ -cipermetrina 7 días después de igual manera se procedió con las ninfas sin alimentar entre 10 a 12 días en el estadio. Se aplicaron 4 dosis de 0.5  $\mu$ l de la solución, a 10 ninfas por dosis, de cada uno de los grupos, con mínimo tres réplicas de cada bioensayo. Esta soluciones fueron aplicadas con una microjeringa Hamilton de 25  $\mu$ l provista con descargador repetitivo; en la superficie dorsal del abdomen de cada ninfa V.La lectura de la mortalidad fue realizada a las 72 horas.

**3.5.5 Análisis de los resultados:** Para determinar la distribución de los pesos se establecieron las frecuencias para los días de ayuno prealimentación en rangos. El ciclo de vida se estableció mediante el cálculo de la media para cada estado de desarrollo. Con los datos de porcentaje de mortalidad medido a las 72 horas en la  $\beta$ -cipermetrina se calcularon los parámetros estadísticos DL50 y DL99 usando el programa EPA PROBIT versión 1.5 de 1999.

### 3.6 RESULTADOS

**3.6.1 Ciclo de vida de *T. dimidiata* en laboratorio** La rata de eclosión de los huevos fue de 100% en *T. dimidiata* con un periodo medio de incubación de 27.9 días, ochenta ninfas completaron su desarrollo hasta el estado adulto (48 machos y 32 hembras). Las ninfas de primer y segundo estadio en promedio completaron su desarrollo en 33 y 38 días respectivamente, las ninfas de tercer y cuarto estadio 41 y 61 días en promedio y el quinto estadio fue el más prolongado con una duración de 69 días para llegar al estado adulto. El mayor porcentaje de mortalidad se presentó en ninfas de primer estadio con (6%) y declinó durante el desarrollo de los estadios ninfales con un crecimiento en ninfas de tercer estadio (5%). con un total de mortalidad de la cohorte de (22 %). El tiempo medio de desarrollo de huevo a adulto fue de 269 días. (Tabla I).

**3.6.2 Ninfas de V estadio de *T. dimidiata* producidas según Tiempo de ayuno y peso** fueron obtenidas 1.918 ninfas de V estadio distribuidas según el tiempo de la muda en 25 lotes. La mayor cantidad de ninfas alimentadas según los rangos de peso se obtuvo entre 200 a 300 mg a los 7, 13 y 22 días de ayuno con un número de ninfas de V estadio de 350, 189 y 120 respectivamente y un total de 840 ninfas. En las ninfas sin alimentar el mayor número de ninfas de V estadio se incluyó en el rango de 0.0001 a 100 mg de peso. Sin embargo un número importante de ninfas de V estadio alimentadas se obtuvo también en el rango de 100-200 mg de peso con 547 ninfas. (Tabla II).

**3.6.3 Actividad insecticida de la  $\beta$ -cipermetrina en ninfas de V estadio de *T. dimidiata* en diferente condición nutricional** Los valores estadísticos DL50 1623,589 ng/i ninfas sin alimentar indican una menor actividad de la  $\beta$ -cipermetrina por aplicación tópica en las ninfas alimentadas en las cuales la DL50 fue de 432,565 ng/i. Estas diferencias fueron significativas ( $P < 0.05$ ) (Tabla III).

### 3.7 DISCUSIÓN

Las colonias de Triatominos son mantenidas en insectarios con temperaturas constantes, humedad relativa y una alimentación regulada, tales condiciones son diferentes al ambiente natural que habitan; donde la variedad de climas influyen el metabolismo de los insectos y las necesidades de estado nutricional requeridos para desarrollar el ciclo de vida (16).

El tiempo medio de desarrollo de *Triatoma dimidiata* bajo las condiciones de este estudio, fue similar a lo reportado por Zeledón con 271.2 días (7); sin embargo fue más largo que lo informado para otras especies de *Triatoma* con 212 días en *Triatoma mazzottii* (17), 150 días para *T. infestans* (18), 160 días en *Triatoma maculata* (19) y más corto que los 360 días reportados para *Triatoma lenti* (20); *T. dimidiata* como *Triatoma sordida* y *Triatoma patagonica* presentan un tiempo de duración del desarrollo intermedio (6 a 11 meses) en comparación con especies como *R. prolixus* y *T. infestans* (3 a 5 meses) (21) y otras como *Triatoma pallidipennis* que se extiende hasta 2 años o más. (22)

*Triatoma dimidiata* en este estudio presentó una fertilidad de los huevos del 100% mayor que la reportada por Zeledón (67%) en condiciones de temperatura mayor en un grado y en rango de humedad muchos menores lo que demuestra un potencial biótico mucho mayor que en otras especies como *T. infestans* (81%) y *T. mazzottii* (86%). Esta gran fertilidad y la alta fecundidad de las hembras con una producción de 17 huevos diarios representa una gran ventaja con mayor probabilidad de supervivencia de las colonias (7,18,17,24).

*Triatoma dimidiata* es una especie muy poco agresiva; en condiciones de laboratorio pues no se alimenta tan fácilmente, y su tiempo de ingesta es prolongado más de una hora y frecuentemente no se alimentan a total repleción; ingiriendo cantidades variables de sangre entre 4,5 mg para el primer estadio hasta 421,3 en el quinto estadio (7,23,24). Algunos individuos no ingirieron sangre aunque fueron observadas ninfas tratando de alimentarse este tipo de conducta alimenticia puede ser un factor que afecta el desarrollo hacia el estadio siguiente, por ausencia de estímulo para producción de la hormona estimuladora de la ecdisis (ecdisona) (24).

La mortalidad observada en este estudio es mucho menor que la reportada por Zeledón para esta misma especie en colonias alimentadas con sangre de conejo, 52.4% en total y 22%, 11% y 19.4% en ninfas de I, II y V estadio respectivamente y semejante a la de *Triatoma longipennis* para II, III, IV, V en total ( 7,25).

A pesar de su comportamiento poco agresivo hacia la fuente alimentaria observado en el laboratorio; existen varios aspectos compensatorios relacionados con su éxito en la competencia que le permiten eludir a depredadores y exponerse a la acción de insecticidas: su alta tasa de reproductividad, su baja mortalidad al menos demostrada en este estudio en condiciones de laboratorio, su largo ciclo de vida y el marcado instinto de las ninfas a camuflarse en el polvo, aserrín y montones de leña (5, 26,27).

Otro factor importante que contribuye es su amplia distribución en ambientes domésticos y peridomésticos y su densidad; la cual puede llegar a 70 insectos por vivienda(5) ; en ambientes silvestres se ha encontrado hasta 87 adultos y ninfas, capturados a 300 metros de una vivienda en un mojón de piedras por hora compartiendo hábitat con *T. maculata* ( datos sin publicar).

El mayor número de ninfas de V estadio alimentadas disponibles para los ensayos se obtuvo en los rangos de peso de 200-400 mg siendo el mas abundante el rango de 200-300 mg y con 7 días de ayuno, diferente a lo encontrado en *R. prolixus* y *T. infestans* el cual fue de 100-160 mg con igual tiempo de ayuno.(28,29 ) la producción asincrónica de ninfas alimentadas debida a la poca avidez en cada lote de ninfas V, no permitió un número suficiente y simultaneo que pueda ser utilizado con varios insecticidas, lo que significó gran pérdida de material biológico representando una desventaja para su uso en estas pruebas de evaluación de la actividad insecticida.

En las ninfas no alimentadas el único rango de peso disponible fue el de 0001- 100 mg pues su condición de inanición no permitió obtener el mayor desarrollo con rangos de pesos superiores.

Las diferencias encontradas en la actividad insecticida de la  $\beta$ -cipermetrina en ninfas de V quinto estadio ayunadas y alimentadas de *T. dimidiata* la cual evidencia mayor susceptibilidad de ninfas alimentadas sugieren una baja absorción de este insecticida en ninfas ayunadas.

En ninfas de II estadio de *T.infestans* en ayunas se ha encontrado un importante incremento de la mortalidad con el DDT atribuida al penetración de este insecticida (30 ); estas diferencias de penetración en ninfas ayunadas sugieren muy baja absorción del insecticida que unido con caminos metabólicos de desintoxicación ya establecidos podrían explicar una actividad del insecticida muy baja.

Estos resultados nos muestra el establecimiento de líneas de base de susceptibilidad en una cepa susceptible de una especie endémica que nos sirven como patrón de comparación con cepas traídas de campo.

Un extensivo programa de monitoreo de la resistencia en Latinoamérica es ahora posible a través la determinación en la especie de importancia epidemiológica, de parámetros esenciales para la aplicación del protocolos estandarizados en los países Latinoamericanos lo cual permitirá aunar criterios de selección de compuestos para la búsqueda de estrategias comunes de control.

Declaración de conflicto de interés

No hay conflicto de interés.

**Financiación** Este estudio fue financiado por UNDP/ World Bank/ WHO Special programme for Research & Training in Tropical Disease (TDR) proyecto ID: 990163

### 3.8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moncayo A. Chagas disease: Current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone Countries Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003; 98 (5): 577-591.
2. Guhl F, Angulo V M, Restrepo M, Nicholls S, Montoya R. Estado del arte de la enfermedad de Chagas en Colombia y estrategias de Control. Biomédica 2003; 23:31-34.
3. Schofiel CJ, Diotaiuti L, Dias JCP. Control of Triatominae in Latin America  
Dept. infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London WC1 E7HT, UK\* Centro de pesquisas René Rachou, 30190-002 Belo Horizonte, MG, Brasil.
4. Calderón A O, Chinchilla M, García Fenmado, Vargas M. Preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) procedente de la meseta central de Costa Rica a finales del siglo XX. 2001. Parasitol. día, vol 25n.3-4.
5. Zeledón R, Solano G, Zuñiga A, Swartzwelder J C. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (LATREILLE, 1811) III. Habitat and blood sources. J. Med. Ent. 1973. Vol, 10 no.4: 363-370.
6. Angulo V M. Ensayo de estrategias de control y vigilancia de *Triatoma dimidiata*, En Colombia. In Guhl F (Eds). Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas. Bogotá 2005 Pp.91-102.
7. Zeledón R, Guardia V M, Zuñiga A, Swartzwelder J C. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (LATREILLE, 1811) I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance to starvation, and size of adults. J. Med. Ent. 1970. Vol, 7 no.3: 313-319.
- 8 [WHO] World health organization. Control of Chagas disease. Technical report series 905. Second report of the WHO expert committee. Geneva 2002.
9. Nelson M.J. Experiencias en el monitoreo de niveles de susceptibilidad de los Triatomíneos a los insecticidas en las Américas. Acta Toxicol. Argent. (1994) 2 (1y2):29-58.

10. [WHO] Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre Triatominos. Acta Toxicol Arg 1994;2:29-32.
11. Rojas de Arias A, Lehane MJ, Schofield CJ, Fournet A. Comparative evaluation of pyrethroid insecticide formulations against *Triatoma infestans* (Klug): Residual efficacy on four substrates Mem Inst Oswaldo Cruz .2003; 98 (7): 975-980.
12. Oliveira Filho A M., Differences of susceptibility of five Triatomine Species to Pyrethroid Insecticides- Implications for Chagas Disease Vector Control. Mem Inst Oswaldo Cruz.1999; 94: 425-28.
13. Wood E, Picollo M.I, Zerba E.Comparación entre la variación de la capacidad detoxificante y la diferente susceptibilidad al insecticida Malatión entre ninfas V de distinta edad de *Triatoma infestans*. An. Asoc. Quím. Argent.1993:81(2-3) 153-162.
14. Fontán A & Zerba E N. Mode of entry of insecticidas in *Triatoma infestans*. Archives on Insect Biochemistry and physiology. 1987: 4,313-323.
15. Zerba E.Chemical control of Chagas Disease vectors.Biom.and Environ.Sci. 1989;2:24-29.
- 16.Canale M D, Jurberg J, Carcavallo U R, Galvao C, Segura M C, Silva R D, Martínez A, Galíndez G I, Bionomics of same species. Atlas Of chagas disease vectors in the Américas. Editorial Fiocruz Vol III capitulo 19 pag 839-890.
- 17.Malo E A; Ramirez R A,Cruz L,Rojas J. Lyfe cycle and influence of age and feeding on the first mating of *Triatoma mazoottii* (Hemiptera:Reduviidae) Mem Inst Oswaldo Cruz.1993; 88 (2): 203-206.
- 18 Rabinovich JE. Vital statistics of Triatominae, (Hemiptera:Reduviidae) under laboratory conditions.*Triatoma infestans* Klug.J.Med.Entomol.1972; 9: 351-370
19. Feliciangeli MD, & Rabinovich JE.1985 Vital statistics of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory condition. J. Med. Entomol. 1985;22: 43-48.
20. Sherlock & Serafim. Ciclo de vida de *Triatoma lenti* 1967(Hemiptera , Reduviidae, Triatominae).Entomología y vectores. 1994 vol 1 N<sub>o</sub>. 2
21. Schofield C J. Triatominae: Biología y Control. West Sussex: Eurocommunica Publications 1994 pp 80.
22. Mena S C,Carcavallo R U, Galíndez G I, Canale D. Ciclo de vida de *Triatoma pallidipennis* ( Stal, 1872) (Hemiptera,Reduviidae,Triatominae). Enntomología y vectores.1994 Año1. N<sub>o</sub> 1.

23. Zeledón A R, Guardia V M, Zúñiga A , Swartzwelder J C. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) II. Life span of adults and fecundity and fertility of females. Journal of Medical Entomology. 1970 ; 7: ( 4) 462-469.
24. Friend W G & Smith B J J. Fisiología de los Triatominos con especial referencia a la alimentación por sangre. En Factores Biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas.1985 Tomo I: 55-81. ECO-OPS/SNCH-MSAS.
25. Paz R R. Ciclo de vida y datos biométricos de *Triatoma Longipennis* (Usinger) (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae) Tesis de grado Universidad Nacional autonoma de México.1996; 96 pag
26. Zeledón R, Montenegro VM, Zeledón O. Evidence of colonization of Man-made Ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille,1811) in Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz, 200196;5:659-660.
27. Zeledón R. *Triatoma dimidiata* (LATREILLE). En Factores Biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas.1985 Tomo I cap 17: 225-236. ECO-OPS/SNCH-MSAS.
28. CIPEIN CITEFA .Protocolo de evaluación de efecto insecticida en *Rhodnius prolixus*.World Health organization UNDP/WORLD BANK/who SPECIAL PROGRAMME TDR. Anexo II En Monitoreo de la resitencia en Triatominos en America Latina. Mundo Sano .Pp 61-67
29. CIPEIN CITEFA .Protocolo de evaluación de efecto insecticida en *Triatoma infestans* World Health organization UNDP/WORLD BANK/who SPECIAL
30. Fontán A & Zerba E N.Influence of the nutritional state of *Triatoma infestans* over the insecticidal activity of DDT.Comp.Biochem.Physiol. 1992;101C:N<sub>o</sub>3,pp 589-591.

### 3.9 LISTA DE TABLAS

TABLA I. Ciclo de desarrollo de huevo-adulto de *Triatoma dimidiata* alimentados cada 15 días con gallina.

Estadio	n	Duración en días			%
		Mínimo	Máximo	Media±DS	Mortalidad
<b>Huevo a NI</b>	102	24	30	27,9± 2.0	0
<b>NI-NII</b>	96	17	105	33,0± 15.5	6
<b>NII-NIII</b>	92	22	128	37,6± 14.1	4
<b>NIII-NIV</b>	87	30	104	41,0± 10.6	5
<b>NIV-NV</b>	83	30	142	60,7± 21.4	4
<b>NV-AD</b>	80	51	89	68,5± 8.4	3
<b>Huevo-Adulto</b>	80			268.91	22

TABLA II. Pesos en ninfas de V estadio de *Triatoma dimidiata* alimentadas en diferentes días de ayuno a utilizar en bioensayos de evaluación de actividad insecticida.

RANGO PESOS N V <i>T. dimidiata</i>	Ninfas V Sin alimentar 10-12 días n	DÍAS DE AYUNO PREALIMENTACIÓN							Total
		7	8	11	12	13	15	22	
		n	n	n	n	n	n	n	
0,0001 < x <= 100,00	69	20	4	0	1	7	0	1	33
101,00 < x <= 200,00	9	253	50	13	1	147	55	28	547
201,00 < x <= 300,00	0	350	40	20	30	189	91	120	840
301,00 < x <= 400,00	0	158	14	5	26	36	42	8	289
401,00 < x <= 500,00	0	70	3	3	1	6	5	1	89
501,00 < x <= 600,00	0	31	0	0	0	1	2	0	34
601,00 < x <= 700,00	0	6	1	0	0	0	0	0	7
701,00 < x <= 1000,0		1*							1
<b>TOTAL</b>	78	888	112	41	59	386	195	158	1840

\* Ninfa de V estadio de *Triatoma dimidiata* con 971 mg de peso excluida del estudio

TABLA III. Actividad de la  $\beta$ -cipermetrina sobre ninfas V en ayunas y alimentadas de *Triatoma dimidiata*

Estado nutricional	DL50 (ng/i)*	IC 95%	DL99 (ng/i)	IC 95%
ayunadas	1623.589	(1322.362-894.347)	11717.907	(6767.587-2048.426)
Alimentadas con gallina	432.565	(362.045-481.894)	1284.313	(974.395-2414.199)

## 4. CAPITULO II

### 4.1 RESUMEN

**TITULO:**

**Efecto tóxico de  $\beta$ -cipermetrina, deltametrina y fenitrotion en cepas de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) (Hemiptera, Reduviidae)\***

**AUTORES:** Marlene Reyes<sup>\*</sup>; Víctor Manuel Angulo<sup>\*\*</sup>; Claudia Magaly Sandoval<sup>\*\*</sup>.

\* Facultad de Ciencias; Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander.

\*\* Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales de la Universidad Industrial de Santander.

**DIRECTOR:** Víctor Manuel Angulo Silva

**PALABRAS CLAVES:** Triatomínicos, susceptibilidad, resistencia, insecticidas, *T. dimidiata*, *T. maculata*.

**DESCRIPCIÓN O CONTENIDO:**

La evaluación de la susceptibilidad a insecticidas de las diferentes especies de triatomínicos involucrados en la transmisión de la Enfermedad de Chagas de cada región; es indispensable para el éxito de las campañas de control.

Determinar la línea base de susceptibilidad para los principios activos Deltametrina  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión en ninfas de primer y quinto estadio de *Triatoma dimidiata* y en ninfas de primer estadio de *Triatoma maculata*.

Se aplicó una extensión del protocolo de resistencia en triatomínicos para las especies en estudio por la técnica de aplicación tópica.

Los valores de la DL50 en ninfas de primer estadio fueron para *T. maculata* 0.065 ng/i (Deltametrina); 0.053 ng/i ( $\beta$ -cipermetrina) y 4.12 ng/i Fenitrotión; para *T. dimidiata*: 0.443ng/i (Deltametrina), 0.450ng/i ( $\beta$ -cipermetrina) y 16.45 ng/i (Fenitrotión). En

ninfas de quinto estadio de *Triatoma dimidiata* 510,719ng/i (Deltametrina); 1623.589ng/i ( $\beta$ -cipermetrina) y 838.93 ng/i (Fenitrotión)

En ninfas de primer estadio de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*, resultó evidente la mayor eficacia de los insecticidas piretroides; en ninfas de quinto estadio de *Triatoma dimidiata*, la efectividad de los piretroides y el organofosforado fueron similares y la DL99 para este último fue significativamente menor. Las altas dosis utilizadas para esta especie muestran su baja susceptibilidad. Una mayor efectividad del organofosforado en campo podría esperarse, sin embargo estudios de efectos de sinérgicos podrán mostrar el posible rol de mecanismos bioquímicos que determine su tolerancia, esto representa un nuevo reto para las campañas de control en los países andinos y Centroamericanos donde esta especie es endémica.

## 4.2 SUMMARY

**TITLE:** Toxic effect of  $\beta$ -cipermethrin, deltamethrin and fenitrothion in colonies of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) and *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) (Hemiptera, Reduviidae)

**AUTHORS:** Marlene Reyes<sup>\*</sup>; Víctor Manuel Angulo<sup>\*\*</sup>; Claudia Magaly Sandoval<sup>\*\*</sup>.

\* Facultad de Ciencias; Escuela de Biología, Universidad Industrial de Santander.

\*\* Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales de la Universidad Industrial de Santander.

**DIRECTOR:** Victor Manuel Angulo Silva

**KEY WORDS:** Triatomines, susceptibility, resistance, insecticides, *T. dimidiata*, *T. maculata*

### **DESCRIPTION OR CONTENT:**

The evaluation of the susceptibility to insecticides of the different species from triatomines involved in the transmission of the Chagas Disease of each region; it is necessary for the success of the control campaigns.

To determine the line base of susceptibility for the active principles Deltamethrin,  $\beta$ -cypermethrin y Fenitrothion in nymphs of I and V instar of *Triatoma dimidiata* and in nymphs of I instar of *Triatoma maculata*.

An extension of the protocol of resistance in triatomines for the species in study by the technician topical application was applied.

The values of the DL50 in nymphs of I instar for *Triatoma maculata* were 0,065 ng/i (Deltamethrin); 0.053 ng/i ( $\beta$  -cypermethrin) and 4,12 ng/i Fenitrothion; for *Triatoma dimidiata*: 0.443ng/i (Deltamethrin), 0.450ng/i ( $\beta$  -cypermethrin) and 16,45 ng/i (Fenitrothion). In nymphs of V instar of *Triatoma dimidiata* 510,719ng/i (Deltamethrin); 1623.589ng/i ( $\beta$  -cypermethrin) and 838,93 ng/i (Fenitrothion).

In nymphs of I instar of *Triatoma dimidiata* and *Triatoma maculata*, the greater

effectiveness of pyrethroids insecticides was evident; in nymphs of V stage of *Triatoma dimidiata*, the effectiveness of the pyrethroids and the organophosphate were similar and the DL99 for the last one was significantly smaller. The high doses used for this species show their low susceptibility. A greater effectiveness of the organophosphate in field could be expected, however studies of effects of synergys could be show the possible role of biochemical mechanisms that it determines its tolerance, this represents a new challenge for the campaigns of control in the Andean and Central American countries where this species is endemic.

#### 4.4 INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas afecta a 21 países con más de 100 millones de personas en riesgo de infección, donde 16 a 18 millones están infectados (1). En Latinoamérica las especies domiciliadas mas importantes implicadas en la transmisión de *Trypanosoma cruzi* son *Triatoma infestans*, en los países del Cono sur, *Rhodnius prolixus* en Centro América y el Norte de Sur América y *Triatoma dimidiata* que se extiende a lo largo de la costa Pacífica desde México hasta el Ecuador y Norte de Perú (2,3,4). La gran capacidad de dispersión de *T. dimidiata* en los últimos 20 años asociado a una amplia diversidad de hábitat, domiciliarios, peridomiciliarios y silvestres en áreas rurales y viviendas de buena construcción en cabeceras municipales y algunas ciudades (5,4,6,7) han ubicado a está especie entre los principales blancos en las estrategias de control. En Colombia es el segundo vector en importancia (8,9,10) seguido de *Triatoma maculata* que se extiende en la zona nor oriental de Sur América colonizando con altos niveles de infestación ambientes domésticos, peridomésticos, silvestres y urbanos del país; indicando gran facilidad de dispersión y adaptación al domicilio humano (11,2,10).

Las experiencias de control vectorial en América Central, los países Andinos y del Cono sur han demostrado que una de las pocas alternativas prácticas de controlar la enfermedad de Chagas es a través del control de los triatominos domiciliarios (12,13). En Colombia en 1996 se creó el programa nacional de control vectorial de la transmisión de la enfermedad de Chagas en áreas endémicas (14) y se han iniciado campañas de control de manera esporádica con aplicación residual de insecticidas piretroides y organofosforados, complementado con políticas de mejoramiento de vivienda en algunos departamentos como Boyacá, Casanare, Santander, Norte de Santander y Arauca (14,15). La experiencia en la utilización de piretroides en zonas infestadas con Triatominos ha demostrado diferencias en susceptibilidad y resistencia incipiente en poblaciones de campo (16,17,18).

Aunque algunos países de Centroamérica han tenido éxito en la eliminación de colonias de *T. dimidiata* intradomiciliarias utilizando piretroides (19,20,21). Un estudio

reciente en Santander (Colombia), mostró altos niveles de infestación postratamiento y una de las causas sugeridas por los investigadores fue la presencia de poblaciones de esta especie con menor susceptibilidad al piretroide usado (5).

Teniendo en cuenta que en la situación actual colombiana, una de las estrategias que hace parte del control integrado de los triatominos es el uso de sustancias químicas insecticidas, se hace necesario que en el país se evalué el efecto triatomicida en el laboratorio, con el fin de monitorear la susceptibilidad y la resistencia de las poblaciones blanco a los insecticidas en uso. En el país pocos estudios sobre este tópico se reporta en la literatura y todos han estado dirigidos a evaluar la susceptibilidad y resistencia en *R. prolixus* (22,23). Ante la importancia que ha tomado *T. dimidiata* y *T. maculata* por su creciente dispersión en amplias zonas y la necesidad de conocer su comportamiento frente a los insecticidas, que permita orientar las políticas de control en el país, se propuso este estudio para establecer, en estas dos especies la línea básica de susceptibilidad a dos piretroides y un organofosforado, que puedan ser utilizadas como referencia para el monitoreo de la susceptibilidad y la resistencia a los ingredientes activos más utilizados en el control de las poblaciones de campo de importancia en la región; además de contribuir a la extensión de los protocolos de evaluación de la susceptibilidad y resistencia de los triatominos en Latinoamérica.

## 4.5 MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.5.1 Material biológico

Se utilizaron cepas de *T. dimidiata* y *T. maculata* provenientes de los municipios de San Joaquín y San José de Miranda, áreas sin tratamiento sistemático de control estatal. La cría de estas cepas se inició desde 1998 y se mantuvieron sin aporte de material externo en condiciones ambientales constantes de laboratorio  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 70-80 % HR y fotoperíodo controlado 12 horas luz, 12 horas oscuridad, alimentadas cada 15 días con sangre de gallina.

En los bioensayos con insecticidas fueron utilizadas ninfas de primer estadio de *T. dimidiata* y *T. maculata* eclosionadas entre 24-36 horas y peso promedio  $1.4\pm 2.1\text{mg}$  y  $0.6\pm 1.1\text{mg}$  respectivamente y ninfas de quinto estadio de *T. dimidiata* 10-12 días de edad, sin alimentar, con un peso promedio  $71\pm 127\text{mg}$ .

### 4.5.2 Insecticidas

Los insecticidas utilizados en este estudio fueron grado técnico. Deltametrina 99.1% (Agrevo S.A),  $\beta$ -cipermetrina 99.4% (Chemotecnica Sintyal, Argentina), y Fenitrotión 98.5% (Lab Dr.Ehrenstorfer-Schafers,Germany). Diluciones seriales de insecticidas fueron preparadas en acetona (J.T Baker, México).

### 4.5.3 Bioensayos

*Evaluación del efecto insecticida.* Ninfas de primer estadio de *T. dimidiata* y *T. maculata* y ninfas de quinto estadio de *T. dimidiata* fueron tratadas por aplicación tópica de principios activos (Fenitrotion,  $\beta$ -cipermetrina y Deltametrina) diluidos y aplicados con microjeringas Hamilton de 5 $\mu\text{l}$  y 25  $\mu\text{l}$  provistas con descargador repetitivo. En la región dorsal del abdomen a cada ninfa I y ninfa V estadio fue aplicado 0.1  $\mu\text{l}$  y 0.5  $\mu\text{l}$  de la solución respectivamente. Se utilizaron 10 ninfas por dosis con mínimo tres réplicas de cada bioensayo. Las cuatro dosis registraron entre el 10–90% de mortalidad y como control fueron utilizados 10 insectos por réplica con igual volumen de acetona. Después del tratamiento los insectos se colocaron en recipientes de boca ancha cubierto con tela de tul sostenido por bandas elásticas con

un papel plegado en el interior y mantenidos en una incubadora bajo condiciones ambientales constantes  $25 \pm 2$  °C, 70-80 % HR. La lectura de mortalidad para el insecticida organofosforado Fenitrotion se realizó a las 48 horas y para los piretroides  $\beta$ -cipermetrina y Deltametrina a las 72 horas después del tratamiento. El criterio de muerte fue establecido teniendo en cuenta el protocolo de evaluación del efecto insecticida en triatominos (24).

#### **4.5.4 Análisis de datos**

Con los datos de porcentaje de mortalidad medido a las 72 horas en los piretroides y 48 horas en el organofosforado, se calcularon los parámetros estadísticos DL50 y DL99 usando el programa EPA PROBIT versión 1.5 de 1999. Se aplicó una prueba de chi-cuadrado según el caso para comparar los niveles de significancia. También fue calculado el potencial insecticida de la  $\beta$ -cipermetrina y el Fenitrotión, tomando como referencia la Deltametrina por su comprobado efecto triatomicida:  $DL50$  de la Deltametrina /  $DL50$  de la  $\beta$ -cipermetrina o Fenitrotión x 100.

#### 4.6 RESULTADOS

Los parámetros estadísticos DL50 y DL 99 de Deltametrina y  $\beta$ -cipermetrina en ninfas de primer estadio de *T. dimidiata* son similares. Un análisis estadístico de los valores de DL50 por aplicación tópica de ambos piretroides que se muestran en el cuadro I indican una similitud estadística ( $P>0.05$ ). Ambos piretroides mostraron mayor toxicidad que el organofosforado con diferencias significativas en las DL50 ( $P<0.05$ ). En este estadio la DL99 también mostró una mayor toxicidad de los piretroides Deltametrina y  $\beta$ -cipermetrina respecto al organofosforado fenitrotión.

Los valores de las pendientes en ninfas de primer estadio de *T. dimidiata* a los insecticidas indican que la respuesta de la cepa fue heterogénea para Deltametrina (3.3) y  $\beta$ -cipermetrina (3.6) a diferencia de la respuesta homogénea del Fenitrotión (6.8) con diferencias estadísticas ( $P<0.05$ ).

Los valores obtenidos de DL50 y DL99 en ninfas de primer estadio de *T. maculata* en el cuadro I. muestran un efecto tóxico similar de la  $\beta$ -cipermetrina y Deltametrina sin diferencias significativas ( $P>0.05$ ). Los valores de DL50 y DL99 obtenidos en ambos piretroides indican que son significativamente menores (mayor toxicidad) que los determinados en Fenitrotión ( $P<0.05$ ).

Los valores de las pendientes en ninfas de primer estadio de *T. maculata* para Deltametrina (1.9),  $\beta$ -cipermetrina (2.7) y Fenitrotión (3.6) sugieren que la respuesta es heterogénea para los tres insecticidas.

Los valores DL 50 y DL 99 por aplicación tópica en ninfas de quinto estadio de *T. dimidiata* de los tres insecticidas se muestran en el cuadro II. Es sorprendente la baja toxicidad de los insecticidas estudiados en ninfas V de esta especie. Dentro de este contexto de marcada tolerancia, al tomar como parámetro la DL50 se observa que la Deltametrina y el Fenitrotión son más activos que la  $\beta$ -cipermetrina con diferencias significativas ( $P<0.05$ ). Con el parámetro estadístico DL99 encontramos mayor efectividad del Fenitrotión, frente a los piretroides con diferencias significativas ( $P<0.05$ ).

En ninfas de quinto estadio de *T. dimidiata* los valores de las pendientes encontrados en el cuadro II. Muestran que la respuesta de la población fue heterogénea para la Deltametrina (1.8) y para la  $\beta$ -cipermetrina.(2.7). En cambio se observó una respuesta homogénea para el Fenitrotión (8.9), con diferencias significativas respecto a ambos piretroides ( $P < 0.05$ ).

La efectividad insecticida, medida por el potencial insecticida se muestra en el cuadro III. En ninfas de primer estadio de *T. dimidiata*, la toxicidad intrínseca de la Deltametrina fue similar a la de la  $\beta$ -cipermetrina, ya que solo fue 1,02 veces mas efectiva, pero respecto al fenitrotión mostró una efectividad 37,1 veces mayor. En ninfas de quinto estadio, dentro de la marcada tolerancia observada a los insecticidas estudiados, la toxicidad intrínseca de la Deltametrina sólo fue 3,2 veces mayor que la de la  $\beta$ -cipermetrina y 1.6 veces mayor que la de Fenitrotión. En ninfas I de *T. maculata* el potencial insecticida a la  $\beta$ -cipermetrina mostró 1.22 veces más de efectividad que la Deltametrina y esta resultó 63 veces más efectiva que el Fenitrotión.

## 4.7 DISCUSIÓN

Un análisis de los valores de DL50 obtenidos para cada insecticida en ninfas de primer estadio de *T. dimidiata* y *T. maculata*, muestra claramente las diferencias de efectividad entre los insecticidas piretroides y el organofosforado en estudio, lo que está de acuerdo con la reconocida acción triatómica de los piretroides (25). Todos los principios activos insecticidas mostraron mayor toxicidad en ninfas de primer estadio que en ninfas de quinto estadio; estas diferencias de toxicidad pueden ser atribuidas a diferencias en los procesos de toxicocinética en cada uno de los estadios (26). Considerando las dos especies y respecto a todos los insecticidas estudiados en ninfas de primer estadio; *T. maculata* es más susceptible que *T. dimidiata* en parámetros de toxicidad expresados en peso de ingrediente activo insecticida en relación al peso del insecto vivo, condición observada por Oliveira Filho para *R. prolixus*, al compararlo con *T. infestans* y *P. megistus* (18).

Los resultados obtenidos en ninfas de quinto estadio de *T. dimidiata* mostraron la sorprendente tolerancia de las ninfas V de esta especie a los insecticidas estudiados, particularmente a la Deltametrina, que si bien fue el insecticida más efectivo, las dosis necesarias para causar volteo al 50% de los insectos tratados fueron muy altas en comparación con otras especies (27); 510 ng/i DL50 Deltametrina en este estudio versus de 1.27 ng/i DL50 informada para ninfas V de *Triatoma infestans* (18). Se puede plantear como hipótesis que mecanismos enzimáticos con rol clave en la detoxificación de insecticidas, particularmente de los piretroides, podrían tener alta actividad en ninfas V de *T. dimidiata* y así conferirles tolerancia frente a la acción triatómica.

Una menor y significativa respuesta tóxica a la  $\beta$ -cipermetrina en ninfas de V estadio en ayunas no se presenta en ninfas alimentadas (datos no publicados); resultados similares fueron observados en ninfas de II instar de *T. infestans* con DDT (28).

Una población de insectos susceptible a insecticidas presenta valores elevados de pendiente (Población homogénea) los que van disminuyendo cuando la respuesta de esta población se hace más heterogénea (29). Esta homogeneidad de respuesta de una población susceptible concuerda con los resultados obtenidos para el Fenitrotrion

en ninfas de primer y quinto estadio de *T. dimidiata* y ninfas de primer estadio de *T. maculata*. Sin embargo no concuerda con la respuesta heterogénea detectada para los insecticidas  $\beta$ -cipermetrina y Deltametrina en las dos especies. Probablemente esta heterogeneidad de respuesta en las especies estudiadas podría ser atribuida al particular modo de acción de los piretroides en triatominos, donde el efecto letal no tiene una muy clara manifestación y puede superponerse con un volteo prolongado según lo encontrado en *R. prolixus* (26). En *T. dimidiata* y *T. maculata* la intoxicación producida por piretroides se manifiesta por incoordinación, parálisis del tercer par de patas y movimientos convulsivos típicamente observados.

Al analizar los resultados obtenidos a través del cálculo del potencial insecticida en ninfas de primer estadio de *dimidiata* y *T. maculata* se observa nuevamente una mayor efectividad insecticida de los piretroides frente al organofosforado en este estadio. En las ninfas de quinto estadio de *T. dimidiata*, la toxicidad intrínseca de la Deltametrina fue mayor comparada con la  $\beta$ -cipermetrina, pero tanto las DL50 de los piretroides como la del Fenitrotión no muestran grandes diferencias (incluso la DL99 es mejor la del organofosforado). Si bien este resultado hace pensar en una mayor efectividad del fosforado en condiciones de campo, es necesario plantear que la tolerancia de las ninfas V de *T. dimidiata* a piretroides y Fenitrotión representa un problema para campañas de control de vectores de la enfermedad de Chagas en los países andinos y Centroamericanos.

Recientemente en Colombia han sido informadas altas prevalencias de infestación intradomiciliarias y peridomiciliarias desde los primeros meses postratamiento, a expensas de adultos y ninfas de cuarto y quinto estadio de *T. dimidiata*, con un aumento creciente del número de triatominos capturados cada mes de vigilancia en zonas rociadas con Deltametrina. (5) Nuevos estudios con sinergistas del efecto insecticida, no sólo podrían demostrar algún mecanismo que justifique esta tolerancia sino que también podrían aportar un mejoramiento de formulaciones insecticidas destinadas al control de *T. dimidiata*.

#### **Declaración de conflicto de interés**

No hay conflicto de interés.

## **Agradecimientos**

Al Doctor Eduardo Zerba y al CIPEIN por su asesoría y revisión de este manuscrito.

## **Financiación**

Este estudio fue financiado por UNDP/ World Bank/ WHO Special programme for Research & Training in Tropical Disease (TDR) proyecto ID: 990163

#### 4.8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. World health organization. Infectious diseases home. Specific information: disease. Available from: <http://www.who.int/ctd/chagas/burdens.htm>.(2004).
2. Dujardin JP,Schofield CJ, Panzera F. Les vecteurs de la maladie de Chagas. Academie Royal des Sciences Dautre- Mer.2000.Mémoire in-8,Nouvelle Serie,Tome 24,Fasc5.
3. Aguilar M H, Abad Franch F, Racines J. Paucar A.Epidemiology of chagas Disease in Ecuador.A Brief Review. Mem Inst Oswaldo Cruz.1999;94:387-393
4. Schofield CJ. Challenges of Chagas Disease Vector control in Central América, Position paper WHO/CDS/WHOPES/GCDPPH/2000.1,WHO,Geneva,36 pp
5. Angulo V M. Ensayo de estrategias de control y vigilancia de *Triatoma dimidiata*, En Colombia. In Guhl F (Eds). Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas.Bogotá 2005 Pp.91-102.
6. Angulo VM, Tarazona Z, Arismendi M J, Joya M I, Sandoval C M. Distribución de Triatomos (Hemiptera: Reduviidae ) domiciliarios en 27 municipios de Santander.Memorias congreso internacional de investigación y salud. Biomédica 1997;17sup 1:79
7. Zeledón R, Montenegro VM, Zeledón O. Evidence of colonization of Man-made Ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille,1811) in Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2001;96(5):659-660.
8. Guhl F., Angulo V.M., Restrepo M., Nicholls S., Montoya R. Estado del arte de la enfermedad de Chagas en Colombia y estrategias de Control. Biomédica 2003; 23:31-34.

9. Molina J A, Gualdrón L E, Brochero H L, Olano VA, Barrios D, Guhl F. Distribución actual e importancia epidemiológica de las especies de triatominos (Reduviidae:Triatominae) en Colombia. *Biomédica* 2000;20:344-60
10. Corredor A,Santacruz M, Paez S & Guatame LA. Distribución de los Triatominos domiciliados en Colombia.In: Ministerio de Salud-Instituto Nacional de Salud. 1990; Pp144.
11. Mojica M.T,Cuervo L. A,Ariza K,Chacón E,Chacón R,Dib J.C,Guhl F. Distribución de *Triatoma maculata* e infestación domiciliaria en Santa Marta, Colombia. *Biomédica* 2003; 23:96.
12. Zerba E. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. *Medicina*.1999;59:41-46
13. Schofield CJ, Dias JCP.The Southem Cone Initiative against Chagas disease. *Adv Parasitol* 1998; 42
14. Guhl, F & Vallejo, G A. Interruption of Chagas Disease Transmission in the Andean Countries: Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* .1999; 94 (1): 413-15.
15. Angulo, V M & Sandoval, C M . Triatominos y Programa Nacional de Control en Colombia.In *Monitoreo de la Resistencia a Insecticidas en Triatominos en América Latina*, Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina, 2001. p. 21-26
16. Vassena C V, Piccollo MI, Zerba E N. Insecticida resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. *Med Vet Entomol* 2000; 14: 51-55
17. Vassena C V, & Piccollo MI. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo en *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la enfermedad de chagas. *Boletín Electrónico Mensual del Servicio de Toxicología del Sanatorio de Niños de Rosario, Ar.* Año 1 - N°13 - Diciembre de 2003.

18. Oliveira Filho A M., Differences of susceptibility of five Triatomine Species to Pyrethroid Insecticides- Implications for Chagas Disease Vector Control. Mem Inst Oswaldo Cruz.1999; 94: 425-28.
19. Nakagagua J, C Cordón Rosales, J Juárez,C Itzep,T Nonami. Impact of residual Spraying on *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in the department of Zacapa in Guatemala. Mem Inst Oswaldo Cruz.2003;98:277-81.
20. Cececé MC, Gurtler RE, Canale DM, Chuit R, Cohen JE. Effects of partial housing improvement and insecticide spraying on the reinfestation dynamics of *Triatoma infestans* in rural northwestern Argentina. Acta Tropica 2002;84: 101-16.
21. Tabaru Y, Monroy C, Rodas A, Mejia M, Rosales R. Chemical control of *Triatoma dimidiata* and *Rhodnius prolixus* (Reduviidae:Triatominae), the principal vectors of Chagas disease in Guatemala. In: Med Entomol Zoo.1998;49: 87-92.
22. Fox Irving & Bayona I G. Toxicity of DDT, dieldrin, Malathion and Fenthion to *Rhodnius prolixus* in the laboratory. Bull Wld Hlth Org. 1966;35: 974-76
23. Sandoval C M. Actividad insecticida del Malatión y la Deltametrina en una cepa Colombiana de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera,Rudiviidae).Monitoreo de la Resistencia a Insecticidas en Triatominos en América Latina, Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina, 2001. pp. 27-33.
24. WHO Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre Triatominos.Acta Toxicol Arg 1994;2:29-32
25. Zerba E N. Evolución del control químico de los insectos vectores de la enfermedad de Chagas. Anales de la Sociedad Científica Argentina.1997; 227:35-39.
26. Alzogaray R, & Zerba E.Third instar nymphs of *Rhodnius prolixus* exposed to  $\alpha$ -cyanopyrethroids: From hyperactivity to death.Archives of insect Biochemistry and Physiology.2001.46:119-126.

27. Kostaropoulos I, Athanasios I.P Athanasios M, Boukouvala E, Papadopoulou-Mourkidou E. Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*.2001;31:313-19.
28. Fontán A & Zerba E N. Influence of the nutritional state of *Triatoma infestans* over the insecticidal activity of DDT. *Comp. Biochem. Physiol.* 1992;101C:N<sub>o</sub>.3, pp 589-591.
29. Georghiou G. Insecticide resistance and prospects for its management. *Residue Rev.*1980. 76:131-145.

#### 4.9 LISTA DE TABLAS

Tabla I. Nivel de susceptibilidad en ninfas I de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata* cepa susceptible. DL50 y DL99 e intervalos de confianza de los principios activos Deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión.

Especie	insecticida	DL50 ng/i	IC 95%	DL99ng/i	IC95%	b $\pm$ DE	n
<i>Triatoma dimidiata</i>	Deltametrina	0,443	0,377-0,509	2,219	1,689-3,750	3,3 $\pm$ 0,4	240
<i>Triatoma dimidiata</i>	$\beta$ -cipermetrina	0,458	0,395-0,518	1,965	1,416-3,443	3,6 $\pm$ 0,8	250
<i>Triatoma dimidiata</i>	Fenitrotión	16,45	15,218-17,641	36,07	31,240-44,862	6,8 $\pm$ 0,5	200
<i>Triatoma maculata</i>	Deltametrina	0,065	0,046-0,092	1,079	0,456-7,669	1,9 $\pm$ 0,5	102
<i>Triatoma maculata</i>	$\beta$ -cipermetrina	0,053	0,044-0,068	0,37	0,2-1,453	2,7 $\pm$ 0,4	151
<i>Triatoma maculata</i>	Fenitrotión	4,12	3,56-4,78	17,89	11,89-41,64	3,6 $\pm$ 0,7	150

Tabla II. Nivel de susceptibilidad en ninfas V ayunadas de *Triatoma dimidiata* cepa susceptible. DL50 y DL99 e intervalos de confianza de los principios activos Deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión.

Insecticida	DL50ng/i	IC 95%	DL99ng/i	IC 95%	b $\pm$ DE	n
Deltametrina	510,719	279,49-706,23	9607,52	3819,48-170498	1,8 $\pm$ 0,4	180
Fenitrotión	838,91	791,36-887,51	1525	1277,69-2302,04	8,9 $\pm$ 1,8	220
$\beta$ -cipermetrina	1623,589	1322,36-1894,34	11717,9	6767,587-42048,426	2,7 $\pm$ 0,5	200

Tabla III: Potencial insecticida por aplicación t3pica de la  $\beta$ -cipermetrina y Fenitroti3n Vs Deltametrina en ninfas I de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata* y ninfa V de *Triatoma dimidiata*

Especie	Insecticida	Estadio	Potencial insecticida
<i>Triatoma dimidiata</i>	Deltametrina	I	100
<i>Triatoma dimidiata</i>	$\beta$ -cipermetrina	I	98,31
<i>Triatoma dimidiata</i>	Fenitroti3n	I	2,69
<i>Triatoma dimidiata</i>	Deltametrina	V	100
<i>Triatoma dimidiata</i>	Fenitroti3n	V	60,87
<i>Triatoma dimidiata</i>	$\beta$ -cipermetrina	V	31,45
<i>Triatoma maculata</i>	Deltametrina	I	100
<i>Triatoma maculata</i>	$\beta$ -cipermetrina	I	122
<i>Triatoma maculata</i>	Fenitroti3n	I	1,57

## 5. CONCLUSIONES

- Las poblaciones de *Triatoma dimidiata* de Colombia se comportan de forma similar a las poblaciones de Centro América.
- En el ciclo de vida de laboratorio se observa una alta tasa de reproductividad, baja mortalidad y el marcado instinto de las ninfas a camuflarse que pueden explicar el éxito en ambientes domésticos, peridomésticos, silvestres y su capacidad de adaptación y dispersión; a pesar de su comportamiento poco agresivo para alimentarse.
- Las ninfas de V estadio sin alimentar en las cuales se logro establecer la DL50 para Deltametrina,  $\beta$ -cipermetrina y Fenitrotión representan material biológico de fácil obtención en el laboratorio.
- Los insecticidas piretroides tienen mayor eficacia en ninfas de primer estadio de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*
- La efectividad de los piretroides y el organofosforado fueron similares y la DL99 para este último fue significativamente menor.
- Las altas dosis utilizadas para esta especie muestran sus baja susceptibilidad
- Una mayor efectividad del organofosforado en campo podría esperarse, sin embargo estudios de efectos con sinergistas pográn mostrar el posible rol de mecanismos bioquímicos que determinen su tolerancia y también podrían aportar un mejoramiento de formulaciones insecticidas destinadas al control de *Triatoma dimidiata* esto representa un nuevo reto para las campañas de control en los países Andinos y Centro Americanos donde esta especie es endémica.
- Estandarizada la línea base susceptible de *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata* a los insecticidas se cuenta con parámetros toxicológicos que permiten iniciar estudios de monitoreo de la resistencia en poblaciones de campo de los principales vectores de la Enfermedad de Chagas en Colombia.

## 6. RECOMENDACIONES

- Vigilancia de la resistencia de las poblaciones de *Triatoma dimidiata* de otras zonas endémicas
- Es necesario insecticidas como la Deltametrina, B-cipermetrina y Fenitrotión para utilizarlos como herramientas de control de *Triatoma dimidiata*.
- La vigilancia de la susceptibilidad y resistencia de los vectores de importancia en salud pública a los insecticidas recomendados y utilizados para el control químico en Colombia produce evidencias científicas necesarias para la actualización de la Política Nacional de Plagucidas de uso en el Control de Vectores de importancia en Salud Pública.
- Los insecticidas deben presentar una parte del manejo integrado en el Programa nacional de Chagas.

## 7. BIBLIOGRAFIA GENERAL

Aguilar M H, Abad Franch F, Racines J. Paucar A. Epidemiology of chagas Disease in Ecuador. A Brief Review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999;94:387-393

Alzogaray R, & Zerba E. Third instar nymphs of *Rhodnius prolixus* exposed to  $\alpha$ -cyanopyrethroids: From hyperactivity to death. Archives of insect Biochemistry and Physiology. 2001.46:119-126.

Angulo V M. Ensayo de estrategias de control y vigilancia de *Triatoma dimidiata*, En Colombia. In Guhl F (Eds). Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas. Bogotá 2005 Pp.91-102.-

Angulo V M. Ensayo de estrategias de control y vigilancia de *Triatoma dimidiata*, En Colombia. In Guhl F (Eds). Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas. Bogotá 2005 Pp.91-102.

Angulo VM, Tarazona Z, Arismendi M J, Joya M I, Sandoval C M. Distribución de Triatominos (Hemiptera: Reduviidae) domiciliarios en 27 municipios de Santander. Memorias congreso internacional de investigación y salud. Biomédica 1997;17sup 1:79

Angulo, V M & Sandoval, C M . Triatominos y Programa Nacional de Control en Colombia. In Monitoreo de la Resistencia a Insecticidas en Triatominos en América Latina, Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina, 2001. p. 21-26

Calderón A O, Chinchilla M, García Fenmado, Vargas M. Preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) procedente de la meseta central de Costa Rica a finales del siglo XX. 2001. Parasitol. día, vol 25n.3-4.

Canale M D, Jurberg J, Carcavallo U R, Galvao C, Segura M C, Silva R D, Martínez A, Galindez G I, Bionomics of same species. Atlas Of chagas disease vectors in the Américas. Editorial Fiocruz Vol III capitulo 19 pag 839-890.

Ceceré MC, Gurtler RE, Canale DM, Chuit R, Cohen JE. Effects of partial housing improvement and insecticide spraying on the reinfestation dynamics of *Triatoma infestans* in rural northwestern Argentina. Acta Tropica 2002;84: 101-16.

CIPEIN CITEFA .Protocolo de evaluación de efecto insecticida en *Rhodnius prolixus*.World Health organization UNDP/WORLD BANK/who SPECIAL PROGRAMME TDR. Anexo II En Monitoreo de la resitencia en Triatomos en America Latina. Mundo Sano .Pp 61-67

CIPEIN CITEFA .Protocolo de evaluación de efecto insecticida en *Triatoma infestans* World Health organization UNDP/WORLD BANK/who SPECIAL

Corredor A,Santacruz M, Paez S & Guatame LA. Distribución de los Triatomos domiciliados en Colombia.In: Ministerio de Salud-Instituto Nacional de Salud. 1990; Pp144.

Dujardin JP,Schofield CJ, Panzera F. Les vecteurs de la maladie de Chagas. Academie Royal des Sciences Dautre- Mer.2000.Mémoire in-8,Nouvelle Serie,Tome 24,Fasc5. 23:31-34 Dept. infectious and Tropical Diseases,London School of Hygiene and Tropical Medicine, London WC1 E7HT, UK\* Centro de pesquisas René Rachou, 30190-002 Belo Horizonte, MG, Brasil.

Feliciangeli MD, & Rabinovich JE.1985 Vital statistics of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory condition. J. Med. Entomol. 1985;22: 43-48.

Fontán A & Zerba E N. Mode of entry of insecticidas in *Triatoma infestans*. Archives on Insect Biochemistry and physiology. 1987: 4,313-323.

Fontán A & Zerba E N.Influence of the nutritional state of *Triatoma infestans* over the insecticidal activity of DDT.Comp.Biochem.Physiol. 1992;101C:N<sub>o</sub>3,pp 589-591.

Fontán A & Zerba E N. Influence of the nutritional state of *Triatoma infestans* over the insecticidal activity of DDT. *Comp. Biochem. Physiol.* 1992;101C:Nº 3, pp 589-591.

Fox Irving & Bayona I G. Toxicity of DDT, dieldrin, Malathion and Fenthion to *Rhodnius prolixus* in the laboratory. *Bull Wld Hlth Org.* 1966;35: 974-76

Friend W G & Smith B J J. Fisiología de los Triatominos con especial referencia a la alimentación por sangre. En *Factores Biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas*. 1985 Tomo I: 55-81. ECO-OPS/SNCH-MSAS.

Georghiou G. Insecticide resistance and prospects for its management. *Residue Rev.* 1980. 76:131-145.

Guhl F, Angulo V M, Restrepo M, Nicholls S, Montoya R. Estado del arte de la enfermedad de Chagas en Colombia y estrategias de Control. *Biomédica* 2003; 23:31-34.

Guhl, F & Vallejo, G A. Interruption of Chagas Disease Transmission in the Andean Countries: Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* .1999; 94 (1): 413-15.

Kostaropoulos I, Athanasios I.P Athanasios M, Boukouvala E, Papadopoulou-Mourkidou E. Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2001;31:313-19.

Malo E A; Ramirez R A, Cruz L, Rojas J. Lyfe cycle and influence of age and feeding on the first mating of *Triatoma mazoottii* (Hemiptera: Reduviidae) *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1993; 88 (2): 203-206

Mena S C, Carcavallo R U, Galíndez G I, Canale D. Ciclo de vida de *Triatoma pallidipennis* ( Stal, 1872) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Entomología y vectores*. 1994 Año 1. Nº 1.

Mojica M.T,Cuervo L. A,Ariza K,Chacón E,Chacón R,Dib J.C,Guhl F. Distribución de *Triatoma maculata* e infestación domiciliaria en Santa Marta, Colombia. Biomédica 2003; 23:96.

Molina J A, Gualdrón L E, Brochero H L, Olano VA, Barrios D, Guhl F. Distribución actual e importancia epidemiológica de las especies de triatomíneos (Reduviidae:Triatominae) en Colombia. Biomédica 2000;20:344-60

Moncayo A.Chagas disease: Current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone Countries Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003; 98 (5): 577-591.

Nakagagua J, C Cordón Rosales, J Juárez,C Itzep,T Nonami. Impact of residual Spraying on *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in the department of Zacapa in Guatemala. Mem Inst Oswaldo Cruz.2003;98:277-81.

Nelson M.J. Experiencias en el monitoreo de niveles de susceptibilidad de los Triatomíneos a los insecticidas en las Américas. Acta Toxicol. Argent. (1994) 2 (1y2):29-58.

Oliveira Filho A M., Differences of susceptibility of five Triatomine Species to Pyrethroid Insecticides- Implications for Chagas Disease Vector Control. Mem Inst Oswaldo Cruz.1999; 94: 425-28.

Oliveira Filho A M., Differences of susceptibility of five Triatomine Species to Pyrethroid Insecticides- Implications for Chagas Disease Vector Control. Mem Inst Oswaldo Cruz.1999; 94: 425-28.

Paz R R. Ciclo de vida y datos biométricos de *Triatoma Longipennis* (Usinger) (Hemiptera: Reduviidae,Triatominae) Tesis de grado Universidad Nacional autónoma de México.1996; 96 pag

Rabinovich JE. Vital statistics of Triatominae, (Hemiptera:Reduviidae) under laboratory conditions. *Triatoma infestans* Klug. J. Med. Entomol. 1972; 9: 351-370

Rojas de Arias A, Lehane MJ, Schofield CJ, Fournet A. Comparative evaluation of pyrethroid insecticide formulations against *Triatoma infestans* (Klug): Residual efficacy on four substrates. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003; 98 (7): 975-980.

Sandoval C M. Actividad insecticida del Malatión y la Deltametrina en una cepa Colombiana de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae). Monitoreo de la Resistencia a Insecticidas en Triatominos en América Latina, Fundación Mundo Sano, Buenos Aires, Argentina, 2001. pp. 27-33.

Schofield CJ, Diotaiuti L, Dias JCP. Control of Triatominae in Latin America

Schofield C J. Triatominae: Biología y Control. West Sussex: Eurocommunica Publications 1994 pp 80.

Schofield CJ, Dias JCP. The Southern Cone Initiative against Chagas disease. Adv Parasitol 1998; 42

Schofield CJ. Challenges of Chagas Disease Vector control in Central América, Position paper WHO/CDS/WHOPES/GCDPPH/2000.1, WHO, Geneva, 36 pp

Sherlock & Serafim. Ciclo de vida de *Triatoma lenti* 1967 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Entomología y vectores. 1994 vol 1 N.º 2

Tabaru Y, Monroy C, Rodas A, Mejia M, Rosales R. Chemical control of *Triatoma dimidiata* and *Rhodnius prolixus* (Reduviidae: Triatominae), the principal vectors of Chagas disease in Guatemala. In: Med Entomol Zoo. 1998; 49: 87-92.

Vassena C V, & Piccollo MI. Monitoreo de resistencia a insecticidas en poblaciones de campo en *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, insectos vectores de la enfermedad de chagas. Boletín Electrónico Mensual del Servicio de Toxicología del Sanatorio de Niños de Rosario, Ar. Año 1 - N.º 13 - Diciembre de 2003.

Vassena C V, Piccollo MI, Zerba E N. Insecticida resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. Med Vet Entomol 2000;

WHO Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre Triatominos. Acta Toxicol Arg 1994;2:29-32

WHO. World health organization. Infectious diseases home. Specific information: disease. Available from: <http://www.who.int/ctd/chagas/burdens.htm>. (2004).

Wood E, Picollo M.I, Zerba E. Comparación entre la variación de la capacidad detoxificante y la diferente susceptibilidad al insecticida Malatión entre ninfas V de distinta edad de *Triatoma infestans*. An. Asoc. Quím. Argent. 1993;81(2-3) 153-162.

[WHO] Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre Triatominos. Acta Toxicol Arg 1994;2:29-32.

[WHO] World health organization. Control of Chagas disease. Technical report series 905. Second report of the WHO expert committee. Geneva 2002. 14: 51-55

Zeledón A R, Guardia V M, Zúñiga A , Swartzwelder J C. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) II. Life span of adults and fecundity and fertility of females. Journal of Medical Entomology. 1970 ; 7: ( 4) 462-469.

Zeledón R, Guardia V M, Zúñiga A, Swartzwelder J C. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (LATREILLE, 1811) I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance to starvation, and size of adults. J. Med. Ent. 1970. Vol, 7 no.3: 313-319.

Zeledón R, Montenegro VM, Zeledón O. Evidence of colonization of Man-made Ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) in Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2001;96;5:659-660

Zeledón R, Montenegro VM, Zeledón O. Evidence of colonization of Man-made Ecotopes by *Triatoma dimidiata* (Latreille,1811) in Costa Rica. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2001;96(5):659-660.

Zeledón R, Solano G, Zuñiga A, Swartzwelder J C. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (LATREILLE,1811) III. Habitat and blood sources. J.Med.Ent.1973.Vol,10 no.4: 363-370.

Zeledón R. *Triatoma dimidiata* (LATREILLE). En Factores Biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas.1985 Tomo I cap 17: 225-236. ECO-OPS/SNCH-MSAS.

Zerba E N. Evolución del control químico de los insectos vectores de la enfermedad de Chagas. Anales de la Sociedad Científica Argentina.1997; 227:35-39.

Zerba E. Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. Medicina.1999;59:41-46

Zerba E. Chemical control of Chagas Disease vectors. Biom.and Environ.Sci. 1989;2:24-29.