

Determinación de dosis diagnósticas y tiempos letales en *Lutzomyia youngi* de Las Calderas Trujillo - Venezuela a cuatro insecticidas.

Leslie Alvarez Gonzalez, José Vicente Scorza, Darjaniva Molina de Fernandez, Elina Rojas y Juan Bisset³.

Lutzomyia youngi es el principal vector de leishmaniasis cutánea en la ciudad de Trujillo, Venezuela, donde la enfermedad es altamente endémica.

Se ha obtenido información acerca del comportamiento de estos insectos frente a algunos insecticidas de uso común en Venezuela, exponiendo hembras silvestres de *Lutzomyia youngi* procedentes de la localidad Las Calderas, a papeles impregnados con diferentes concentraciones de DDT, malation, propoxur y lambdacyhalotrina para determinar las concentraciones letales 50 y 95 y dosis diagnósticas, siguiendo la técnica de la OMS (1970). Se obtuvieron valores para las CL50, CL95 y dosis diagnósticas con DDT de 0.29% , 1.04% y 3.54%; para malation 0.23%, 0.64% y 1.9%; para propoxur 0.0068%, 0.011% y 0.026% y para lambdacyhalotrina 0.0004%, 0.0015% y 0.0056% respectivamente. Posteriormente se determinaron los tiempos letales 50 y 95 usando las dosis diagnósticas calculadas, excepto con lambdacyhalotrina que se usó el equivalente a la CL99, encontrándose valores de 6.10 min y 13.17 min con DDT; 15.6 min y 38.21 min para malation; 18.3 min y 36.7 min para propoxur y 11.08 min y 33.4 min para lambdacyhalotrina. *Lu. youngi* resultó ser más sensible al insecticida piretroide lambdacyhalotrina en relación con los otros insecticidas evaluados, sugiriendo que este piretroide tiene mayor efecto tóxico sobre la especie estudiada.

Palabras claves: *Lutzomyia youngi*, insecticidas, dosis diagnósticas, tiempos letales.

INTRODUCCIÓN

Las leishmaniasis tegumentarias son protozoosis transmitidas por dípteros Phlebotominae, endémicas en casi todo el territorio venezolano. Desde 1983 hasta 1993 se han registrado no menos de 20.000 casos de leishmaniasis cutánea localizada (LCL), de los cuales el 32% procedieron de los estados andinos Táchira, Mérida y Trujillo. Sin embargo, muchos casos no son reportados o diagnosticados, lo cual ocasiona un subregistro (Departamento de Dermatología del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, 1994).

En Venezuela el control de las LCL está limitada a la detección y tratamiento de los casos clínicos, no existiendo programas de control destinados a la interrupción de la transmisión de la enfermedad.

En diversos países del mundo han sido aplicados insecticidas como malation, propoxur, fenitrotion, DDT, y piretroides sintéticos en áreas domésticas y peri-domésticas para el control de los flebotominos (WHO, 1990), sin embargo son escasos los estudios que refieren la determinación de los datos de la línea básica de susceptibilidad a insecticidas, pero es necesario determinar dichos valores antes de aplicar alguna medida de control.

El transmisor de la LCL y más frecuente flebótomo en la ciudad de Trujillo- Venezuela es *Lutzomyia youngi* y ha sido hallado naturalmente infectado con *Leishmania braziliensis* (Scorza et al., 1984a).

Con el propósito de dar información actualizada sobre el comportamiento de *Lutzomyia youngi* frente a diferentes grupos de insecticidas, con vistas a establecer un uso correcto de estos químicos para el control de la transmisión de la LCL en la ciudad de Trujillo- Venezuela, se han llevado a cabo bioensayos de susceptibilidad para determinar concentraciones letales, dosis diagnósticas y tiempos letales en hembras de *Lutzomyia youngi* procedentes de la localidad Las Calderas de Trujillo frente a cuatro insecticidas químicos: DDT, malation, propoxur y lambda-cyhalotrina.

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Lutzomyia youngi es difícil de colonizar en condiciones de laboratorio por cuanto es exigente a dieta, cambios de temperatura, humedad, etc., por lo que en este estudio se usaron hembras silvestres de esta especie.

Los flebotomos fueron capturados en la localidad "Las Calderas" situada a 12 Km. al sudeste de la ciudad de Trujillo- Venezuela a 1350 m.s.n.m (70°25' O LO 9°20' N) en noches despejadas entre las 19:00 y 20:30 horas desde Enero 1998 hasta Marzo de 1999, usando una trampa de Shannon (1939) con cebo luminoso. Los insectos capturados fueron confinados en envases de vidrio recubiertos internamente de corcho laminado y estos a su vez en cavas de anime con condiciones de temperatura entre 21°C - 25°C y una humedad relativa aproximadamente de 85%, hasta la realización de los bioensayos.

Bioensayos de susceptibilidad

Determinación de Concentraciones Letales

Se prepararon soluciones de DDT (4%), malation (2%) y propoxur (0.1%) en aceite de oliva y de lambda-cyhalotrina (0.003%) en aceite siliconado, a partir de las cuales se realizaron diluciones para ensayar diferentes concentraciones de los cuatro insecticidas.

Debido al pequeño tamaño de *Lu. youngi* fue imposible utilizar el Kit de la OMS, por lo que usamos un dispositivo diseñado para trabajar con esta especie (Rojas, E. & Alvarez, L. 1998)

Las hembras de *Lu. youngi* fueron expuestas a papeles de filtro Whatman No. 1 impregnados con diferentes concentraciones de los insecticidas a ensayar, en el Laboratorio de Control de Vectores del centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba" , siguiendo el protocolo de la OMS (1976). Se trabajo con cuatro concentraciones para cada insecticida que

ocasionaron mortalidades entre 2 y 98%, DDT (0.25, 0.5, 1.0 y 1.5%), malation (0.25, 0.5, 0.75 y 1%), propoxur (0.0025, 0.005, 0.0075 y 0.01%) y lambda-cyhalotrina (0.00025, 0.0005, 0.00075 y 0.001%). Cada concentración fue evaluada a través de 4 replicas, cada una con 15 flebotomos. Los insectos colectados, mantenidos en condiciones optimas, fueron transferidos a envases de espera durante 1 hora, con el fin de observar alguna anomalía causada por la manipulación. Después fueron pasados a envases contentivos de papeles impregnados con insecticidas hasta transcurrir un periodo de exposición de 60 minutos.

Posteriormente, fueron transferidos a envases libres de insecticidas, se les proporcionó solución azucarada y se mantuvieron en condiciones de humedad y temperatura adecuada durante 24 horas cuando fue registrada la mortalidad. Se utilizó un grupo control con 2 replicas, cuyos insectos se expusieron a papeles impregnados solo con aceite mineral sin insecticida. Estos bioensayos se repitieron en tres ocasiones distintas, todo siguiendo el protocolo de la OMS (1981).

Las mortalidades registradas fueron sometidas al análisis Probit (Finney, 1971) usando el programa Probit (Raymond, 1985), determinando la curva Concentración-Mortalidad lo cual permitió expresar los valores correspondientes a las concentraciones letales 50 y 95 (CL50 y CL95), como las concentraciones que ocasionaron el 50 y 95% de la mortalidad de los insectos evaluados.

Determinación de tiempos letales

Se impregnaron papeles con las dosis diagnósticas calculadas para cada insecticida, a excepción de la lambda-cyhalotrina cuya concentración usada fue de 0.0025% y se expusieron hembras de *Lu. youngi* durante cuatro diferentes tiempos para DDT (5, 10, 15 y 20 min), para malation (10, 20, 30 y 40 min.), para propoxur (10, 15, 20 y 25 min.) y para lambda-cyhalotrina (5, 10, 20 y 30 min) que ocasionaran entre 2 y 98% de mortalidad de una manera similar a la empleada para determinar las concentraciones letales, con la diferencia que se utiliza el tiempo como medida de dosificación.

RESULTADOS

Concentraciones letales cincuenta y noventa y cinco (CL50 y CL95)

Los valores de las concentraciones letales 50 y 95 e intervalos de confianza calculados con *Lu. youngi* de la localidad Las Calderas Trujillo-Venezuela frente a cuatro insecticidas se muestran en la Tabla 1,

observándose que la CL95 hallada para el insecticida piretroide lambdacyhalotrina fue aproximadamente 10 veces menor que la obtenida con propoxur, 400 veces menor que para malation y 1000 veces menor para DDT.

Las pendientes de las rectas de regresión concentración-mortalidad arrojaron valores que oscilaron entre 2.7 ± 0.23 y 7.9 ± 0.62 , encontrándose el máximo valor ,7.9, con el uso del insecticida propoxur indicando que *Lu. youngi* de las Calderas se comporta en forma homogénea frente a este carbamato, es decir, la mayoría de los insectos de la población responden en forma similar a las diferentes concentraciones del compuesto tóxico y en forma heterogénea frente al resto de los insecticidas evaluados.

Al calcular las dosis diagnosticas, definidas como el doble de la concentración que mata el 99,99% de la población de insectos expuestas (OMS, 1970), obtuvimos valores de 3.54% para DDT, 1.94% para malation, 0.0026% para propoxur y 0.0056% para lambdacyhalotrina.

Tiempos letales cincuenta y noventa y cinco (TL50 y TL95)

La Tabla 2 muestra los valores de TL50 y TL95 e intervalos de confianza hallados mediante análisis Probit tras la realización de bioensayos de susceptibilidad a DDT, malation, propoxur y lambdacyhalotrina con *Lu. youngi*, notándose que es necesario un mayor tiempo de exposición al malation para ocasionar 95% de mortalidad en esta especie de insectos en comparación con los otros insecticidas evaluados.

Con respecto a las pendientes de las rectas de regresión tiempo-mortalidad, encontramos valores bastante similares que oscilaron desde valores de 3.4 ± 0.25 hasta 4.9 ± 0.40 , pero al igual que en las rectas concentración-mortalidad, el valor mas alto fue el hallado con el insecticida propoxur, demostrando el comportamiento homogéneo de los miembros de esa población frente a este compuesto.

DISCUSIÓN

Los insecticidas químicos para el control de flebotominos han sido aplicados en diferentes partes del mundo.

El uso del DDT en Perú por Hertig & Fairchild (1948) y Herrer (1956) lograron el control de poblaciones de *Lutzomyia verrucarrum*, al igual que en Río de Janeiro, Brasil a *Lutzomyia intermedia* mediante la aplicación

domiciliaria periódica de este insecticida (Nery.Guimaraes & Bustamante, 1954) y *Lutzomyia umbratilis* (Ready et al, 1985).

En el Mediterráneo, Irán y en la India, el uso continuado de DDT ha conducido a la aparición de tolerancia o resistencia a este insecticida en algunas poblaciones de *Phlebotomus* spp, así tenemos a *Ph. papatasi* (Seyedi-Rashti & Nadin, 1975; Rahman et al, 1982) y *Ph. argentipes* (Mukhopadhyay et al, 1992), aunque en otras zonas que no han sido sometidas a presión con este organoclorado aun hay poblaciones susceptibles (Mukhopadhyay et al, 1992; Kaul et al, 1994).

Con el transcurrir de los años se han venido aplicando medidas de control contra flebotominos usando piretroides sintéticos, así tenemos: deltametrina contra *Lu. longipalpis* en Brasil (Falcao et al, 1988), contra *Ph. chinensis* en China (Xiong & Jing, 1987), contra *Lu. longipalpis* en Bolivia (Le Pont et al, 1989), cyflutrina contra *Lu. panamensis* y *Lu. ovallesi* en Guatemala (Perich et al, 1995) y deltametrina y lambdacyhalotrina contra *Lu. longipalpis* en Venezuela (Mazzarri et al, 1997).

En nuestra área endémica para leishmaniasis cutánea localizada, en el estado Trujillo, en el extremo de los Andes Venezolanos, hemos realizado ensayos con hembras silvestres de *Lutzomyia youngi* para determinar las concentraciones letales 50 y 95, dosis diagnósticas y tiempos letales 50 y 95 con los insecticidas DDT, malation, propoxur y lambdacyhalotrina.

Lu. youngi fue más sensible al insecticida lambdacyhalotrina, en comparación con DDT, malation y propoxur también evaluados, similares resultados fueron encontrados por Scorza et al (1995) al estudiar la susceptibilidad de *Lu. youngi* en la misma localidad de las Calderas. La CL95 para lambdacyhalotrina fue de 0.0015% aproximadamente 10 veces menor que la calculada para propoxur, 400 veces también menor para malation y 1000 veces menor que para DDT, pudiéndose deber estas diferencias al menor uso de lambdacyhalotrina en la zona estudiada, en contraste con el uso masivo de DDT en años anteriores (1954-1964) en la campaña antimalarica y el uso en la agricultura de organofosforados.

Existen en Venezuela otras especies flebotominas que tienen un comportamiento similar frente a los piretroides, tal es el caso de *Lu. longipalpis* quien es altamente sensible a deltametrina y lambdacyhalotrina (Mazzarri et al, 1997).

Para *Lu. youngi* se conoce información sobre CL95 para DDT y lindano de 0,25g/m²; para dieldrin 2,5

g/m²; para malation 0,5 g/m²; para lambdacyhalotrina 0,011g/m² y una CL50 de 2 g/m² para propoxur (Scorza et al, 1989,1995). Comparando estos resultados con los obtenidos en el presente estudio, solo concuerdan los realizados con DDT. Con malation, propoxur y lambdacyhalotrina la diferencias fueron de 2, 20 y 1000 veces respectivamente.

En cuanto a los valores de TL95 fueron de 13 min, 38 min, 37 min y 33 min con los insecticidas DDT, malation, propoxur y lambdacyhalotrina respectivamente, encontrándose una marcada diferencia con los hallados por Scorza et al (1995), cuyos valores correspondieron a 50 min (DDT), 80 min (malation), 120 min (propoxur) y 60 min (lambdacyhalotrina), probablemente debido a la metodología utilizada para la determinación de estos

valores; Scorza et al (1995), utilizaron concentraciones de 1% para DDT, malation y propoxur y 0.1% para lambdacyhalotrina, mientras que en este estudio se emplearon las concentraciones equivalentes a las dosis diagnósticas calculadas, excepto con el piretroide sintético cuya concentración usada fue 0.0025% debido a la hipersensibilidad de la especie flebotomina a este insecticida.

Finalmente basados en los resultados obtenidos, podemos sugerir que el uso de bajas concentraciones de ingrediente activo de lambdacyhalotrina, en formulaciones, sea efectiva para el control de *Lutzomyia youngi* en áreas de transmisión de leishmaniasis cutánea en Trujillo, Venezuela.

Insecticidas	CL 50 (%)	Intervalos de Confianza	CL 95 (%)	Intervalos de Confianza	Pendiente (b) ± DS
DDT	0,29	0,25 - 0,33	1,04	0,89 - 1,28	2,9 ± 0,27
Malation	0,23	0,20 - 0,26	0,64	0,56 - 0,76	3,7 ± 0,34
Propoxur	0,0068	0,0066 - 0,0073	0,011	0,0099 - 0,0115	7,9 ± 0,62
Lambdacyhalotrina	0,0004	0,0003 - 0,0004	0,0015	0,0013 - 0,0020	2,7 ± 0,23

DS: Desviación Standard

IC: Intervalo de Confianza p= 0,05

Tabla 1. Concentraciones letales 50 y 95 con intervalos de confianza y pendientes (b) ± DS para hembras silvestres de *Lutzomyia youngi*, capturadas en Calderas, Trujillo- Venezuela, obtenidas en bioensayos de susceptibilidad a los Insecticidas: DDT, malation, propoxur y lambdacyhalotrina.

Insecticidas	TL 50 (min)	Intervalos de Confianza	TL 95 (min)	Intervalos de Confianza	Pendiente (b) ± DS
DDT	6,10	5,57 - 6,59	13,17	11,91 - 14,97	4,9 ± 0,40
Malation	15,58	14,28 - 16,83	38,21	34,09 - 44,25	4,2 ± 0,33
Propoxur	18,3	17,3 - 19,5	36,7	32,2 - 44,3	5,4 ± 0,54
Lambdacyhalotrina	11,08	10,02 - 12,19	33,38	28,5 - 40,9	3,4 ± 0,27

DS: Desviación Standard

IC: Intervalo de Confianza p= 0,05

Tabla 2. Tiempos letales 50 y 95 con intervalos de confianza y pendientes (b) ± DS, para hembras de *Lutzomyia youngi*, capturadas en Calderas Trujillo – Venezuela, obtenidas en bioensayos de susceptibilidad a los insecticidas: DDT, malation, propoxur y lambdacyhalotrina.

REFERENCIAS

- Falcao, A. R., Pinto, C. T., Gontijo, C. M. F. (1988). Susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* to deltamethrin. Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, **83**: 395-396.
- Finney, D. (1971). Probit Análisis. The Syndics of the Cambridge University. Press 400.
- Herrer, A. (1956). Repercusion del uso casero de los insecticidas en la incidencia de leishmaniasis tegumentaria del perro. Rev. Med. Experimental, Lima, **X**: 139-146.
- Hertig, M., Fairchild, G. B. (1948). The control of *Phlebotomus* in Peru with DDT. Amer. J. Trop. Med., **28**: 207–230.
- Kaul, S. M., Sharma, R. S., Dey, K. P., Rai, R. N., Verghese, T. (1994). Impact of DDT indoor residual spraying on *Phlebotomus argentipes* in a Kala-azar endemic village in eastern Uttar Pradesh. Bull. OMS., **72**: 68–81.
- Le Pont F., Mariscal, P. J., Desjeux, P., Richard, A., Mouchet, J. (1989). Impact of deltamethrin spraying in a leishmaniasis focus in Bolivia. Ann. Soc. Belg. Med. Trop., **69**:223–232.
- Mazzarri, M., Feliciangeli, D., Maroli, M. (1998). Response of leishmaniasis vectors to various pesticides in Venezuela. Journal of the American Mosquito Control Association (JAMCA). **15**: 335 - 341.
- Mukhopadhyay, A. K., Saxena, N. B. L., Narasimham, M. V. V. L. (1992). Susceptibility status of *Phlebotomus argentipes* to DDT in some Kala-azar endemic districts of Bihar, India. Bull. OMS.WHO/CTD/VBC/92.995
- Nery- Guimaraes, Bustamante, F. (1952). A aplicaçao domiciliar de DDT como base da profilaxia das leishmanioses. Estudo de um foco de leishmaniose mucocutanea cinco anos depois da asperasao periódica com aquele insecticida. Rev. Bras. Malariol. Doencas. Trop., **6**:127–130.
- Perich, M.J., Hoch, A. L., Rizzio, N., Rowton, E. D. (1995). Insecticide barrier spraying for the control of sandfly vectors of cutaneous leishmaniasis in rural Guatemala. Am. J. Trop. Med. Hyg., **52**: 485–488.
- Rahman, S.J., Wattazl, B. L., Mathur, K. K., Joshi, G. C., Kumar, K. (1982). Susceptibility of laboratory reared strain of *Phlebotomus papatasi* (Sapoli) to organochlorine insecticides. J. Commun. Dis.,**14**: 122–124.
- Raymond, M. (1985). Presentation d' programme d' analyse log-probit pour microordinateur cahiers. O. R. S. T. O. M Ser. Ent. Med. Parasitol, **23**: 117–121.
- Ready, P. D., Arias, J. R., Freitas, R. A. (1985). A pilot study to control *Lutzomyia umbratilis* (Diptera: Psychodidae) the major vector of *Leishmania braziliensis guyanensis*, in periurban rainforest of Manaus, Amazonas state, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. **80**: 27–36.
- Rojas, E., Alvarez, L. (1998). Sandflies Control: A Practical device for testing insecticides. Acta Parasitológica Portuguesa **5** : 55 .
- Scorza, J. V., Añez, N. (1984). Transmision experimental de *Leishmania garnhami* al hamsters por la picadura de *Lutzomyia townsendi*. Rev. Cub. Med. Trop., **36**: 139–145.
- Scorza, J. V., Rojas, E. (1989). DDT acuosa contra *Lutzomyia youngi* en cafetales del Estado Trujillo, Venezuela. Bol. Dir. Mal. y San. Amb. Vol, XXIX (1-4): 42-46.
- Scorza, J. V., Rosario, C., Scorza-D., J. V., Rojas, E. (1995). Susceptibilidad de hembras silvestres de *Lutzomyia youngi* de Trujillo, Venezuela, a insecticidas sintéticos. Bol. Dir. Mal. y San. Amb. XXXV, Supl. **1**: 311- 326 pp.
- Seyedi-Rashti, M. A., Nadim, A. (1975). Reestablishment of cutaneous leishmaniasis after cessation of antimalaria spraying. Trop. Geogr. Med., **27**: 79–82 .
- Shannon, R. C.(1939). Methods for collecting and feeding mosquitoes in jungle yellow fever studies. Amer. J. Trop. Med. Hyg. **19**: 131–148.
- World Health Organization.. (1970). Insecticides. 17. Insecticides. OMS. Techn. Exp. Comm. Tech. Rep. 443.
- World Health Organization.. (1976). Insecticides. 22nd. Insecticides. OMS. Techn. Exp. Comm. Tech. Rep. 585.
- World Health Organization. (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult

mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides diagnostic test. OMS/VCB/8 – 806.

World Health Organization. (1990). Vector resistance to pesticide. Fifteenth Report of the OMS Expert Committee on Vector Biology and Control. OMS. Techn. Report Series. 818.

Leslie Alvarez Gonzalez¹, José Vicente Scorza¹, Darjaniva Molina de Fernandez², Elina Rojas¹, y Juan Bisset.³

1.- Centro de Investigaciones Parasitológicas “J. W. Torrealba”, Núcleo Universitario “Rafael Rangel” Universidad de los Andes. Apartado Postal 100, Av. Caracas, Sector Carmona, Trujillo Estado Trujillo, Venezuela.

2.- Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldon” Av: Las Delicias, Apartado Postal 2101, Maracay, Estado Aragua, Venezuela.

3.- Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ E/Autopista Nacional y Carretera Central (N/251) Lisa, Ciudad La Habana, Cuba.