

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE FIPRONIL-
PERMETRINA CONTRA *Rhodnius prolixus* EN
PERROS**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL
GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

POR

**Licenciado en Medicina Veterinaria y Zootecnia
Azucena Ucán Mézquita**

Asesores:

**Dr. Antonio Ortega Pacheco
Dra. Matilde Jiménez Coello
Dra. Eugenia Guzmán Marín**



POSGRADO INSTITUCIONAL
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y MANEJO
DE RECURSOS NATURALES TROPICALES

Mérida, Yuc., México, octubre de 2019



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

**COORDINACIÓN GENERAL
DEL SISTEMA DE POSGRADO,
INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN**

POSGRADO INSTITUCIONAL EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y MANEJO DE RECURSOS
NATURALES TROPICALES

**ALUMNA: MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
AZUCENA UCÁN MEZQUITA**

SÍNODO DEL EXAMEN DE TESIS DE GRADO

**DR. ENRIQUE REYES NOVELO
CIR-HIDEYO NOGUCHI**

**DR. FELIPE TORRES ACOSTA
CCBA-UADY**

**DR. EDUARDO GUTIÉRREZ BLANCO
CCBA-UADY**

**DR. MANUEL BOLIO GONZÁLEZ
CCBA-UADY**

**DR. MIGUEL E. ROSADO VALLADO
CIR-HIDEYO NOGUCHI**

MÉRIDA, YUCATÁN, OCTUBRE DEL 2019

Declaración de originalidad

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga consentimiento a la UADY para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

MVZ. Azucena Ucán Mézquita

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero otorgado mediante la beca de Maestría.

A VIRBAC México por el financiamiento obtenido para el desarrollo del proyecto.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y principalmente a la Universidad Autónoma de Yucatán por ser mi *Alma Mater* desde mis inicios, apoyarme y contribuir en mi desarrollo profesional.

A la Unidad de Posgrado de la FMVZ-UADY por el apoyo y la tolerancia brindada durante estos dos años.

A mis asesores: el Dr. Antonio Ortega Pacheco y la Dra. Matilde Jiménez Coello por la tolerancia, enseñanzas y por la libertad de expresar mis ideas en el trabajo.

A mis tutores: el Dr. Enrique Reyes Novelo por confiar en mis capacidades académicas de investigación, el apoyo en el análisis estadístico y la paciencia en cada explicación. Al Dr. Felipe Torres Acosta y al Dr. Eduardo Gutiérrez Blanco por sus puntuales comentarios y sugerencias durante la realización de mi trabajo y la elaboración del documento de tesis.

A todas las personas que me apoyaron en la búsqueda de mis perros y tuvieron la constancia y accesibilidad cada semana para el desarrollo de mi proyecto.

Finalmente, a mis grandes amigos Diana Valladares González, Cindy Marín Tun y Gabriel Ortiz Domínguez por la inspiración, motivación y empatía demostrada durante todos los años. Gracias por ayudarme a superar cada obstáculo académico y personal.

Dedicatorias

A mis madres Gloria Mézquita Fernández y María de los Ángeles Mézquita Fernández por enseñarme a superarme siempre, lograr mis metas, ser tolerantes ante mis desatenciones y, por recordarme cada día que las cosas se deben realizar de una forma correcta.

Al resto de mi familia: mis dos hermosas hermanas por enseñarme en cada momento lo difícil de la vida y apoyarme a superarme como mujer. A mi sobrino Arián Suarez Ucán por ser mi soporte, mi batería en los momentos más difíciles de mi carrera profesional y una indiscutible fuente de felicidad a mi vida.

A mi familia adoptiva Quijano-Herrera por llenar mi estómago de amor y preocuparse por mi superación. Les agradezco los momentos, la confianza y el cariño que me brindan todos los días.

A Ángel Gómez Quijano por ser mi pareja, mi amigo y compañero. Por confiar y recordarme siempre lo orgulloso que está de mí por ser inteligente, dedicada y sensible en todo lo que me apasiona. También por ser una fuente de sabiduría, felicidad, paciencia y comprensión en todo momento.

Finalmente, a mis compañeros de desvelos, mis queridas mascotas. A mi eterna inspiración, Sabrina, por comenzar este camino en mi vida y recordarme lo excelente que tengo que ser en mi carrera. También, a los que ya partieron y a los que me brindan la fortuna de ser su compañera día tras día, a ellos, les agradezco que me recuerden siempre que estoy en el lugar adecuado.

Resumen

El presente estudio evaluó la eficacia insecticida y repelente de fipronil-permetrina en la ingesta de sangre y mortalidad de *Rhodnius prolixus* en perros. Se evaluó la eficacia de fipronil-permetrina en presentación *pour-on* en 10 perros durante 7 semanas para cada uno de los animales. El modelo de estudio fueron hembras vírgenes de *R. prolixus* con inanición de 3 semanas. En la semana 0 (S0) no se aplicó ningún tratamiento. Las semanas 1 a la 6 correspondieron a las semanas con el tratamiento de fipronil-permetrina y fue administrado únicamente en la semana 1 y 5. Para la exposición de los insectos con el perro se utilizaron 8 tubos tipo Falcon divididos en 2 grupos y se colocaron en una posición vertical manteniendo la abertura del tubo en contacto con la zona craneal y caudal del dorso del perro durante 25 minutos. Para la evaluación del efecto repelente se observó el abdomen y clasificó según el tamaño del promesenterón y posición de las alas. Para la evaluación de la mortalidad, todos los insectos fueron monitoreados en la hora 1, 3, 12, 24 y 48 después de la exposición y se clasificaron en vivos o muertos. En la S0 se obtuvo una mortalidad del 0%; en las semanas con el tratamiento se observaron mortalidades del 100% pero a diferentes tiempos, para la S1, S2, S5 y S6 antes de las 3 horas y para las S3 y S4 mayor de 3 pero menor a 24 horas. La repelencia en la semana control fue del 0%, para las S1 a la S6 resultó en 86.3%, 77.5%, 73.8%, 62.5%, 93.8% y 81.3% respectivamente. La mortalidad y la repelencia en las semanas con el tratamiento fueron significativamente diferentes entre el grupo control ($P < 0.05$). Los resultados indican que la combinación de fipronil-permetrina posee efectos insecticidas y repelentes eficaces contra triatominos en perros y, por lo tanto, se recomienda su uso cada 4 semanas.

Palabras clave: fipronil-permetrina, perros, *Rhodnius prolixus*, control vectorial

Summary

The present study evaluated the insecticidal and repellent efficacy of fipronil-permethrin in blood intake and mortality of *Rhodnius prolixus* in dogs. The efficacy of fipronil-permethrin in pour-on presentation was evaluated in 10 dogs for 7 weeks for each of the animals. For this study virgin females of *R. prolixus* with starvation of 3 weeks were used. In week 0 (W0), no treatment was applied. Weeks 1 (W1) to 6 (W6) corresponded to the weeks with the treatment of fipronil-permethrin and was administered only in week 1 and 5. For the exposure of the insects to the dog 8 Falcon tubes were used divided into 2 groups and were placed in a vertical position keeping the tube opening in contact with the cranial and caudal area of the dog's back for 25 minutes. For the evaluation of repellency, the size of the insects promesenteron was observed and classified accordingly. For the evaluation of mortality, all insects were monitored 1, 3, 12, 24, and 48 after exposure and were classified live or dead. In S0, 0% mortality was obtained; in the weeks with the treatment, mortalities of 100% were observed but at different times, for W1, W2, W5 and W6 before 3 hours and for S3 and S4 in less than 24 hours. The repellency in the control week was 0%, for S1 to S6 it was 86.3%, 77.5%, 73.8%, 62.5%, 93.8% and 81.3% respectively. Mortality and repellency in the weeks with treatment were significantly different among the control group ($P = <0.05$). The results indicate that the combination of fipronil-permethrin is effective against triatomines in dogs and, therefore, its use is recommended every 4 weeks.

Keywords: fipronil-permethrin, dogs, *Rhodnius prolixus*, vector control

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	11
II.	MARCO TEÓRICO	11
2.1.	Características de los vectores de la subfamilia <i>Triatominae</i>	13
2.1.1.	Clasificación taxonómica	13
2.1.2.	Especies distribuidas en México	13
2.1.3.	Especies distribuidas en Yucatán	13
2.2.	<i>Rhodnius prolixus</i> como modelo de estudio	14
2.3.	Características biológicas de <i>Rhodnius prolixus</i>	14
2.3.1.	Clasificación taxonómica	15
2.3.2.	Estructura anatómica	15
2.3.3.	Ciclo biológico y reproducción	16
2.3.4.	Alimentación y excreción	17
2.3.5.	Hábitos de comportamiento y fuentes alimentarias	18
2.4.	Estrategias para el control vectorial en triatominos	20
2.5.	Estrategias para el control de triatominos en perros	21
2.6.	Características de fipronil-permetrina	22
2.6.1.	Fipronil	22
2.6.1.1.	Mecanismo de acción en los insectos	23
2.6.2.	Permetrina	24
2.6.2.1.	Mecanismo de acción en los insectos	24
III.	HIPÓTESIS	26
IV.	OBJETIVOS	26
4.1.	Objetivo general	26
4.2.	Objetivos específicos	26
V.	REFERENCIAS	27
VI.	Evaluación de la eficacia de fipronil-permetrina contra <i>Rhodnius prolixus</i> en perros	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Rhodnius prolixus</i>	15
Cuadro 2. Supervivencia y mortalidad de <i>Rhodnius prolixus</i> después de la exposición con fipronil-permetrina durante las 7 semanas del estudio. Un total de 80 insectos fueron expuestos por cada semana (S0 a S6)	42
Cuadro 3. Repelencia y clasificación de <i>Rhodnius prolixus</i> alimentados después de la exposición con fipronil-permetrina utilizando el método de la silueta del promesenterón según Montenegro (1983): tipo 3 triatominos con una buena reserva alimenticia y tipo 4 con un gran contenido sanguíneo. Un total de 80 insectos fueron expuestos por cada semana del estudio.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Tipos nutricionales según método de la silueta del promesenterón de *Rhodnius prolixus*. a) adultos ayunados, b) escasa reserva alimenticia, c) adultos con buena reserva alimenticia, d) adultos con gran contenido sanguíneo. (Tomado de Montenegro, 1983). 18
- Figura 2.** Esquema de tratamiento con fipronil-permetrina (S1-S6) y exposición de *Rhodnius prolixus*. Semana control (S0) y semanas de exposición (S1 a S6). S1 primera aplicación del tratamiento y S5 reaplicación del medicamento 39

I. INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis americana (TA) es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* y transmitido a mamíferos en ambientes domésticos, peridoméstico y silvestres principalmente por vectores de la subfamilia *Triatominae*. (Gürtler *et al.*, 2009a; OMS, 2018). El principal modo de transmisión es el vectorial, por ello, en regiones donde la TA es endémica, las estrategias para disminuir su incidencia se han enfocado en controlar al vector mediante métodos sanitarios, educación a las comunidades y fumigación con diversos insecticidas como organofosforados, carbamatos, piretrinas y piretroides sintéticos (Fuentes-Vicente *et al.*, 2018). Sin embargo, a pesar de tener enfoques factibles, los costos operativos son elevados, el efecto residual menos duradero, existen varios casos de intoxicación, su uso excesivo en algunos lugares ha seleccionado poblaciones resistentes y principalmente su uso no rompe con los ciclos domésticos y peridomésticos de transmisión de la enfermedad (Schofield *et al.*, 1987).

Perros, gatos, zarigüeyas y roedores desempeñan papeles importantes en la ecología y epidemiología de la TA, ya que forman parte de los ciclos de transmisión del agente (Gürtler *et al.*, 2009a). El perro es el principal reservorio doméstico de *T. cruzi* y ha demostrado una asociación positiva entre perros seropositivos a *T. cruzi* y la seropositividad en los humanos (Gürtler *et al.*, 1993; Dumonteil *et al.*, 2017). Además, los perros, desempeñan un enlace entre los ciclos peridomésticos y silvestres de la transmisión vectorial de *T. cruzi* (Gürtler *et al.*, 1993; Zavala-Velázquez, 2003; Arce-Fonseca *et al.*, 2017). Por esto, la prevención y control de las picaduras de los triatominos en hospederos reduce el riesgo de la infección humana (Gürtler *et al.*, 2009b).

Se han estudiado diferentes estrategias de prevención y control en los perros mediante la aplicación de insecticidas en contra de triatominos en diferentes vías de administración como son collares con deltametrina (Reithinger *et al.*, 2005), xenointoxicaciones con organoclorados (Schofield *et al.*, 2000), fipronil líquido en forma de rociamientos (Gentile *et al.*, 2004) o en forma de spot-on (Gürtler *et al.*,

2009b) y recientemente el uso de insecticidas sistémicos como las isoxazolinas y el espinosad (Loza *et al.*, 2017).

Se sabe que la combinación de fipronil y permetrina provoca efectos repelentes e insecticidas en *Ctenocephalides felis* (Chatzis *et al.*, 2017), *Dermacentor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus* (Cvejié *et al.*, 2017), *Ixodes ricinus* (Endris *et al.*, 2002), *Culex pipiens* (Franc *et al.*, 2015a), *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* (Fankhauser *et al.*, 2015) y *Phlebotomus perniciosus* (Franc *et al.*, 2015b). Al tener estos efectos en insectos conocidos como vectores de enfermedades zoonóticas, Cardoso (2015) considera que el uso de esta combinación en animales domésticos es una efectiva estrategia para la disminución del riesgo de transmisión de patógenos zoonóticos y junto con Navarro y colaboradores (2016) consideran que el uso de esta combinación es útil y altamente eficaz como estrategia para el control de infestaciones por vectores transmisores de enfermedades. En la actualidad, no existen estudios que evalúen el uso de la combinación de fipronil-permetrina para el control de triatominos en perros. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue la evaluación de la eficacia insecticida y repelente de fipronil-permetrina contra *Rhodnius prolixus* en perros.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Características de los vectores de la subfamilia *Triatominae*

2.1.1. Clasificación taxonómica

Existen 144 especies agrupadas en 15 géneros y 5 tribus. La familia *Reduviidae* son depredadores de otros insectos, pero la subfamilia *Triatominae* se caracteriza por sus comportamientos hematófagos y en su mayoría poseen la capacidad de transmisión de *Trypanosoma cruzi* (Cuadro 1). Se distribuyen en todo el mundo, sin embargo, la mayor cantidad de especies se encuentra en América, India, Asia y Australia. (Schofield *et al.* 1987; Otálora-Luna *et al.*, 2015)

Los géneros *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus* se distribuyen en todo el territorio americano y son reconocidas por ser potenciales transmisores de *T. cruzi*. Las especies son *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis*, *T. sórdida*, *T. dimidiata*, *T. maculata*, *Panstrongylus megistus*, *P. geniculatus*, *Rhodnius prolixus*, *R. robustus*, *R. brethesi*, y *R. ecuadoriensis*. En Centroamérica y México *R. prolixus*, *T. dimidiata*, *T. barberi* y *R. pallascens* son las especies más abundantes, sin embargo, existen más géneros en menor cantidad (Guhl, 2009; Noireau *et al.*, 2009; Salazar-Schettino *et al.*, 2016)

2.1.2. Especies distribuidas en México

México posee una amplia diversidad de triatominos, se han reportado 32 especies de las cuales 21 pertenecen al género *Triatoma*, 6 al género *Mecus*, 2 al género *Panstrongylus* y 1 especie para los géneros *Belminus*, *Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Paratriatoma*, *Panstrongylus* y *Rhodnius*. Las especies con la capacidad de transmisión de *T. cruzi* son *Triatoma barberi*, *T. dimidiata*, *T. gerstaeckeri*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. mexicana*, *T. pallidipennis*, *T. phyllosoma*, *T. picturata* y *R. prolixus* (Salazar *et al.* 2005; Cruz-Reyes y Pickering-López, 2006).

2.1.3. Especies distribuidas en Yucatán

Triatoma dimidiata es el único vector de *T. cruzi* en Yucatán (Dumonteil y Gourbière, 2004), sin embargo, existen reportes de más especies capturadas en Yucatán como son *Triatoma hegneri* (Usinger 1939), *Triatoma longipennis* (Usinger 1939) y

Triatoma nítida (Usinger 1939) pero debido a su limitada capacidad vectorial no representan un problema (Barrera-Pérez, 2003; Monroy *et al.*, 2003).

T. dimidiata se encuentra ampliamente distribuido en toda la región, con mayor abundancia en época de lluvias y en ambientes doméstico, peri-doméstico y silvestre. (Dumonteil *et al.*, 2002). La abundancia del vector no se encuentra relacionado con el tipo de vivienda, condición socioeconómica, temperatura o humedad (Guzmán-Tapia *et al.*, 2007). También, se sabe que la especie tiene una mayor adaptación a diferentes climas debido a las diferencias genéticas que poseen y su dispersión se relaciona con el tipo de vegetación de la región en la que se encuentre (Dumonteil y Gourbière, 2004).

2.2. *Rhodnius prolixus* como modelo de estudio

Rhodnius prolixus posee características biológicas y fisiológicas que facilitan su reproducción en laboratorio, por lo que a lo largo de los años ha sido utilizado como modelo de estudio. La característica más importante es que los resultados obtenidos en la especie pueden aplicarse a otros triatomíneos e insectos. *R. prolixus*, presenta un tamaño grande por lo que las disecciones, observaciones, los ensayos fisiológicos y las manipulaciones quirúrgicas resultan con facilidad. También, debido al conocimiento de su secuencia genómica y su sistema neuroendocrino con libre acceso al público hace que la especie sea la más utilizada en entomología médica (Wulff, 2018).

2.3. Características biológicas de *Rhodnius prolixus*

2.3.1. Clasificación taxonómica

Existen 16 especies divididas en dos grupos dentro del género *Rhodnius*, *R. prolixus* (Cuadro 1) pertenece al grupo formado por cinco especies y son *R. robustus*, *R. neglectus*, *R. domesticus* y *R. nasutus* (Soto-Vivas *et al.*, 2011).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Rhodnius prolixus* (Wulff, 2018)

Filo	<i>Arthropoda</i>
Clase	<i>Insecta</i>
Orden	<i>Hemiptera</i>
Suborden	<i>Heteroptera</i>
Familia	<i>Reduviidae</i>
Subfamilia	<i>Triatominae</i>
Género	<i>Rhodnius</i>
Especie	<i>Rhodnius prolixus</i> <small>STAL 1989</small>

2.3.2. Estructura anatómica

El cuerpo de *R. prolixus* se divide en cabeza, tórax y abdomen (Schofield *et al.* 1987; Williams, 2010; Galvao, 2014). La forma de la cabeza es pequeña, estrecha, alargada, rectilínea y se divide en 3 segmentos: región antecular, interocular y postocular (Gurgel-González *et al.*, 2008). En la región antecular se observan el clípeo, genas, yugos, labro y el tubérculo antenífero. Posee dos ojos compuestos separados en la región interocular; los ocelos son aplanados y se localizan en la región postocular junto con el cuello. Los adultos son los únicos que poseen ocelos (Galvao, 2014; Schofield *et al.*, 1987). El aparato bucal es de tipo picador-succionador, formado por tres segmentos desiguales y con conexiones membranosas (Cáceres, 2005; Otálora-Luna *et al.*, 2015). Las antenas están compuestas por cuatro segmentos delgados y alargados insertados en el frente cerca del clípeo y lejos de los ojos (Cáceres, 2005)

El tórax se divide en tres segmentos, la parte anterior es el protórax, la media mesotórax y el posterior metatórax. Los adultos poseen dos pares de alas, las alas traseras son membranosas y las alas anteriores endurecidas y con pigmentación en la base, por lo que posee alas de tipo hemiólito (Bar, 2009). El primer par surge del mesotórax y en reposo las alas se superponen, plegando al segundo par de alas sobre el abdomen. Las alas posteriores poseen cinco venas longitudinales, son membranosas, cortas y finas (Cáceres, 2005). Durante el vuelo, el segundo par de

alas se mantienen unidas por un mecanismo de acoplamiento del tipo gancho y desplazamiento (Schofield *et al.*, 1987). *R. prolixus* posee 3 pares de patas, cada segmento del tórax posee un par de patas de tipo cursoriales. Cada una de las patas se forma de una coxa, trocánter, fémur, tibia, tarso y pretarsos (Grimaldi y Engel, 2005). Las patas poseen fosetas esponjosas que le permiten escalar superficies lisas (Otálora-Luna *et al.*, 2015).

El abdomen difiere entre hembras y machos, las hembras poseen una apariencia puntiaguda o lobulada; los machos un abdomen con una punta redondeada (Schofield *et al.*, 1987). En los dos géneros se observa un borde dividido llamado conexivos y una membrana que permite una mayor dilatación del abdomen durante la alimentación (Chiang y Chiang, 2017). En la parte lateral y ventral del abdomen se encuentran los estigmas o espiráculos respiratorios (Cáceres, 2005). Ambos sexos tienen genitales externos completamente desarrollados (Schofield *et al.*, 1987).

2.3.3. Ciclo biológico y reproducción

Rhodnius prolixus presenta 5 estadios: huevo, ninfa y adulto en una metamorfosis incompleta, ya que las ninfas poseen una apariencia similar que al adulto (Montoreano, 2003). Posee un ciclo de desarrollo rápido (3 a 4 meses) con un promedio de 12.4 días para ninfa 1 a ninfa 2, 15.3 días para ninfa 2 a ninfa 3, 19.8 días para ninfa 3 a ninfa 4, 25.1 días para ninfa 4 a ninfa 5 y 29.7 días para ninfa 5 a adulto. La temperatura (arriba de 27°C) y la baja secreción de hormonas (ecdisona y sesquiterpenoides) puede ser un factor inhibitorio en el desarrollo de las fases ninfales y adultas (Arévalo *et al.*, 2007; Galvao, 2014; Alzogaray y Zerba, 2016). En cuanto a su longevidad en condiciones de laboratorio es de 226.4 días alimentadas artificialmente con palomas domésticas (*Columba livia*) y para las hembras un promedio de 222.7 días (Guzmán-Marín, 1990).

El promedio de huevos ovipositados durante toda su vida es de 574.1 (514.1 huevos fértiles y 59.9 huevos no fértiles) pero depende de la cantidad de sangre ingerida por la hembra fértil. Posee un periodo de incubación de 15.4 días y colocados entre 10 a 15 días después de la cópula (Guzmán-Marín, 1990; Cáceres, 2005). Los

huevos poseen forma elipsoidal con leve asimetría y presencia de bordes de color blanco o rojo con brillo traslucido cambiando de tonalidad con el desarrollo del embrión, se adhieren al sustrato depositado, con un tamaño medio de 1.72 milímetros y un diámetro de 0.89 milímetros (Arévalo *et al.*, 2007; Galvao, 2014).

2.3.4. Alimentación y excreción

Rhodnius prolixus en ambientes silvestres se alimenta de una gran variedad de animales vertebrados. Las hembras, machos y todas las fases inmaduras y adultas se alimentan de sangre con capacidad para sobrevivir durante periodos prolongados de ayuno (Cáceres, 2005; Fuentes-Vicente *et al.*, 2018). El proceso de la alimentación inicia con la búsqueda del alimento (Montoreano, 2003). Para la detección de la fuente de alimento, los insectos se guían de la temperatura corporal emitida por el vertebrado, la respiración, vapor de agua, dióxido de carbono y el amoníaco (Lazzari, 2009; Galvao, 2014). *R. prolixus* identifica los capilares en la superficie de la piel guiándose de la temperatura corporal utilizando su probóscide e introduciéndolo dentro de la dermis con una acción tipo látigo, logrando la penetración del vaso procurando mínimos efectos durante el proceso a fin de evitar ser detectado por el vertebrado (Coelho *et al.*, 2006).

La saliva del insecto contiene anticoagulantes, anestésicos, vasodilatadores, antihistamínicos, sialidasa, bloqueadores de canales de sodio, inhibidores de agregación plaquetaria, ácido araquidónico, trombina, serotonina, epinefrina y norepinefrina liberados por acción del óxido nítrico que minimizan las reacciones cutáneas que puedan causar un dolor detectable por el vertebrado (Montoreano, 2003; Coelho *et al.*, 2006; Galvao, 2014). Cuando el insecto queda repleto, se activan mecanismos fisiológicos debido a la distensión del abdomen para la eliminación de agua, sales y adenilmonofosfato cíclico (AMPC) con la finalidad de conservar la hemoglobina y proteínas plasmáticas, que son la principal fuente de energía para el insecto (Barrett *et al.*, 1990; Montoreano, 2003).

En condiciones de laboratorio se ha demostrado que esta especie presenta tiempos de 15.26 min hasta 30 min de repleción en comparación a otras especies de triatomos (Schofield *et al.*, 1987; Guzmán-Marín *et al.*, 1992). La cantidad de

sangre ingerida varía entre adultos, los cuales pueden consumir entre 223 a 400 mg de sangre (Guzmán-Marín, 1992; Montoreano, 2003). Existe una clasificación relacionada con la cantidad visual de la ingesta de sangre en los adultos de acuerdo con la forma y tamaño del abdomen del insecto, clasificando en cuatro tipos (Figura 1) (Montenegro, 1983)

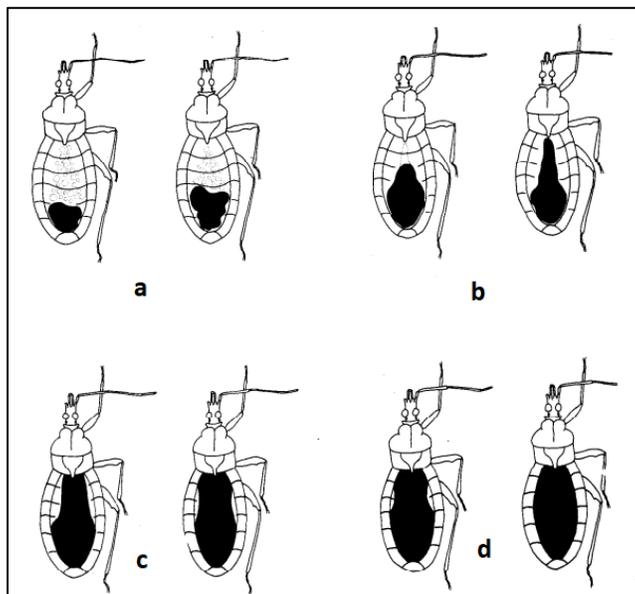


Fig 1. Tipos nutricionales según método de la silueta del promesenterón. a) adultos ayunados, b) escasa reserva alimenticia, c) adultos con buena reserva alimenticia, d) adultos con gran contenido sanguíneo (Tomado de Montenegro, 1983).

2.3.5. Hábitos de comportamiento y fuentes alimentarias

Rhodnius prolixus posee un tiempo de defecación corto (6.82 min), desplazamiento de distancias cortas posterior a la alimentación y habilidad para colonizar el domicilio humano, desarrollando fácilmente numerosas colonias (Jirón y Zeledón, 1982; Guzmán-Marín, 1992; Arévalo *et al.*, 2007; Galvao, 2014). En ocasiones su hogar es compartido con sus propios depredadores en los ambientes peridomésticos o domésticos. Para *R. prolixus*, un refugio perfecto es un lugar estrecho, oscuro y con un microclima constante, diferente de los cambios externos y con señalamientos químicos propios de su hogar para el regreso al refugio posterior a su alimentación con el vertebrado (Galvao, 2014). Durante el día, *R. prolixus* permanece en un

estado inactivo y es durante la noche cuando busca pareja, alimento y sitios de oviposición (Barrozo y Lazzari. 2004).

En estado silvestre se asocia con mamíferos y pájaros que anidan en palmeras y mantiene una rápida adaptación a ambientes sinantrópicos o selváticos. Poseen un comportamiento de fácil adaptación, mayor capacidad en la búsqueda de alimento y mayor necesidad alimentaria (durante la oviposición o muda) (Schofield *et al.*, 1987; Galvao, 2014; Escandón-Vargas *et al.* 2017). La especie tiene una amplia elección de posibles fuentes de alimento debido a su comportamiento eurixénico pero se sabe que tiene preferencias antropofílicas por los niveles altos de sangre humana observados en los insectos (Calderón-Arguedas *et al.*, 2001). Asimismo, Dumontiel y colaboradores (2017) identificaron que el 54% de las fuentes de sangre de triatominos provienen principalmente del humano, perro, vaca y ratones dejando en menor medida a ratas, ardillas, cerdos, pavos, pollos y murciélagos. Con respecto a los perros, se sabe que es la segunda fuente de alimento y que es seleccionado por triatominos a pesar de que el insecto con el pollo tenga una experiencia previa y una mayor facilidad de alimentación (carencia de factores de coagulación y plaquetas) (Gürtler *et al.*, 2009a). También, se atribuye la preferencia por el tamaño mayor que poseen los perros, resultando ser más atractivos por la producción en mayor cantidad de calor, humedad y dióxido de carbono (Gürtler *et al.*, 2009a; 2009b). La mezcla de sangre de perro y humana se encuentra con mayor frecuencia en estudios similares, por ello, los perros son considerados como hospederos y reservorios domésticos (Calderón-Arguedas *et al.*, 2001; Dumontiel *et al.*, 2017).

2.4. Estrategias para el control vectorial en triatominos

La vigilancia vectorial de los triatominos transmisores de *T. cruzi* comprende un conjunto de acciones cuyo objetivo es la eliminación de infestaciones y reinfestaciones de los vectores en la vivienda y sus alrededores en forma permanente, junto con los procesos que eliminen las colonizaciones de otras especies de triatominos (Días *et al.* 2002; Alzogaray y Zerba, 2016).

El control químico vectorial es una de las principales medidas adoptadas para la interrupción de la transmisión de *T. cruzi* por especies antropofílicas a la población humana, animales domésticos y silvestres conocidos como hospederos o reservorios (Galvao, 2014). Desde el conocimiento de la variedad de especies con posibilidad vectorial en la transmisión de *T. cruzi*, se han propuesto iniciativas con apoyo de sustancias químicas para su eliminación, por lo que se han utilizado organoclorados (DDT, dieldrín, lindano), organofosforados (diclorvos, clorpirifos, malatión), ésteres metilcarbámicos (aldicarb, carbofurano) y los piretroides sintéticos (permetrina, deltametrina) (Schofield *et al.*, 1987).

Los programas de control vectorial iniciaron desde 1950 y durante 10 años posteriores se utilizaron rociamientos con lindano y dieldrín, pero los costos eran elevados y la gran cantidad de mano de obra provocaron su desuso. Por ello, durante 1960 a 1975 se emplearon propoxur y diclorvos que provocaron efectos residuales con mayor duración y con costos económicos elevados, por lo que se emplearon malatión y fenitrotión a partir de 1975, logrando disminuir las aplicaciones consecutivas hasta por 2 años por lo que se disminuyeron los costos operativos, sin embargo, el olor fue rechazado por la población por lo que se utilizaron únicamente en estructuras peridomiciliarias como gallineros, potreros y corrales. Finalmente, fue a partir de 1980 que se utilizaron deltametrín, cipermetrín y permetrín logrando mantener libre de vectores hasta por 2 años junto con la baja toxicidad, por lo que su uso en la actualidad persiste (OMS, 2018).

En la actualidad, las piretrinas y piretroides son considerados los insecticidas con mayor uso por la bioseguridad que confieren, mejores propiedades físicas, químicas y mayor potencia insecticida (amplio espectro) y una toxicidad selectiva entre

mamíferos e insectos afectados (Schofield, 1985; OMS, 2018). Se han empleado mallas de aluminio impregnado con cialotrin pero debido a la falta de nuevas impregnaciones con el paso del tiempo y el lavado constante en las mallas ocasiona una reducción en la mortalidad de los triatominos hasta en un 80% (Rubio-Palis y Guerra, 2007). Otra vía de administración de los piretroides sintéticos son las fumigaciones, usando químicos de acción rápida, por lo que son de un costo bajo y facilidad de aplicación, sin embargo, se sabe que posterior a un intervalo de tiempo existen reinfestaciones, efecto atribuido al químico empleado y a su fácil degradación (Schofield, 1985; Oliveira, 1997; OMS, 2002; Schofield *et al.*, 2006).

2.5. Estrategias para el control de triatominos en perros

El perro es considerado un hospedero y reservorio importante de *T. cruzi* (Dumonteil *et al.*, 2017), en el cual se han estudiado diversas estrategias de control vectorial reutilizando presentaciones comerciales usadas comúnmente para otros artrópodos (garrapatas, pulgas y ácaros) con objetivos insecticidas y/o repelentes en triatominos. Un ejemplo de ello es el uso de collares impregnados con deltametrina en contra de poblaciones de *T. infestans*, disminuyendo su alimentación en un 84% de los triatominos con una duración de 90 días (Reithinger *et al.*, 2005). Un estudio más reciente realizado por Loza y colaboradores, (2017) estudiaron la actividad sistémica de tres insecticidas de dosis única, fluralaner, afoxolaner (isoxazolinas) y spinosad (espinosinas A y D) contra *T. infestans*, cada uno demostró diferentes resultados con respecto al vector. Para el caso de fluralaner y el afoxolaner se observó una mortalidad del 100% en perros durante aproximadamente 7 semanas. Para el caso del spinosad, a pesar de demostrar efectos letales en el vector, la duración de este efecto no superó los 51 días, por lo que su uso no es considerado eficaz contra él vector.

Junto con otros animales domésticos, también se ha utilizado fipronil líquido (1.0%) para el control de ninfas de *T. infestans* en ambientes peridomiciliares en aves, perros y cabras en condiciones de laboratorio y campo, resultando una mortalidad del 88.8% y 65.4% posterior a 30 días, respectivamente (Gentile *et al.*, 2004). Sin

embargo, un estudio contrastante, demostró que el uso de fipronil spot-on tiene un efecto limitado y transitorio sobre la alimentación y dinámica poblacional de *T. infestans* al eliminar el 18.7% a los 30 días posteriores a la exposición (Gürtler *et al.*, 2009b). De forma similar, se utilizó en forma pour-on cipermetrina con butóxido de piperonilo en aves contra de *T. infestans* (ninfas de tercer estadio) lográndose efectos en la mortalidad y reducción de ingesta posterior a 45 días de aplicación en las aves (Amelotti *et al.* 2012). Otros métodos utilizado, son las xenointoxicaciones con piretroides y organoclorados en aplicaciones sistémicas, actuando como trampas letales cebadas (Schofield *et al.*, 2000).

2.6. Características de fipronil-permetrina

2.6.1. Fipronil

El fipronil es un fármaco ectoparasiticida, insecticida y acaricida de amplio espectro, aplicación tópica y con actividad residual perteneciente al grupo de los fenilpirazoles. Es empleado como insecticida en agricultura y su uso en el mundo ha ido aumentando por su alta actividad insecticida y baja toxicidad en mamíferos (Tingle *et al.*, 2003; Zhao *et al.*, 2004; Manrique y Machado-Neto, 2008; Beugnet y Franc, 2012).

El fipronil actúa por contacto directo y por ingestión y es efectivo en estadios larvarios y en adultos (Baynes, 2009; Tingle *et al.*, 2003). Es de bajo a moderadamente soluble en agua, altamente lipofílico y estable a temperatura ambiente. Se fija a glándulas sebáceas, folículos pilosos y estrato córneo de la piel donde se almacena y se libera prolongadamente con un efecto residual de 30 a 34 días (Gunasekara *et al.*, 2007; Beugnet y Franc, 2012).

En los mamíferos, el fipronil se absorbe como sustancia activa a través de la piel y se distribuye ampliamente en los tejidos grasos, con mayor concentración en estómago, grasa y glándulas suprarrenales (Tingle *et al.*, 2003). La mayor concentración se detecta en las glándulas sebáceas, capas epiteliales que rodean los pelos y parte expuesta del pelo posterior a dos meses después del tratamiento, demostrándose así la difusión pasiva a través del sebo que recubre la piel y el pelo

(Nicodemo *et al.*, 2014). En estas zonas no se absorbe significativamente si es administrado tópicamente, sino que se cambia de localización por vía dérmica, quedando limitado a los lípidos de los folículos capilares y glándulas sebáceas por lo que el fipronil crea un reservorio de liberación durante varias semanas, explicándose la actividad sostenida (Maddison *et al.*, 2008).

El metabolismo del fipronil es a través de reducción, oxidación e hidrolisis. El sulfino es producto del metabolismo reductor hepático, posteriormente existe una pérdida de la fracción de sulfóxido, surgiendo el principal metabolito: sulfona y finalmente, la hidrolisis del grupo carbonitrilo. El principal metabolito del fipronil es el fipronil-sulfona que es detectado en el tejido graso de cerebro, hígado, riñones y heces. La principal vía de eliminación es por las heces (Beugnet y Franc, 2012). El fipronil, tiene un amplio margen de seguridad (DL₅₀ dérmica en rata de 2000 mg/kg), por lo que puede emplearse hasta 5 veces la dosis máxima en perros y gatos (Vergara y Dib, 2015).

2.6.1.1. Mecanismo de acción en los insectos

El fipronil es una molécula activa que interrumpe el sistema nervioso central del artrópodo mediante un bloqueo no competitivo del canal de cloro regulado por el ácido γ -aminobutírico (GABA) y receptores de glutamato (específicos de artrópodos) impidiendo la inferencia del pasaje de iones de cloro a través de este. Cuando el artrópodo entra en contacto con el fipronil o con la molécula de oxidación del vertebrado: la fipronil-sulfona (principal metabolito) y se une con el GABA, provoca que se cierren los canales propiciando una acumulación de iones de cloro en pre-sinapsis y bloqueando potentemente los canales de cloruro de glutamato (bloqueo de su acción inhibitoria), por lo tanto, el resultado neto de la exposición de los insectos al fipronil es una reducción en la inhibición neuronal e hiperexcitación del Sistema Nervioso Central (SNC) provocando convulsiones y parálisis en dosis bajas y la muerte del insecto a dosis más altas (Zhao *et al.*, 2005; Gupta y Milatovic, 2014).

2.6.2. Permetrina

La permetrina es un piretroide sintético y es uno de los insecticidas más utilizados para el control de plagas y salud pública. Se caracteriza por una afinidad al suelo, sedimentos y agua con una lenta eliminación persistiendo durante semanas (Jiménez, 2001; Casida, 2009; Alzogaray y Zerba, 2016). No es genotóxica con toxicidad selectiva, un bajo nivel de toxicidad oral en mamíferos y una alta toxicidad tópica en insectos (Jiménez, 2001; Vergara y Dib, 2010). Por ello, es utilizado como medio de control en una variedad de especies de insectos debido a sus efectos repelentes de contacto junto con sus efectos insecticidas de acción rápida en varias especies de artrópodos (Buescher *et al.*, 1987; Vergara y Dib, 2010; Navarro *et al.*, 2016).

Se presenta en forma de aerosoles, difusores, soluciones y collares. Al aplicarse en forma tópica en el mamífero, la permetrina permanece en su mayor parte en la capa del pelo distribuyéndose lentamente en su piel, obteniendo su efecto máximo 48 horas después de la aplicación. La liposolubilidad es una de las propiedades con mayor impacto en los insectos, ya que facilita el ingreso de la permetrina a través de la cutícula. Asimismo, es completamente impermeable a la luz ultravioleta, lo que permite un impacto persistente alrededor de 5 a 10 días después de la administración tópica. Se metaboliza por hidrólisis y se excreta en la orina (Vardhan, 2010).

2.6.2.1. Mecanismos de acción en los insectos

El mecanismo de acción de la permetrina requiere del contacto directo con el insecto con un efecto instantáneo (menor a 2 minutos) y sucede en dos fases: la primera fase es provocada por la acción rápida sobre los ganglios cerebrales y consiste en una alteración del funcionamiento del sistema nervioso por el compromiso de la conducción iónica a través de las membranas neuronales, prolongando la apertura de los canales de sodio durante periodos más largos y provocando despolarización de la membrana de las neuronas de los insectos logrando la imposibilidad de generación de un potencial de acción (efecto knock-down o efecto derribo). El efecto derribo puede observarse en los insectos cuando estos quedan inmóviles y se

comportan como si estuvieran muertos, puede ser reversible y posterior a unos segundos los insectos pueden despertar y entrar a la segunda fase. La segunda fase se caracteriza por una hiperexcitación debido a la acción del fármaco en los nervios periféricos que resultan en el insecto como movimientos rápidos, breves e inconscientes que pueden conducir a la muerte. La muerte causada por la permetrina en el insecto se debe a un descontrol en la secreción de neurohormonas que controlan procesos fisiológicos y que son reguladas por el SNC debido a la apertura constante de los canales de sodio que fue mencionado anteriormente (Orchard, 1980; Soderlund y Knipple, 2003; Katz *et al.*, 2008; Alzogaray y Zerba, 2016; Vardhan, 2016).

En *R. prolixus*, la permetrina es el producto químico con mayor efecto y señalado como un fármaco de contacto que provoca una estimulación locomotora inicial excitante (hiperactividad, actividad muscular intensificada y parálisis e incoordinación de las patas) seguido de mortalidad retrasada (Buescher *et al.*, 1985). En el caso de la segunda fase, los insectos muestran síntomas como incoordinación, parálisis de las patas, extensión de la probóscide y distensión abdominal con presencia de gas (Orchard, 1980; Alzogaray y Zerba, 2016).

III. HIPÓTESIS

El uso tópico de fipronil-permetrina en perros produce la disminución en la alimentación de sangre y un aumento en la mortalidad de *R. prolixus* desde la primera semana posterior al tratamiento disminuyendo su efecto gradualmente hasta la cuarta semana posterior a la aplicación.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar en perros los efectos repelentes e insecticidas de fipronil-permetrina contra *R. prolixus* mediante la medición de la ingesta de sangre y la mortalidad de los insectos.

4.2. Objetivos específicos

- Evaluar los efectos repelentes provocados por fipronil-permetrina en *R. prolixus* mediante la observación y clasificación de los cambios en el volumen y forma del promesenterón.
- Determinar los efectos insecticidas de fipronil-permetrina sobre la supervivencia de *R. prolixus* posterior a la exposición.

V. REFERENCIAS

- Alzogaray, R.A. and Zerba, E.N. (2016) *Rhodnius prolixus* intoxicated. Journal of Insect Physiology. 97: 93-113.
- Amelotti, I., Catalá, S. and Gorla, D. (2010) The effects of cypermethrin pour-on and piperonyl butoxide on *Triatoma infestans* under laboratory conditions. Journal of Medical Entomology 47(6):1135-1140.
- Amelotti, I., Catalá, S. and Gorla, D. (2012) Effects of fipronil on dogs over *Triatoma infestans*, the main vector of *Trypanosoma cruzi*, causative agent of Chagas disease. Parasitology Research. 111:1457-1462.
- Arce-Fonseca, M., Carrillo-Sánchez, S., Molina-Barrios, M., Martínez-Cruz, J., Cedillo-Cobián, Y., Henao-Díaz, A. and Rodríguez-Morales, O. (2017) Seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in domestic dogs from Sonora, Mexico. Infectious Diseases of Poverty. 6:120.
- Arévalo, A., Carranza, J.C., Guhl, F., Clavijo, A.J. and Vallejo, A.G. (2007) Comparación del ciclo de vida de *Rhodnius colombiensis* y *Rhodnius prolixus* Stal, 1872 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en condiciones de laboratorio. Biomédica. 27(1).
- Bar, M. (2009). Biología de los artrópodos. Notas de curso. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/artropodos/publicaciones.htm>. Fecha de consulta: 24 de abril 2019
- Barrera-Pérez, M. (2003). Dinámica poblacional de *Triatoma dimidiata*, vector de la enfermedad de Chagas, en la Península de Yucatán, México. Centro de Investigaciones Biomédicas. (Tesis doctoral, Universidad de Colima, México). Recuperado de <http://bvirtual.ucol.mx/consultaxcategoria.php?categoria=3&id=5481>. Fecha de consulta: 24 de abril de 2019
- Barrett, M., and Orchard, I. (1990) Serotonin-induced elevation of cAMP levels in the epidermis of the blood-sucking bug, *Rhodnius prolixus*. Journal of Insect Physiology. 36(9): 625-633.
- Barrozo, R.B. and Lazzari, C.R. (2004). The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. Chemical Senses. 29(4): 319-323.
- Beugnet, F. and Franc, M. (2012) Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. Trends in parasitology. 28(7): 267-279.
- Buescher, M.D., Rutledge, L.C., and Wirtz, R.A. (1987) Studies on the comparative effectiveness of permethrin and deet against bloodsucking arthropods. Journal of Pesticide Science. 21: 165-173

- Cáceres, A. (2005) Manual de procedimientos de identificación de triatominos (Hemiptera: Reduviidae) del Perú. Serie de normas técnicas N° 41. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Pp 13-24. Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/844_MS-INS-NT41.pdf. Fecha de consulta: 12 de agosto de 2019.
- Calderón-Arguedas, O., Chinchilla, M., García, F. and Vargas, M. (2001) Preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) procedente de la meseta central de Costa Rica a finales del siglo XX. *Parasitología al día*. 25:3-4.
- Cardoso, L. (2015) Fipronil and permethrin combination: a novel ectoparasiticide for dogs. *Parasites and Vectors*. 8(1):53.
- Casida, J.E. (2009) Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. *Chemical Research in Toxicology*. 22: 609-619.
- Chatzis, M.K., Psemnas, D. Papadopoulos, E., Navarro, C., and Saridomichelakis, N.M. (2017) A field trial of fixed combination of permethrin and fipronil (Effitix) for the treatment and prevention off flea infestation in dogs living with sheep. *Parasites and Vectors*. 10(1):212.
- Chiang, R.G. and Chiang, J.A. (2017) Functional Anatomy of the External and Internal Reproductive Structures in Insect Vectors of Chagas Disease with Particular Reference to *Rhodnius prolixus*. *Biological Control of Pest and Vector Insects*. (abril, 2017). DOI: 10.5772/66441.
- Coelho, A., Tavares, J., Figueiredo, N. and Pereira, M. (2006) Salivation pattern of *Rhodnius prolixus* (Reduviidae; Triatominae) in mouse skin. *Journal of Insect Physiology*. 52(5): 468-472.
- Cruz-Reyes, A. and Pickering, M. (2006) Chagas disease in México: an analysis of geographical distribution during the past 76 years-a review. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*. 101(4). 345-354.
- Cvejié, D., Schneider, C., Neethling, W., Hellmann, K., Liebenberg, J. and Navarro, C. (2017) The sustained speed of kill of ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) and fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs by a spot-on combination of fipronil and permethrin (Effitix) compared with oral afoxolaner (NexGard). *Veterinary Parasitology*. 243: 52-57.
- Dumonteil, E. and Gourbière, S. (2004) Predicción de la abundancia y tasa de infección de *Triatoma dimidiata*: un mapa de riesgo de transmisión natural de la enfermedad de Chagas en la Península de Yucatán, México. *Revista Biomédica*. 15:221:231.
- Dumonteil, E., Gourbiere, S., Barrera-Pérez, M., Rodríguez-Félix, E., Ruiz-Piña, H., Baños-López, M., Ramírez-Sierra, M.J., Menu, F. and Rabinovich, J.E. (2002) Geographic distribution of *Triatoma dimidiata* and transmission dynamics of

- Trypanosoma cruzi* in the Yucatan península of Mexico. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 67(2):176-183.
- Dumonteil, E., Ramirez-Sierra, M., Pérez-Carrillo, S., Teh-Poot, C., Herrera, C., Gourbière, S. and Waleckx, E. (2017) Detailed ecological associations of triatomines revealed by metabarcoding and next-generation sequencing: implication for triatomine behavior and *Trypanosoma cruzi* transmission cycles. Scientific Reports. 8: 40-49.
- Endris, R.G., Cooke, D., Amodie, D., Sweeney, D.L. and Katz, T.L. (2002) Repellency and efficacy of 65% permethrin and selamectin spot-on formulations against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. Veterinary Therapeutics. 3(1): 64-71.
- Escandón-Vargas, K., Muñoz-Zuluaga, C.A. and Salazar, L. (2017) Blood-feeding of *Rhodnius prolixus*. Biomédica. 37(3): 299-302.
- Fankhauser, B., Dumont, P., Halos, L., Hunter, J.S., Kunkle, B., Everett, W.R., Chester, T.S., Fourie, J. and Soll, M.D. (2015) Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against *Ctenocephalides felis* flea infestation in dogs. Parasites and Vectors. 8(1): 62.
- Fankhauser, B., Dumont, P., Hunter, J., McCall, J., Kaufmann, C., Mathis, A., Young, D., Carroll, S., McCall, S., Chester, T. and Soll, M.D. (2015). Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against three mosquito species (*Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipens*) on dogs. Parasites and Vectors. 8:62.
- Fuentes-Vicente, J.A., Gutiérrez-Cabrera, A.E., Flores-Villegas, A.L., Lowenberger, C., Benelli, G., Salazar-Schettino, P.M. and Córdoba-Aguilar, A. (2018) What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma cruzi*-triatomine interactions. Acta Tropica. 183: 23-31.
- Franc, M., Liernard, E., Jacquiet, S., Bonneau, S., Navarro, C. and Bouhsira, E. (2015a) Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin (Effitix®) against *Phlebotomus perniciosus* in dogs. Journal of Parasitology Research. 212(3).
- Franc, M., Liernard, E., Jacquiet, S., Bonneau, S., Navarro, C. and Bouhsira, E. (2015b) Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin (Effitix®) against *Phlebotomus perniciosus* in dogs. Parasitology Research. 114(3): 2093-2097.
- Galvao, C., Rocha, R., Da Silva, D. and Jurberg, J. (2014) A checklist of the current valid species of the subfamily *Triatominae* Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. Zootaxa. 202(1): 1-36.

- Gentile, A.G., Sartini, J.L., Campo, C.M. and Sánchez, F.J. (2004) Efficacy of Fipronil in the control of the peridomestic cycle of *Triatoma infestans* in an area resistant to deltamethrin. *Cadernos Saúde Pública*. 20(5).
- Grimaldi, D. and Engel, M. (2005) Arthropods and the Origin of Insects: Evolution of the Insects. [Springer versión]. Recuperado en: <https://pdfs.semanticscholar.org/ceab/6ef4040ea25fb9c7870e4b5a399777c7eac7.pdf>. Fecha de consulta: 12 de agosto de 2019.
- Guhl, F.(2009). Enfermedad de Chagas: realidad y perspectivas. *Revista Biomedica*. 20(3): 228-234.
- Gunasekara, A.S., Truong, T., Goh, K.S., Spurlock, F. and Tjeerdema, R. (2007) Environmental fate and toxicology of fipronil. *Environmental Toxicology*. 32(3).
- Gupta, R. (2014). Insecticides. En: R. Gupta and D. Milatovic (Ed.) *Biomarkers in toxicology*. USA. American Press. p. 389-407
- Gurgel-González, R., Abad-Franch, F., Ferreira, B.C., Santana, B.D. and Cuba, C.C. (2008) Is *Rhodnius prolixus* (Triatominae) invading houses in Central Brazil?. *Acta Tropica*. 107(2): 90-98.
- Gürtler, R., Ceballos, A., Stariolo, R., Kitron, U. and Reithinger, R. (2009b). Effects of topical application of fipronil spot-on on dogs against the Chagas disease vector *Triatoma infestans*. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 103(3):298-304.
- Gürtler, R., Ceballos, L., Ordóñez-Krasnowski, P., Lanati, L., Stariolo, R. and Kitron, R. (2009a) Strong host-feeding preferences of the vector *Triatoma infestans* modified by vector density: implications for the epidemiology of Chagas disease. *Neglected Tropical Disease*. 3(5):447.
- Gürtler, R., Cecere, M., Castanera, M., Canale, D., Lauricella, M., Chuit, R., Cohen, J. and Segura, E. (1996) Probability of infection with *Trypanosoma cruzi* of the vector *Triatoma infestans* fed on infected humans and dogs in northwest Argentina. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 55(1):24-31.
- Gürtler, R., Cecere, M., Petersen, R., Rubel, D. and Schweigmann, N. (1993). Chagas disease in north-west Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitaemia in dogs and cats and infection rates in domestic *Triatoma infestans*. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 87(1):12-15.
- Gürtler, R., Chuit, R., Cecere, M., Castañera, M., Cohen, J. and Segura, E. (1998). Household prevalence of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in three rural villages in northwest Argentina: environmental, demographic, and entomologic associations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 59(5):741-749.
- Guzmán-Marín, E. (1990) Los transmisores de la enfermedad de Chagas. *Revista Biomédica*. 1(3). 144-153.

- Guzmán-Marín, E., Barrera-Perez, M., Rodriguez-Felix, E. and Zavala-Velázquez, J. (1992). Habito biológico de *Triatoma dimidiata* en el estado de Yucatán. *Revista Biomédica*. 3(3). 87-92.
- Guzman-Tapia, M., Ramirez-Sierra, Y. and Dumonteil, E. (2007). Urban infestation by *Triatoma dimidiata* in the city of Mérida, Yucatan, Mexico. *Vector Borne Zoonotic Disease*. 7(4):597-606.
- Jiménez-Cisneros, B.E. (2001) Permetrina: La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. 1era edición. México, DF. P 309-312.
- Jirón, L. and Zeledón, R. (1982). Preferencias alimentarias de tres especies de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) en condiciones experimentales. *Revista de Biología Tropical*. 30(2):151-159.
- Katz, T.M., Miller, J.H. and Hebert, A.A. (2008) Insect repellents: historical perspectives and new developments. *Journal of American Academic Dermatology*. 58(5): 865-871.
- Lazzari, C. (2009) Orientation towards hosts in haematophagous insects: an integrative perspective. *Advances in Insect Physiology*. 37: 1-58.
- Loza, A., Talaga, A., Herbas, G., Canavari, R., Cahuasiri, T., Luck, L., Guibarra, A., Goncalves, R., Pereira, J., Gomez, S., Picado, A., Messenger, L. and Bern, C., Courtenay, O. (2017) Systemic insecticide treatment of the canine reservoir of *Trypanosoma cruzi* induces high levels of lethality in *Triatoma infestans* a principal vector of Chagas disease. *Parasites and Vectors*. 10(1):344.
- Maddison, J., Watson, A.D. and Elliott, J. (2008) Antiparasitic drugs In: Maddison, J.E. and Page, S.W. *Small Animal Clinical Pharmacology*. 2nd edition. London. UK. p 148-185.
- Manrique, W., and Machado-Neto, J. (2008). Toxicidad aguda y riesgo ambiental del fipronil para Guppy (*Poecilia reticulata*). *The Biologist*. 6(2):85-93.
- Monroy, C., Rodas, A., Mejía, M., Rosales, R. and Tabaru, Y. (2003) Epidemiology of Chagas disease in Guatemala: infection rate of *Triatoma dimidiata*, *Triatoma nitida* and *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) with *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). *Memories of the Institute Oswaldo Cruz*. 98(3).
- Montenegro, S. (1983) Determinación de las reservas alimenticias en *Triatoma infestans* klug 1834 (Hemiptera, Reduviidae) en base a caracteres externos. *Physis*. 41(101): 159-167.
- Montoreano, R. (2003) Encuentro con *Rhodnius prolixus* y su sistema excretor. *Revista de la facultad de Ciencias de la Salud*. 7:1.
- Navarro, C., Reymond, N., Crastes, N. and Bonneau, S. (2016). Efficacy and safety of a permethrin-fipronil spot-on solution (Effitix®) in dogs naturally infested by ticks in Europe. *Biomed Research International*. 9:1-7.
- Nicodemo, D., Maioli, M.A., Medeiros, H., Guelfi, M., Balieira, K., De Jong, D. and Mingatto, F. (2014) Fipronil and imidacloprid reduce honeybee mitochondrial activity. *Environmental Toxicology*. 33(9): 2070-2075.
- Noireau, F., Diosque, P. and Jansen, A. (2009). *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Veterinary research*. 40(2):1-23.

- Orchard, I. (1980). The effects of pyrethroids on the electrical activity of neurosecretory cells from the brain of *Rhodnius prolixus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 13(3):220-226.
- Organización Mundial de la Salud (2018) Temas de salud: Enfermedad de Chagas. Organización Mundial de la Salud. Consultado en: https://www.who.int/topics/chagas_disease/es/. Fecha de consulta: 09 de diciembre de 2018.
- Otálora-Luna, F., Pérez-Sánchez, A., Sandoval, C. and Aldana, E. (2015) Evolution of hematophagous habit in Triatominae (Heteroptera: Reduviidae). *Chilean Journal of Natural History*. 88:4.
- Reithinger, R., Ceballos, L., Stariolo, R., Davies, C. and Gurtler, E.R. (2005). Chagas disease control: deltamethrin-treated collars reduce *Triatoma infestans* feeding success on dogs. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 99(7): 766-771.
- Salazar-Schettino, P.M., Bucio-Torres, M. Cabrera-Bravo, M.C. de Alba-Alvarado, D.R. Castillo-Saldaña, E.A., Zenteno-Galindo, J. Rojo-Medina, N., Fernández-Santos, A. and Perera-Salazar, M.G. (2016). Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*. 59(3):6-16.
- Schofield, C.J., Jannin, J. and Salvatella, R. (2006). The future of Chagas disease control. *Trends in parasitology*. 22(12):583-588.
- Schofield, C.J. (1985). Control of Chagas' Disease vectors. *British Medicine Bulletin* 41(2):187-194.
- Schofield, C.J. (2000). Challenges of Chagas disease vector control in Central America. *World Health Organization*. . p 8-11.
- Schofield, C.J., Minter, D., and Tonn, R. (1987) The triatomine bugs: biology and control. *World Health Organization. Vector Biology and Control Division*. p 12-45.
- Soderlund, D. (2008) Pyrethroids, knockdown resistance and sodium channels. *Pest Management Science*. 64:610-616.
- Soderlund, D., and Knipple, D. (2003). The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 33(6):563-577.
- Soto-Vivas, A., Liria, J. and Luna, E. (2011) Morfometría geométrica y filogenia en *Rhodnius* (Hemiptera, Reduviidae) de Venezuela. *Acta Zoologica Mexicana*. 27(1): 87-102.
- Tingle, C.C., Rother, J., Dewhurst, C., Lauer, S. and King, W. (2003). Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 1:1-66.
- Vardhan, V. (2016) Short review on permethrin. *Journal of Pharmacology and Toxicological Studies*. 4 (3): 94-100.
- Vergara, C. and Dib, A. (2015) Uso racional de fipronil. *Revista Médica de Pequeños Animales*. 2(1).

- Williams, R. (2010). Other arthropod groups of veterinary importance: Veterinary entomology: livestock and companion animals. 1er edition. Taylor and Francis Group, UK. p1107-1115.
- Wulff, J.P. (2018) Genómica, proteómica y fisiología de neuropéptidos en el insecto triatómico *Rhodnius prolixus*. Oportunidades para el diseño de nuevas estrategias de control de Chagas. (Tesis Doctoral, Universidad Nacional de la Plata). Recuperado de http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/66039/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y Fecha de consulta: 13-agosto-2019.
- Zavala-Velázquez, J. (2003). La enfermedad de Chagas en el Estado de Yucatán, México. (1940-2002). *Revista Biomédica*. 14(1):35-43.
- Zhao, X., Yeh, J., Salgado, V. and Narahashi, T. (2004). Fipronil is a potent open channel blocker of glutamate-activated chloride channels in cockroach neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 310(1):192-201.

Evaluación de la eficacia de fipronil-permetrina contra *Rhodnius prolixus* en perros

A. Ucán-Mézquita¹, M. Jiménez-Coello², E.S. Guzmán-Marín², B, L. Travi², J.I. Chan-Pérez³, E. Gutiérrez-Blanco¹, A. Ortega-Pacheco.^{1*}

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, CCBA. Universidad Autónoma de Yucatán, Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México.

²University of Texas Medical Branch, Department of Internal Medicine – Division of Infectious Diseases, Galveston, Texas, USA.

³Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” Universidad Autónoma de Yucatán. Av. Itzaes No. 490 por 59^a Centro, Mérida, Yucatán, México.

Autores por correspondencia. Tel.: +529993551803; fax: +529993551803. E-mail: opacheco@correo.uady.mx (A. Ortega-Pacheco).

Manuscrito en preparación para enviar a la revista “Veterinary Parasitology”

Highlights

- La combinación de fipronil-permetrina en presentación pour-on es altamente eficaz como repelente e insecticida contra *R. prolixus* en perros.
- Después de la exposición con el medicamento, la mortalidad ocurre en un período de 24 horas y su efecto disminuye gradualmente con los días.

- Se considera que su uso en perros para el control vectorial podría disminuir la tasa de infección de la tripanosomiasis americana en humanos habitando zonas endémicas.

Resumen

El presente estudio evaluó la eficacia insecticida y repelente de fipronil-permetrina en la ingesta de sangre y mortalidad de *Rhodnius prolixus* en perros. Se evaluó la eficacia de fipronil-permetrina en presentación *pour-on* en 10 perros durante 7 semanas para cada uno de los animales. El modelo de estudio fueron hembras vírgenes de *R. prolixus* con inanición de 3 semanas. En la semana 0 (S0) no se aplicó ningún tratamiento. Las semanas 1 a la 6 correspondieron a las semanas con el tratamiento de fipronil-permetrina y fue administrado únicamente en la semana 1 y 5. Para la exposición de los insectos con el perro se utilizaron 8 tubos tipo Falcon divididos en 2 grupos y se colocaron en una posición vertical manteniendo la abertura del tubo en contacto con la zona craneal y caudal del dorso del perro durante 25 minutos. Para la evaluación del efecto repelente se observó el abdomen y clasificó según el tamaño del promesenterón y posición de las alas. Para la evaluación de la mortalidad, todos los insectos fueron monitoreados en la hora 1, 3, 12, 24 y 48 después de la exposición y se clasificaron en vivos o muertos. En la S0 se obtuvo una mortalidad del 0%; en las semanas con el tratamiento se observaron mortalidades del 100% pero a diferentes tiempos, para la S1, S2, S5 y S6 antes de las 3 horas y para las S3 y S4 mayor de 3 pero menor a 24 horas. La repelencia en la semana control fue del 0%, para las S1 a la S6 resultó en 86.3%, 77.5%, 73.8%, 62.5%, 93.8% y 81.3% respectivamente. La mortalidad y la repelencia en las semanas con el tratamiento fueron significativamente diferentes entre el grupo control ($P < 0.05$). Los resultados indican que la combinación de fipronil-permetrina posee efectos insecticidas y repelentes eficaces contra triatominos en perros y, por lo tanto, se recomienda su uso cada 4 semanas.

.

Palabras clave: fipronil-permetrina, perros, triatominos, control vectorial.

1. Introducción

La tripanosomiasis americana (TA) es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* y transmitido a mamíferos en ambientes domésticos, peridomésticos y silvestres principalmente por vectores de la subfamilia *Triatominae*. (Gürtler *et al.*, 2009a). El principal modo de transmisión es el vectorial, por ello, en regiones donde la TA es endémica, las estrategias para disminuir su incidencia se han enfocado en controlar al vector mediante métodos sanitarios, educación a las comunidades y fumigación con diversos insecticidas como organofosforados, carbamatos, piretrinas y piretroides sintéticos (Fuentes-Vicente *et al.*, 2018). Sin embargo, a pesar de tener enfoques factibles, los costos operativos son elevados, el efecto residual menos duradero, existen varios casos de intoxicación, su uso excesivo en algunos lugares ha seleccionado poblaciones resistentes y principalmente su uso no rompe con los ciclos domésticos y peridomésticos de transmisión de la enfermedad (Schofield *et al.*, 1987).

Los perros, gatos, zarigüeyas y roedores desempeñan papeles importantes en la ecología y epidemiología de la TA, ya que forman parte de los ciclos de transmisión del agente (Gürtler *et al.*, 2009a). El perro es el principal reservorio doméstico de *T. cruzi* y ha demostrado una asociación positiva entre perros seropositivos a *T. cruzi* y la seropositividad en los humanos (Gürtler *et al.*, 1993; Dumonteil *et al.*, 2017). Además, los perros, desempeñan un enlace entre los ciclos peridomésticos y silvestres de la transmisión vectorial de *T. cruzi* (Gürtler *et al.*, 1993; Zavala-Velázquez, 2003; Arce-Fonseca *et al.*, 2017). Por esto, la prevención y control de las picaduras de los triatominos en hospederos reduce el riesgo de la infección humana (Gürtler *et al.*, 2009b).

Se han estudiado diferentes estrategias de prevención y control en los perros mediante la aplicación de insecticidas en contra de triatominos en diferentes vías de administración como son collares con deltametrina (Reithinger *et al.*, 2005), xenointoxicaciones con organoclorados (Schofield *et al.*, 2000), fipronil líquido en forma de rociamientos (Gentile *et al.*, 2004) o en forma de spot-on (Gürtler *et al.*,

2009b) y recientemente el uso de insecticidas sistémicos como las isoxazolinas y espinosad (Loza *et al.*, 2017).

Se sabe que la combinación de fipronil y permetrina provoca efectos repelentes e insecticidas en *Ctenocephalides felis* (Chatzis *et al.*, 2017), *Dermacentor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus* (Cvejié *et al.*, 2017), *Ixodes ricinus* (Endris *et al.*, 2002), *Culex pipiens* (Franc *et al.*, 2015a), *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* (Fankhauser *et al.*, 2015) y *Phlebotomus perniciosus* (Franc *et al.*, 2015b). Al tener estos efectos en insectos conocidos como vectores de enfermedades zoonóticas, Cardoso (2015) considera que el uso de esta combinación en animales domésticos es una efectiva estrategia para la disminución del riesgo de transmisión de patógenos zoonóticos y junto con Navarro y colaboradores (2016) consideran que el uso de esta combinación es útil y altamente eficaz como estrategia para el control de infestaciones por vectores transmisores de enfermedades. En la actualidad, no existen estudios que evalúen el uso de la combinación de fipronil-permetrina para el control de triatominos en perros. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue la evaluación de la eficacia insecticida y repelente de fipronil-permetrina contra *Rhodnius prolixus* en perros.

2. Materiales y métodos

2.1. Lugar de estudio

El estudio se realizó en la Unidad de Enseñanza Médica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma de Yucatán localizado en la ciudad de Mérida, Yucatán, México.

2.2. Animales y modelo de estudio

Se utilizaron 10 perros criollos de cualquier sexo entre 1 a 4 años de edad, con un tamaño mediano (10-15 kg) y pelo corto. Dos semanas antes de la aplicación del medicamento, a todos los animales se les realizó un examen clínico para la verificación de su estado de salud y se les aplicó un esquema de desparasitación y vacunación contra la rabia. Los perros incluidos en el estudio debieron ser negativos a la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*, mediante dos técnicas serológicas de

diferente fundamento (ELISA y Western Blot) de acuerdo con Jiménez-Coello *et al.*, (2010).

Todos los perros se mantuvieron en jaulas individuales bajo techo en un entorno controlado y su alimentación fue con un producto comercial seco para perros proporcionando una ración aproximada para el mantenimiento del estado físico saludable y agua *ad libitum*. Durante todo el proceso, los perros fueron observados diariamente para el monitoreo de las condiciones generales de salud durante los ensayos. Como modelo de estudio se utilizaron 8 hembras vírgenes de *R. prolixus* libres de *T. cruzi* crecidas en el laboratorio de Biología Celular del Centro de Investigaciones Dr. Hideyo Noguchi de la Universidad Autónoma de Yucatán y con inanición de 3 semanas antes de la exposición con los perros.

2.3. Tratamiento con fipronil-permetrina

Se realizó un estudio experimental con una duración de 7 semanas para cada perro (Figura 2). La semana 0 (S0) correspondiente a la semana control y la semana 1 a la 6 (S1) (S6), correspondieron a las semanas con el tratamiento con fipronil-permetrina. Una vez a la semana, durante las 7 semanas, los perros fueron expuestos a 8 nuevas hembras adultas vírgenes de *R. prolixus*. En la semana control (S0), se realizó la exposición de los 8 adultos de *R. prolixus* en el perro sin la aplicación previa de fipronil-permetrina y posteriormente se registraron los resultados. La aplicación del medicamento únicamente se realizó en la S1 y la S5, administrándose 24 horas antes de la exposición con las hembras vírgenes a los perros. La reaplicación de la S5 se debió al diseño que presenta el medicamento y a las indicaciones del fabricante.

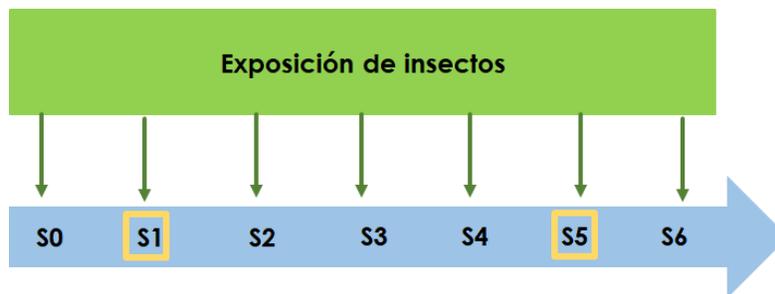


Fig 2. Esquema de tratamiento con fipronil-permetrina (S1-S6) y exposición de *Rhodnius prolixus*. Semana control (S0) y semanas de exposición (S1 a S6). S1 primera aplicación del tratamiento y S5 reaplicación del medicamento.

La presentación del tratamiento en los perros fue *pour on*, por lo que se separó el pelaje del animal en línea media hasta que la piel quedó visible y tomando como referencia tres puntos: omóplatos, el segundo y tercer tercio del cuerpo. Se administró el medicamento en una dirección caudo-craneal con referencia en los tres puntos y en la línea media, colocándose con la punta de la pipeta directamente contra la piel vaciando totalmente su contenido. Cada perro fue observado a las 4 horas posteriores de la aplicación de fipronil-permetrina por cualquier reacción adversa al medicamento. La dosis administrada en la S1 y S5 fue para perros medianos (10 a 15 kg) en el que cada mililitro (mL) contiene 61 mg de fipronil y 545 mg de permetrina, por lo tanto, para ese rango de peso se proporcionó 134 mg/kg de fipronil y 1200 mg/kg de permetrina en cada pipeta de 2.2 mL.

2.4. Desarrollo del tratamiento en los perros

Se emplearon 8 tubos tipo Falcon de 50 ml para contener a los insectos durante la exposición de los triatominos con los perros. Se dividió en 2 grupos de 4 tubos, por lo que cada insecto contó con su propio tubo Falcon para evitar el contacto entre otros insectos durante el experimento. Los tubos fueron limpiados con alcohol al 96% en cada uso. Se posicionó al perro en cuadripedestación y al mismo tiempo a los dos grupos de tubos (con insectos) con la apertura de los recipientes con dirección vertical en contacto con el dorso del perro en dos zonas, la primera con orientación craneal hacia el pecho y la segunda en dirección caudal hacia el vientre durante 25 minutos tratando de evitar movimientos. Se empleó un cuarto con

recubrimiento en las entradas de luz para el mantenimiento y control de la oscuridad, temperatura y humedad.

Posterior al tiempo establecido, el recipiente fue retirado, se limpiaron las dos zonas del dorso en el perro y de forma individual los insectos fueron clasificados en vivos o muertos. Se consideró como muerto al insecto que colocado sobre un papel de filtro no tenga actividad locomotora propia, ya sea en forma espontánea o al ser estimulado con una pinza. Los insectos vivos fueron monitoreados por periodos de 3, 12, 24 y 48 horas posteriores para evaluar su estatus y evaluar su mortalidad. Para la medición de la repelencia, se procedió a realizar el método de la silueta del promesenterón junto con la posición de las alas para la determinación de la ingesta sanguínea como es señalado por Montenegro (1983). Se clasificó en alimentados y no alimentados, los no alimentados fueron clasificados en tipo 1 y tipo 2: adultos ayunados y adultos con escasa reserva respectivamente. Los insectos alimentados se clasificaron en tipo 3: adultos con buena reserva alimenticia y tipo 4: adultos con gran contenido sanguíneo.

2.5. Análisis estadístico

Para la mortalidad se realizó un análisis de supervivencia utilizando el método Kaplan-Meier junto con una prueba de hipótesis log-rank para determinar si las curvas resultaron diferentes entre semanas de tratamiento. Para la repelencia se realizó una prueba de chi-cuadrada comparando entre las semanas de tratamiento (S1 a S6) y para la corrección del nivel de error se realizó la prueba de Bonferroni. Se consideró significativo cuando el valor de $P < 0.05$. Todos los datos fueron analizados con el programa R (versión 3.6.0).

3. Resultados

3.1. Mortalidad

En la S1 ninguno de los insectos sobrevive 3 horas después del tratamiento; en las S2, S5 y S6 algunos insectos seguían vivos después de las 3 horas, pero todos mueren en un periodo de 12 horas (Cuadro 2). En cuanto a las semanas restantes los insectos mueren en un periodo de 24 horas.

3.2. Repelencia

En cuanto a la repelencia, en la S0 se clasificaron todos los insectos con un gran contenido sanguíneo (tipo 4). En las semanas con el tratamiento se clasificaron 83 triatomíneos con una buena reserva alimenticia (tipo3), de las cuales el mayor número se presentó para la semana 4 (Cuadro 3). Se clasificó un total de 17 triatomíneos con un gran contenido sanguíneo (tipo 4).

Cuadro 2. Supervivencia y mortalidad de *Rhodnius prolixus* después de la exposición con fipronil-permetrina durante las 7 semanas del estudio. Un total de 80 insectos fueron expuestos por cada semana (S0 a S6).

Semanas	Supervivencia						Mortalidad (%)
	3 horas	IC 95%	12 horas	IC 95%	24 horas	48 horas	
0	100 (0)	-	100 (0)	-	100 (0)	100 (0)	0
1	0 (80) ^a	-	-	-	-	-	100
2	0.08 (73) ^a	0.04 – 0.17	-	-	-	-	100
3	0.48 (41) ^a	0.38 – 0.61	0.11 (30)	0.06 – 0.20	0(9)	-	100
4	0.82 (14) ^a	0.74 – 0.91	0.35 (38)	0.26 – 0.47	0(28)	-	100
→ 5	0.01 (79) ^a	0.00 – 0.08	0 (1)	-	-	-	100
6	0.1 (72) ^a	0.05 – 0.19	0 (8)	-	-	-	100

^a Medianas con diferente literal entre semanas con el tratamiento (filas) difieren significativamente (P=<0.05).

IC= intervalo de confianza

→ Reaplicación de fipronil-permetrina

Cuadro 3. Repelencia y clasificación de *Rhodnius prolixus* alimentados después de la exposición con fipronil-permetrina utilizando el método de la silueta del promesenterón según Montenegro (1983): tipo 3 triatominos con una buena reserva alimenticia y tipo 4 con un gran contenido sanguíneo. Un total de 80 insectos fueron expuestos por cada semana del estudio.

Semana	Clasificación n=80(%)		Repelencia n=80 (%)
	Tipo 3	Tipo 4	
0	0	80 (100)	0 (0)
1	10 (12.5)	1 (1.3)	69 (86.3) ^a
2	18 (22.5)	0	62 (77.5) ^a
3	16 (20)	5 (6.3)	59 (73.8) ^a
4	21(26.3)	9 (11.3)	50 (62.5) ^a
→ 5	5 (6.3)	0	75 (93.8) ^a
6	13 (16.3)	2 (2.5)	65 (81.25) ^a

^a Frecuencias con diferente literal entre semanas con el tratamiento (filas) difieren significativamente (P=<0.05)

→ Reaplicación de fipronil-permetrina

4. Discusión

Se evaluó la eficacia de fipronil-permetrina sobre los efectos en la alimentación de sangre (repelencia) y la mortalidad en un modelo de estudio triatominos en perros. Este estudio demostró que con una sola dosis aplicada de fipronil-permetrina en los perros provoca efectos repelentes e insecticidas en los triatominos con una duración de 4 semanas.

Los efectos insecticidas que proporciona el medicamento pueden observarse desde la S1 con un 0% de la supervivencia a las 3 horas posteriores al contacto, sin embargo, puede observarse que a lo largo de las semanas la supervivencia aumenta con respecto al tiempo, pero sin evitar la muerte de los triatominos en un lapso no mayor de 24 horas posteriores al contacto. Este aumento gradual de la supervivencia con relación al tiempo ya fue demostrado utilizando la misma fórmula

farmacológica en varios artrópodos hematófagos como son *Culex pipiens* (Franc et al., 2015a), *Ctenocephalides felis* (Chatzis et al., 2017), *Rhipicephalus sanguineus* (Cvejié et al., 2017) y *Phlebotomus perniciosus* (Franc et al., 2015b) observando que en un periodo de 24 horas la mortalidad alcanza valores del 100% y disminuye gradualmente hasta el día 28 posterior a la aplicación. Se ha demostrado que los principales metabolitos de la formulación utilizada (fipronilo, fipronil-sulfona y permetrina) se acumulan en la capa de pelo y las células sebáceas después de ser administradas las cuales disminuyen con el transcurso del tiempo pudiendo ser detectable hasta los 35 días posteriores a su aplicación (Beugnet y Franc, 2012). En el presente estudio se aplicó una redosificación en la semana 5 siguiendo las instrucciones del fabricante y se pudo observar supervivencias similares a semanas anteriores (1% y 10% para la S5 y S6 respectivamente) y mortalidades del 100% en un lapso menor de 12 horas, lo que sustenta la eficacia observada en el transcurso de las anteriores semanas.

La repelencia fue evaluada mediante la observación de la ingesta de sangre durante la exposición de los triatominos en el perro. Durante las semanas con el tratamiento con fipronil-permetrina se pudo observar que todos los insectos mantenían un contacto con la piel del perro y que algunos de ellos se alimentan, mismos que fueron clasificados con una buena reserva alimenticia (tipo 3) y gran contenido sanguíneo (tipo 4) pero en menor cantidad en comparación a la semana control, la cual se clasificó la totalidad como tipo 4. Aunque los resultados obtenidos en este estudio fueron diferentes a lo reportado para *Culex pipiens* (Franc et al., 2015a), *Aedes albopictus* y *A. aegypti* (Fankhauser et al., 2015b) con la misma combinación farmacológica es importante puntualizar que son los primeros para *R. prolixus* quien tiene un mayor tamaño en comparación a las especies anteriormente descritas por lo que la dosis podría ajustarse para obtener efectos repelentes más altos. Asimismo, es importante considerar que los efectos de repelencia en el perro son importantes, ya que evita la transmisión de *T. cruzi* por parte de los triatominos infectados y secundariamente por las potenciales reacciones alérgicas, inflamación y dolor que podrían ser causados por efectos de la picadura de los triatominos.

Los resultados de la combinación de fipronil-permetrina se obtienen de las propiedades farmacológicas de cada uno de los componentes. Los efectos insecticidas son atribuidos a la partícula de fipronil debido a que se sabe los efectos limitados que tiene la partícula en la inhibición de la alimentación de triatominos (Gürtler *et al.*, 2009a). Los efectos fisiológicos que produce fipronil en el insecto demuestran los efectos insecticidas ya que provocan modificaciones en las células del SNC debido a una interrupción del paso de los iones de cloruro en los canales de cloro que son regulados por GABA dando lugar a una parálisis y muerte inmediata (Zhao *et al.*, 2004; Gupta, 2014). Se ha comprobado sus efectos insecticidas en contra de *Triatoma infestans* utilizando 10 mg/kg de fipronil en presentación *pour-on* y resultando mortalidades de 88.8% a las 72 horas después de 30 días de administración (Gentile *et al.*, 2004). A pesar de que en este estudio se aplicó una dosis de fipronil 13.4 veces mayor que en el estudio anterior, la mortalidad con relación al tiempo fue más rápida y prolongada durante el transcurso de las semanas sin provocar una sobredosis en el perro. En cuanto a la permetrina, se le atribuye el efecto repelente, ya que la dosis empleada fue suficiente para observar en los triatominos todas las fases de intoxicación, parálisis y volteo previamente descritas (Alzogaray y Zerba, 1997). Se ha mencionado que el uso de permetrina en dosis similares a este estudio utilizado contra *Ixodes ricinus* provee una repelencia del 63.4% a 80.2% con duración de 5 semanas (Endris *et al.*, 2002). Estos efectos en el SNC de los triatominos se deben a una despolarización constante debido a la apertura de los canales de sodio por periodos prolongados lo que conduce a una imposibilidad de la sinapsis y envío de mensajes a otras partes del organismo del insecto (Alzogaray y Zerba, 1997; Soderlund y Knipple, 2003; Katz *et al.*, 2008). Sin embargo, se considera que la acción combinada de fipronil-permetrina provee a la fórmula una potencia insecticida y repelente mayor, incluso si existe un corto tiempo de contacto de los triatominos con la piel (Cardoso, 2015; Palomino *et al.*, 2008).

En cuanto al control de triatominos en los perros, la fórmula evaluada en este estudio presenta mejores resultados insecticidas y repelentes en lapsos de tiempo

más cortos en comparación a otros métodos reportados; un ejemplo es el uso de pastillas insecticidas orales como lo reportado por Loza *et al.*, (2017) quienes compararon tres insecticidas sistémicos: fluralaner, afoxolaner y espinosad resultando en efectos insecticidas retardados, ya que la muerte de los triatominos se observó 120 horas posteriores a la alimentación y en el caso de los triatominos en contacto con espinosad no se observó algún efecto letal a los 5 días posteriores del contacto. También se ha evaluado los efectos de los collares impregnados con deltametrina, un análogo de la permetrina, en el que se obtuvo una mortalidad de 71% a los 27 días posterior a la aplicación del collar en los perros y sin efectos en la alimentación, pero sí en la fecundidad de los triatominos (Reithinger *et al.*, 2005). Por lo tanto, a pesar de contar con medicamentos que proporcionen efectos similares transitorios o limitados, la combinación de fipronil-permetrina reportado en este estudio proporciona altos niveles insecticidas en lapsos no mayores de 24 horas y efectos repelentes con duración de 4 semanas en perros tratados. Este tratamiento se considera muy eficaz para evitar la transmisión vectorial hacia los perros y como estrategia complementaria para control vectorial y la transmisión de la enfermedad de Chagas como sugiere Travi (2019).

5. Conclusiones

La combinación de fipronil-permetrina utilizada conforme a las recomendaciones del fabricante, proporciona un efecto de repelencia (inhibición de la alimentación) y una eficacia insecticida del 100% contra *R. prolixus*.

6. Conflicto de interés

Los autores de este manuscrito no tienen relaciones financieras o personales con otras personas u organizaciones que puedan influir de forma inapropiada o sesgar el contenido del documento.

7. Declaración de ética

Los procedimientos en este estudio fueron aprobados por el comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, México. CB-CCBA-M-2019-002.

8. Agradecimientos

Laboratorios Virbac, México por el financiamiento parcial del proyecto y donación del medicamento.

9. Referencias

- Alzogaray, R.A., Zerba, E.N., 2017. *Rhodnius prolixus* intoxicated. J, Insect Physiol. 97, 93-113.
- Arce-Fonseca, M., Carrillo-Sánchez, S., Molina-Barrios, M., Martínez-Cruz, J., Cedillo-Cobián, Y., Henao-Díaz, A., Rodríguez-Morales, O., 2017 Seropositivity for *Trypanosoma cruzi* in domestic dogs from Sonora, Mexico. Infect. Dis. Poverty. 6, 120.
- Beugnet, F., Franc, M., 2012 Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. Trends Parasitol. 28, 267-269.
- Cardoso, L., 2015 Fipronil and permethrin combination: a novel ectoparasiticide for dogs. Parasit. Vectors. 8, 53.
- Chatzis, M.K., Psemnas, D., Papadopoulos, E., Navarro, C., Saridomichelakis, N.M. 2017 A field trial of fixed combination of permethrin and fipronil (Effitix) for the treatment and prevention off flea infestation in dogs living with sheep. Parasit. Vectors. 10, 212.
- Cvejić, D., Schneider, C., Neethling, W., Hellmann, K., Liebenberg, J., Navarro, C., 2017 The sustained speed of kill of ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) and fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs by a spot-on combination of fipronil and permethrin (Effitix) compared with oral afoxolaner (NexGard). Vet. Parasitol. 243, 52-57.

- Dumonteil, E., Ramirez-Sierra, M., Pérez-Carrillo, S., Teh-Poot, C., Herrera, C., Gourbière, S., Waleckx, E., 2017 Detailed ecological associations of triatomines revealed by metabarcoding and next-generation sequencing: implication for triatomine behavior and *Trypanosoma cruzi* transmission cycles. *Sci. Rep.* 8, 40-49.
- Endris, R.G., Cooke, D., Amodie, D., Sweeney, D.L., Katz, T.L. 2002 Repellency and efficacy of 65% permethrin and selamectin spot-on formulations against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Vet. Ther.* 3, 64-71.
- Fankhauser, B., Dumont, P., Halos, L., Hunter, J.S., Kunkle, B., Everett, W.R., Chester, T.S., Fourie, J., Soll, M.D., 2015a Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against *Ctenocephalides felis* flea infestation in dogs. *Parasit Vectors.* 8(1):62.
- Fankhauser, B., Dumont, P., Hunter, J., McCall, J., Kaufmann, C., Mathis, A., Young, D., Carroll, S., McCall, S., Chester, T. and Soll, M.D. (2015b). Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against three mosquito species (*Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*) on dogs. *Parasit. Vectors.* 8,62.
- Flores-Vicente, J., Gutiérrez-Cabrera, A., Flores-Villegas, A., Lowenberg, C., Benelli, G., Salazar-Schettino, P. and Córdoba-Aguilar, A. (2018). What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma cruzi*-triatomine interactions. *Act. Trop.* 183: 23-81.
- Franc, M., Liernard, E., Jacquet, S., Bonneau, S., Bouhsira, E., 2015a Efficacy of fipronil combined with permethrin commercial spot on (Effitix®) preventing *Culex pipiens* from feeding on dogs. *J. Parasitol. Res.* 114, 2093-2097.
- Franc, M., Liernard, E., Jacquet, S., Bonneau, S., Navarro, C., Bouhsira, E. 2015b. Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin (Effitix®) against *Phlebotomus perniciosus* in dogs. *Vet. Parasitol. Res.* 212, 156-160.
- Gentile, A.G., Sartini, J.L., Campo, C.M., Sánchez, F.J., 2004 Efficacy of Fipronil in the control of the peridomestic cycle of *Triatoma infestans* in an area resistant to deltamethrin. *Cad. Saúde Pública.* 20, 1240-1248.

- Gupta, R., 2014. Insecticides. In: Gupta R., Milatovic D. (Ed.) Biomarkers in toxicology. USA. American Press. 389-407 pp.
- Gürtler, R., Ceballos, L., Ordóñez-Krasnowski, P., Lanati, L., Stariolo, R., Kitron, R., 2009a Strong host-feeding preferences of the vector *Triatoma infestans* modified by vector density: implications for the epidemiology of Chagas disease. PLoS Negl. Trop. Dis. 3,e447.
- Gürtler, R. Ceballos, A., Stariolo, R., Kitron, U., Reithinger, R., 2009b Effects of topical application of fipronil spot-on on dogs against the Chagas disease vector *Triatoma infestans*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 103, 298-304.
- Gürtler, R., Cecere, M., Petersen, R., Rubel, D., Schweigmann, N., 1993 Chagas disease in north-west Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitaemia in dogs and cats and infection rates in domestic *Triatoma infestans*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 87, 12-15.
- Jiménez-Coello, M., Gúzmán-Marín, E., Ortega-Pacheco, A., Acosta-Viana, K., 2010 Serological survey of American Trypanosomiasis in Dogs and their owners from an urban area of Mérida Yucatan, Mexico. Transbound. Emerg. Dis. 57, 33-36.
- Katz, T.M., Miller, J.H., Hebert, A.A., 2008 Insect repellents: historical perspectives and and new developments. J. Am. Acad. Dermatol. 58, 865-871.
- Loza, A., Talaga, A., Herbas, G., Canavari, R., Cahuasiri, T., Luck, L., Guibarra, A., Goncalves, R., Pereira, J., Gomez, S., Picado, A., Messenger, L., Bern, C., Courtenay, O., 2017 Systemic insecticide treatment of the canine reservoir of *Trypanosoma cruzi* induces high levels of lethality in *Triatoma infestans* a principal vector of Chagas disease. Parasit. Vectors. 10,344.
- Montenegro, S., 1983 Determinación de las reservas alimenticias en *Triatoma infestans* klug 1834 (Hemiptera, Reduviidae) en base a caracteres externos. Physis. 41, 159-167.
- Navarro, C., Reymond, N., Crastes, N., Bonneau, S., 2016 Efficacy and safety of a permethrin-fipronil spot-on solution (Effitix®) in dogs naturally infested by ticks in Europe. Biomed. Res. Int. 9, 1-7.

- Organización Mundial de la Salud (2018) Temas de salud: Enfermedad de Chagas. Organización Mundial de la Salud. Consultado en: https://www.who.int/topics/chagas_disease/es/.
- Palomino, M., Villaseca, P., Cárdenas, F., Ancca, J., Pinto, M., 2008 Eficacia y residualidad de dos insecticidas piretroides contra *Triatoma infestans* en tres tipos de viviendas. Evaluación de campo de Arequipa, Perú. Rev. Peruana Sal. Pub. 25, 9-16.
- Reithinger, R., Ceballos, L., Stariolo, R., Davies, C., Gurtler, R., 2005 Chagas disease control: deltamethrin-treated collars reduce *Triatoma infestans* feeding success on dogs. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 99, 766-771.
- Schofield, C.J., 2000 Challenges of Chagas disease vector control in Central America. World Health Organization. Position paper. 8-11 pp.
- Schofield, C.J., Minter, D., Tonn, R., 1987 The triatomine bugs: biology and control. World Health Organization. Vector Biology and Control Division. p 12-45.
- Soderlund, D., Knipple, D., 2003 The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. Insect Biochem. Mol. Biol. 33, 563-577.
- Travi B.L., 2019 Considering Dogs as Complementary Targets of Chagas Disease Control. Vector Borne Zoon. Dis 19, 90-94.
- Zavala-Velázquez, J., 2003 La enfermedad de Chagas en el Estado de Yucatán, México (1940-2002). Rev. Biomed. 14, 35-43.
- Zhao, X., Yeh, J., Salgado, V., Narahashi, T., 2004 Fipronil is a potent open channel blocker of glutamate-activated chloride channels in cockroach neurons. J. Pharmacol. Exp. Ther. 310, 192-201.