

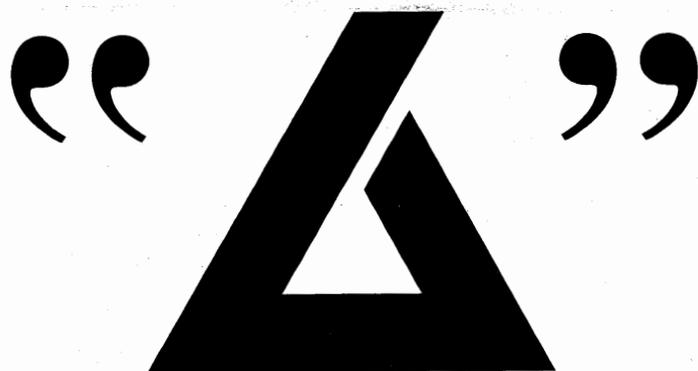
ISSN 0327-9286

*Acta*  
*Toxicológica*  
*Argentina*

Publicación oficial de la Asociación Toxicológica Argentina



Volumen 2  
Nº 1 y 2  
Julio - Diciembre 1994



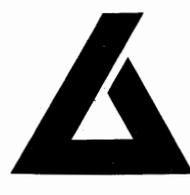
*L é a s e*

# "INVESTIGACION"

Un medicamento exige un esfuerzo constante de innovación, reflejo del propio desarrollo farmacológico y del perfeccionamiento de los procesos tecnológicos empleados en su elaboración.

En el mundo científico lo único permanente es el cambio.

Laboratorios Bagó, 59 años de innovación  
cientificoterapéutica.

 **Bagó**

ETICA AL SERVICIO DE LA SALUD.

## **Asociación Toxicológica Argentina**

### **Comisión Directiva**

#### **Presidente**

Nelson Albiano

#### **Vicepresidente**

María Inés Picollo de Villar

#### **Secretaria**

Mabel Foppiano

#### **Tesorera**

Adriana Piñeiro

#### **Vocales Titulares**

Noemí Verrengia Guerrero

Héctor Girolami

Elena Matos

#### **Vocales Suplentes**

María del Carmen Villarruel

Fernando Cardini

Yolanda Baza Atienza

#### **Tribunal de Honor**

Manuel A. Guatelli

Roberto Iarlori (†)

Enrique Tourón

Elisa K. de Kaczan (\*)

#### **Comité Científico**

Juan Manuel Berman

Héctor Godoy

Alberto Gurni

Otmaro Enrique Roses

Eduardo Zerba

#### **Organo de Fiscalización**

##### **Miembros Titulares**

María Rosa Llorens

Adriana Ridolfi

##### **Miembro Suplente**

Edda Villaamil

## **Acta Toxicológica Argentina**

### **Director Editor**

Otmaro Enrique Roses

### **Comité de Redacción**

Patricia M. Castané,

Clara M. López,

Alfredo Salibián,

Mirta M. Topalián

### **Comité Editorial 1994**

Juan M. Berman

E. de Camargo Fonseca Moraes (*Brasil*)

José A. Castro

Antonio Colombi (*Italia*)

Heraldo Donnewald

Ricardo Duffard

Ana S. Fulginiti

Veniero Gambaro (*Italia*)

Carlos A. García

Juan C. García Fernández

Estela Gimenez

Héctor Godoy

Irma Rosas Pérez (*México*)

Carlos Reale

Félix G. Reyes (*Brasil*)

Marta Salseduc

Edward Smith (*Naciones Unidas*)

Roberto Tapia Zúñiga (*Chile*)

Enrique Tourón

Norma Vallejo

Gastón Vettorazzi (*España*)

Edgardo J. Wood

Eduardo Zerba

(†) Fallecido durante el ejercicio de sus funciones.

(\*) Desde setiembre de 1994.

**INDICE**  
(CONTENTS)

	Pág.
Editorial .....	3
Toxicidad Aguda de la Aflatoxina B1 en embriones de Medaka ( <i>Oryzias Latipes</i> ) ( <i>Acute Toxicity of Aflatoxin B1 in Medaka (Oryzias Latipes)</i> ) Toledo, María Cecilia Figueiredo .....	4 - 5
Impacto del Zn sobre microalgas dulceacuícolas del Río Reconquista (Buenos Aires) - Bioensayo multiespecífico de invierno. Topalián, M.L. - Loez, C.R. ....	6 - 9
IX Congreso y XIV Jornadas de Toxicología Resumen de las Comunicaciones presentadas ( <i>IX Congress and XIV Interdisciplinary meeting of Toxicology</i> <i>Abstracts of posters presented</i> ) .....	10 - 28
Taller sobre Evaluación de Efecto Insecticida sobre Triatominos ( <i>Workshop on the Insecticide Effect Evaluation in Triatominos</i> ) .....	29 - 58
Resumen del Criterio de Salud Ambiental OMS N° 167 Acetaldehído ( <i>Summary of Environmental Health Criteria WHO N° 167</i> <i>Acetaldehyde</i> ).....	59 - 61
Sistema Nacional de Farmacovigilancia ( <i>National System of Post Marketing Surveillance</i> ) .....	62 - 63
Indices del Volumen 1 ( <i>Volume 1 Index</i> ) .....	64
Acta Toxicológica Argentina - Instrucciones para los autores de contribuciones para la revista. ( <i>Instructions to the contributors</i> ) .....	65 - 66 - 67

## EDITORIAL

En Buenos Aires, del 1 al 4 de noviembre de 1994, se desarrolló el "Taller sobre la Evaluación de Efecto Insecticida sobre Triatominos". Este evento internacional fue organizado por el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN) (CI-TEFA-CONICET) y el Tropical Disease Research Programme de la Organización Mundial de la Salud, Institución que financió el mismo.

Como resultado de este Taller, que convocó principalmente especialistas latinoamericanos, se produjeron revisiones de la situación actual de distribución de vectores de la Enfermedad de Chagas y su control químico, como así también protocolos que estandarizan la medición del efecto insecticida y fenómenos de resistencia en los insectos triatominos que transmiten la endemia chagásica.

Sin duda la situación del uso de insecticidas para el control de vectores de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica, cambiará a partir de la difusión de los resultados de este Taller. En efecto, Latinoamérica tiene ahora, herramientas técnicas generadas por sus propios especialistas con el respaldo del Tropical Disease Research Programme de la OMS, que le permitirán seleccionar los mejores insecticidas, incrementando la efectividad de las campañas de desinsectación y reduciendo los riesgos de aplicación.

Acta Toxicológica Argentina, al publicar en este número lo presentado y producido en este Taller, se convierte en el vocero internacional que distribuirá por el Continente Latinoamericano no sólo la información actualizada de la situación entomológica y entomotoxicológica de la Enfermedad de Chagas, sino también los nuevos protocolos de evaluación de efecto insecticida sobre sus vectores. Comienza así una nueva etapa en la que nuestros países hablarán un idioma técnico común cuando intercambien sus experiencias de uso de insecticidas para el Control de la Enfermedad de Chagas.

E.N.Z.

## Acute Toxicity of Aflatoxin B1 in Medaka (*Oryzias latipes*) Embryos

María Cecilia Figueiredo Toledo

(1) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, Brazil

**ABSTRACT:** Toledo, M.C.F. - **Acute Toxicity of Aflatoxin B1 in Medaka (*Oryzias latipes*) Embryos.** The usefulness of small aquarium fish assaying toxicity and carcinogenicity of several chemicals has been stressed. In this study we evaluated the toxicity of AFB1 in medaka (*Oryzias latipes*) embryos. Based on preliminary studies, we chose the doses of exposure in the range of 0-32 mg/L of aflatoxin B1 (AFB1) in ethanolic solution. Twentyfour embryos, 6 days after fertilization, were exposed to each concentration of AFB1 during 196 hours in a incubator at 25±1°C. The embryos were observed daily under microscope and the number of dead eggs recorded. No acute toxicity of AFB1 was observed at concentrations of 1, 2, 4, 8, 16 and 32 mg/L during a period of 48 hr. The concentration mortality data generated during the test were analyzed and the time dependent LC-50 value obtained by a graphycal interpolation method.

**KEY WORDS:** *Oryzias latipes*; medaka; Aflatoxin B1.

**RESUMEN:** Toledo, M.C.F. - **Toxicidad Aguda de la Aflatoxina B1 en Embriones de Medaka (*Oryzias latipes*).** *Acta Toxicológica Argentina* (1994), 2 (1 y 2): 4 - 5.

Actualmente se ha dado mucha importancia al uso de pequeños peces de acuario para ensayos de evaluación de la toxicidad y carcinogénesis de varios agentes químicos. En este estudio, fue evaluada la toxicidad de AFB1 en embriones de "medaka" (*Oryzias latipes*) Basados en estudios preliminares, seleccionamos las dosis de exposición en el rango de 0 —32 mg/L de AFB1 en solución alcohólica. Veinticuatro embriones, 6 después de fertilizados, fueron expuestos a cada concentración de AFB1, durante 196 horas en una incubadora a 25°C. Los embriones fueron observados diariamente al microscopio y el número de huevos muertos fue registrado. No fue observada toxicidad aguda de AFB1 en concentraciones de 1, 2, 4, 8, 16 y 32 mg/L, durante un período de 48 hs. Los datos de concentración-mortalidad producidos durante el ensayo fueron analizados y se obtuvo el valor de LC-50, dependiente del tiempo, mediante el método de interpolación gráfica.

**PALABRAS CLAVES:** *Oryzias latipes*, medaka, aflatoxina B1.

### INTRODUCTION

Induction of tumors by chemical carcinogens in fish is well established<sup>(1, 2, 3)</sup> and the usefulness of small aquarium fish for assaying toxicity and carcinogenicity of several chemicals has been stressed<sup>(4)</sup>. Stanton<sup>(5)</sup> first reported the induction of liver neoplasms in zebra danio (*Brachydanio rerio*) when N-nitrosodiethylamine was added to water. In the following years, several chemical carcinogens including nitrosamines, mycotoxins, polycyclic hydrocarbons and plant toxins were tested in small aquarium fish<sup>(6)</sup>. The possibility of using fish embryos as a carcinogen model was introduced by Wales et al.<sup>(7)</sup>, Klauning et al.<sup>(8)</sup> reported on the production of liver tumor in adult medaka following continuous exposure to diethyl nitrosamine during embryogenesis. This exposure technique offers some advantages over the usual dietary route of exposure, including a more uniform contact with the carcinogen, adequacy of single exposure, minimal equipment and space, and low cost<sup>(9)</sup>.

In this study, we report the toxicity of AFB1 in medaka embryos. The medaka was shown to possess the capacity to rapidly activate AFB1 in vivo at 25°C to intermediates that bind to DNA (10). The present study should, therefore, be useful in providing preliminary data on the appropriateness of medaka embryos as an exposure model for AFB1 carcinogenesis studies.

### MATERIALS AND METHODS

Adult female and male medakas were purchased from Carolina Biological Supply Co., Burlington, Nc. The fish were placed in dechlorinated water in 10 gallon glass aquarium supplied with aeration and controlled temperature (25±1°C). The aquarium was illuminated with fluorescent light and the breeding of fish was controlled by adjustment

of the photoperiod to 16 hr light/8 hr dark. Fish were fed on dry food (Tetrafood, Tetra Werke, Melle, West Germany) twice daily and on freshly hatched brine shrimp every other day during breeding. After 10 days of adjustment, the females started laying eggs approximately 3 hr after the light come on each day. An average of 120 eggs could be obtained daily from 12 medaka. After fertilization by males, the attached clusters of eggs were removed from the females and placed in small petri dishes containing sterile embryo rearing solution to which 0.001% methylene blue was added to prevent fungal growth<sup>(8)</sup>. The petri dishes with the embryos (1 eggs/40 ml solution) were placed in an incubator at (25±1°C) until exposure or hatching. Based on preliminary studies, we chose the doses of exposures in the range of 0-32 mg/L of AFB1 in 0-4% ethanolic solution. Twenty-four embryos, 6 days after fertilization, were exposed to each concentration of AFB1 during 168 hr. We also exposed 24 eggs to solutions of ethanol in H2O in concentrations equivalent to those found in the AFB1 solutions. These systems served as a control. The embryos were placed in a solid polypropylene rack, 80 holes, containing 3 ml AFB1 solution/hole. Two eggs were placed in each hole. The rack was covered to avoid evaporation and placed in an incubator at 25±1°C. The embryos were observed daily under microscope and the number of dead eggs recorded.

### RESULTS AND DISCUSSION

Preliminary studies showed that medaka embryos are sensitive to ethanol toxicity. When the embryos were exposed to various concentrations of ethanol, 100% mortality was recorded at 24 hr for concentrations of 8% and up. At 4% EtOH, 50% mortality was observed at 24 hr. No mortality occurred in the control (0% EtOH) during the observa-

tion period. Based on these preliminary results, a stock AFB1 solution of 64 mg/L in 6.8% EtOH was prepared and the exposure solutions made by diluting the more concentrated solutions. The AFB1 concentration of the stock solution was the highest that could be prepared without precipitation of AFB1. Table 1 shows the data on the toxicity of AFB1 and ethanol to medaka embryos. No acute toxicity of AFB1 was observed at concentrations of 1, 2, 4, 8, 16 and 32 mg/L during a period of 48 hr. At 32 mg/L mortality first occurred at 72 hr while for the control embryos, exposed to the corresponding 3.4% ethanol concentration, lethality was observed following a 120 hr exposure. This result suggest that ethanol didn't interfere in the toxicity of AFB1, since 100% mortality was observed before 120 hr at 32 mg/L AFB1.

**Table 1**  
**Test Concentrations and Mortality**  
**of Medaka Embryos exposed to AFB1<sup>(a)</sup>**

AFB1 (mg/L)	EtOH (%)	Mortality (%) (b)								Survival at hatching (c)
		24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr	144 hr	168 hr	(%)	
0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	100
1	0.1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	50
2	0.2	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	30 (0)	40
4	0.4	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (0)	20 (0)	50 (0)	0 (0)	40
9	0.8	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (0)	40 (0)	80 (0)	0 (0)	30
16	1.7	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20 (0)	30 (0)	90 (0)	100 (0)	0 (0)	—
32	3.4	0 (0)	0 (0)	40 (0)	100 (0)	100 (10)	100 (20)	100 (40)	0 (0)	—

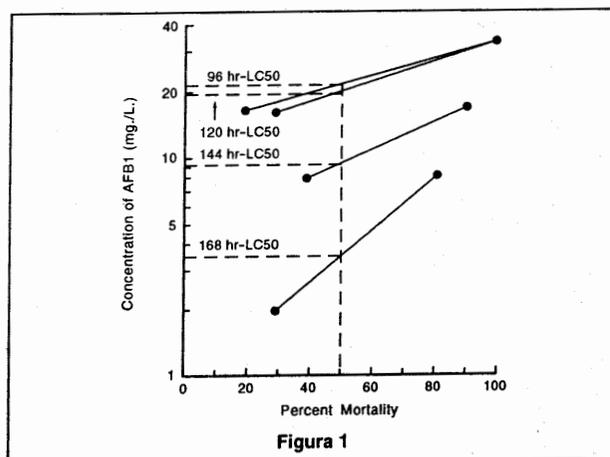
(a) n = 24, 6 days after fertilization

(b) = values in parenthesis refer to ethanol toxicity in controls

(c) = 168 hr exposure

The concentration-mortality data generated during the test were analyzed and the time-dependent LC-50 value obtained by a graphical interpolation method<sup>(11)</sup>. According to this method, the LC-50 value can be interpolated from the percentages of test organisms dying in two or more concentrations in one less than 50% mortality and in another more than 50% mortality.

Mortality data are plotted on semilogarithmic coordinate paper with concentration of AFB1 on the log scale and percent mortality on the arithmetic scale (Figure 1).



**Figure 1**

Following this approach, LC-50 values as 20.2, 19.1, 9.2 and 3.4 mg/L were estimated for the 96-, 120-, 144- and 168 hr exposure.

The hatchability of the remaining exposed embryo-s was 50, 40 and 30% for AFB1 concentrations of 1, 2, 4, and 8 mg/L, respectively. Survival at hatching for the control was 100%.

According to this data, we can presume that although the embryos were resistant to the exposure, they were very weak and couldn't survive the stress of hatching. The data obtained in this stud indicated that for a period of 24 hr, medaka embryos are resistant to AFB1 acute toxicity within a wide range of concentration. Since medaka possess enzymatic systems similar to rainbow trout for biotransformation of AFB1<sup>(10)</sup>, and considering that a 30 min exposure of trout embryos to 0.5 mg/L AFB1 in 0.5% ethanol has routinely resulted in 65-70% of the exposed fish developing at least one liver carcinoma within 12 months after exposure<sup>(12)</sup>, it appears that medaka embryo is a promising alternative model for carcinogenesis studies of AFB1.

## ACKNOWLEDGEMENT

We should like to thank FAPESP for the scholarship for post-doctoral training at Oregon State University, and to Jerry Hendricks and George Bailey for helpful advice and assistance.

## REFERENCES

- Couch, J.C. (1985). Effects of carcinogenic agents on aquatic animals an environmental and experimental overview. *Environ Carcinogen. Rev.* 3, 63—105.
- Krayhill, R. F. (1976). Distribution of chemical carcinogens in aquatic environments. *Progress in Experimental Tumor Research.* 20, 3—34.
- Pliss, G.B.; Khudoley, V.V. (1975). Tumor induction by carcinogenic agents in aquarium fish. *J. Natl. Cancer Inst.* 55, 129—136.
- National Cancer Institute (1984). Monograph N° 65. Use of Small Fish Species in Carcinogenicity Testing, edited by Hoover, K.L., U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., 409 pp.
- Stanton, M.F. (1965). Diethylnitrosamine—induced hepatic degeneration and neoplasia in the aquarium fish, *Brachydanio rerio*. *J. Natl. Cancer Inst.* 37, 117—130.
- Matsushima, T.; Sugimura, T. (1976). Experimental Carcinogenesis in small aquarium fishes. *Progress in Experimental Tumor Research.* 20, 367—379.
- Wales, J.H.; Sinnhuber, R.O.; Hendricks, J.D.; Nixon, J.E. and Eisselle, T.A. (1978). Aflatoxin B1 induction of hepatocellular carcinoma in the embryos of rainbow trout. (*Salmo gairdneri*). *J. Natl. Cancer Inst.* 60, 1133—1139.
- Klauning, J. E.; Barut, B.A.; Coldblatt, J. (1984). Preliminary Studies on the usefulness of medaka, *Orizias latipes*, embryos in carcinogenicity testing. *Natl. Cancer Inst. Monograph.* 65, 155—161.
- Hendricks, J. D.; Meyers, T.R.; Casteel, J.L.; Nixon, J.E.; Loveland, P.M. and Bailey, G.S. (1984). Rainbow trout embryos: Advantages and limitations for carcinogenesis research. *Natl. Cancer Inst. Monograph.* 65, 129—137.
- Toledo, M.C.F.; Hendricks, J.D.; Loveland, P.; Wilcox, J. and Bailey, G. (1987). Metabolism and DNA—binding in vivo of aflatoxin B1 in medaka. *Comp. Biochem. Physiol.* 870, 129—137.
- APHA, AWWA, WPCF. (1971). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Part 231— Toxicity to fish. 13th ed., Washington DC, pp.562—577.
- Hendricks, J.D. (1981). The use of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in carcinogen bioassay with special emphasis on embrionic exposure. In: *Phyletic Approaches to Cancer.* C.J. Dawe et al (Eds), Japan Sei Soc. Press, Tokio, pp 227—242.

# Impacto del Zn sobre microalgas dulceacuícolas del Río Reconquista (Buenos Aires)

## Bioensayo multispecífico de invierno

Topalián, M.L. <sup>(1)</sup> - Loez, C.R. <sup>(1-2)</sup>

<sup>(1)</sup> Programa de Ecofisiología Aplicada, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, CC 221, (6700)-Luján, Argentina

<sup>(2)</sup> Laboratorio de Limnología, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina

**RESUMEN:** Se diseñó un bioensayo multispecífico estático de laboratorio a fin de evaluar la respuesta de una comunidad algal de invierno a diferentes concentraciones de zinc (2,5; 10; 20 y 45 mg. l-1). Su efecto fue concentración-dependiente: estimulación del crecimiento hasta 10 mg. l-1 y signos de toxicidad a 20-45 mg. l-1. Se registraron especies tolerantes en las condiciones del bioensayo: *Chlorella vulgaris*, *Nitzschia palea*, *Synedra ulna* var. *amphirrynchus* y *Gomphonema parvulum*.

**PALABRAS CLAVES:** zinc, algas, bioensayo multispecífico.

**ABSTRACT:** Topalián, M.L.; Loez, C.R. **Impact of Zinc on freshwater microalgae of the Reconquista river (Buenos Aires). Multispecific bioassay of winter.** Acta Toxicológica Argentina (1994), 2 (1 y 2): 6 - 9. A static multispecific laboratory bioassay was designed to study the algal response to different concentrations of Zn (2.5, 10, 20 and 45 mg. l-1). The effect was concentration dependent: growth stimulation up to 10 mg. l-1 and inhibition more than 20 mg. l-1. It was shown the existence of tolerant species: *Chlorella vulgaris*, *Nitzschia palea*, *Synedra ulna* var. *amphirrhynchus* and *Gomphonema parvulum*.

**KEY WORDS:** zinc, algae, multispecific bioassay.

## INTRODUCCION

Si bien el zinc es un microelemento esencial para la flora acuática, altas concentraciones pueden tener sobre ella un efecto adverso.

En particular, las algas han sido propuestas como indicadores de contaminación<sup>(1)</sup>, y en este contexto, los bioensayos pueden ayudar a predecir la presencia de tóxicos en el medio ambiente<sup>(2)</sup>.

El impacto del Zn sobre la estructura y la dinámica fitoplanctónica del río Reconquista (Buenos Aires) fue evaluado estacionalmente, y se estudió la existencia de asociaciones algales indicadoras de contaminación<sup>(3)</sup>. En este trabajo se presenta la respuesta al Zn de una comunidad algal de invierno cultivada en el laboratorio.

## MATERIALES Y METODOS

Se tomaron muestras del fitoplancton en invierno de 1989, en Cascallares, sitio cercano a las nacientes del río, sin implantación de industrias ni grandes centros poblados próximos al curso<sup>(4)</sup>.

En el campo, se midieron el pH, el oxígeno disuelto (O.D), la temperatura y la conductividad con sensores Luftman. Se filtraron 200 litros de agua sub-superficial con una red de 15 µm; el concentrado se transportó, en frío, al laboratorio (Tabla 1).

Los cultivos se realizaron en tubos de vidrio de 300 ml, tapados e interconectados por un sistema de aireación, donde se inocularon 50 ml del concentrado algal en 200 ml de medio nutriente Detmer modificado<sup>(5)</sup>. Se agregó solución madre de ZnCl<sub>2</sub> obteniéndose concentraciones finales totales aproximadas de 2,5 (Zn<sup>1</sup>); 10,0 (Zn<sup>2</sup>); 20,0 (Zn<sup>3</sup>) y 45,0 (Zn<sup>4</sup>) mg. l-1 de Zn<sup>2+</sup>. Se corrieron simultáneamente controles sin el metal. Los reactivos usados fueron de grado analítico. Previamente, se autoclavó durante 15 minutos a 120 °C

y 1,5 . 10<sup>5</sup> Pa los tubos y sistema de aireación, el medio de incubación y las soluciones.

Se incubaron dos series paralelas de tubos en una cámara Ghilon, con iluminación fluorescente (1600 lux) con fotoperíodo de 10/14 horas (día/noche) y temperatura de 15 ± 1 °C. Luego de dos días de adaptación, se muestreó alternativamente en cada serie cada 2-3 días. El ensayo duró 25 días.

El pH de los cultivos se midió con un pHmetro Orion y el Zn total y disuelto con un espectrofotómetro de absorción atómica IL<sup>(6)</sup>. Las muestras algales se fijaron con solución de lugol al 2-3%. La identificación taxonómica se realizó a un nivel específico e infraespecífico, con un microscopio óptico binocular Zeiss. Los recuentos (individuos-ml-1) se realizaron con un microscopio invertido Zeiss, con un error menor al 25%.

Se realizó un análisis numérico de clasificación en el cual fueron omitidos aquellos taxones registrados en menos del 30% de los muestreos. Se transformaron logarítmicamente las densidades específicas, se calculó el índice de "Manhattan Distance", y por análisis de agrupamiento mediante el procedimiento de ligamiento promedio no ponderado, se realizaron dendrogramas relacionando las especies fitoplanctónicas registradas en cada tratamiento.

Para evaluar el impacto del Zn en cada concentración, a lo largo del ensayo, se usó el índice:  $I.I. = D_{ij}/D_{i0j}$ , donde: D= densidad algal, i= nivel taxonómico, n= concentración de Zinc, 0= control y j= días de cultivo. Se calcularon también la diversidad específica<sup>(7)</sup>, y la equitatividad y la riqueza<sup>(8)</sup>.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presentan los datos de campo. Se registraron lluvias y crecidas en días anteriores al muestreo.

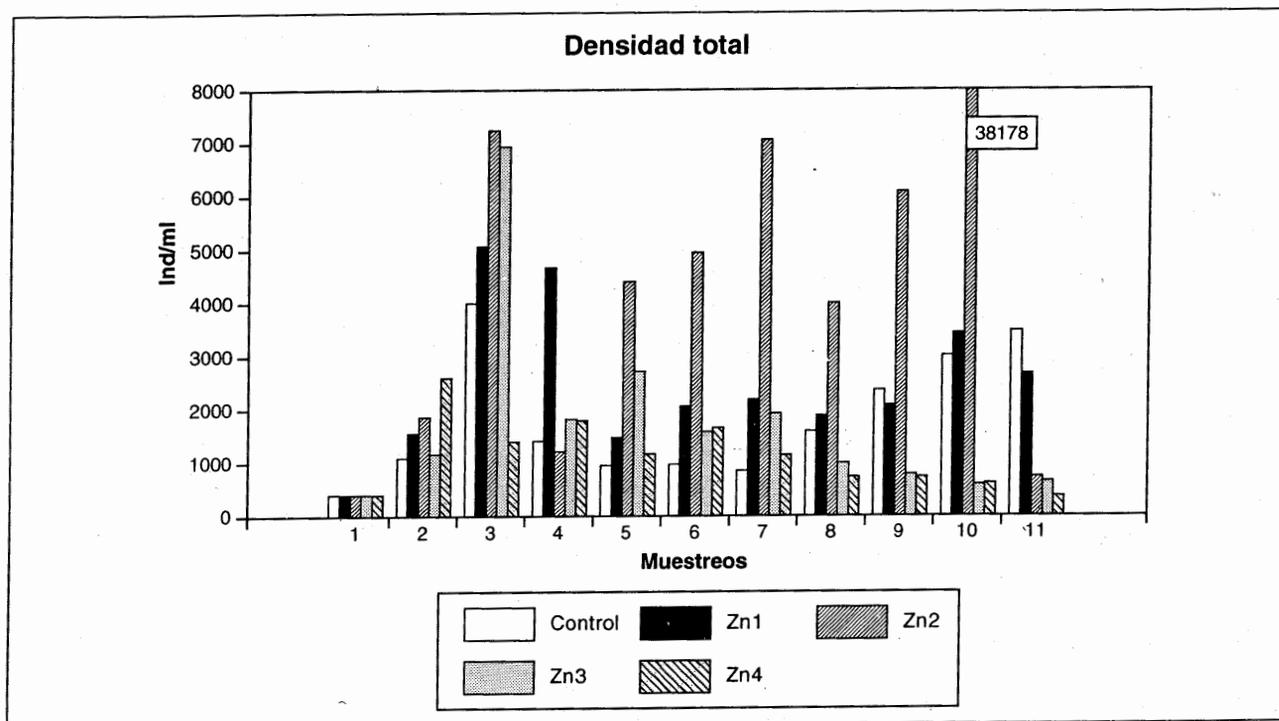
Este ensayo multispecífico fue realizado con fitoplancton nativo, bajo determinadas condiciones experimentales, por lo que nuestros resultados son inherentes al diseño empleado, tanto en sus medidas cuali como cuantitativas.

Tabla 1		
Parámetros abióticos y bióticos registrados en el agua del río		
pH	7.8	
Temperatura (°C)	9.2	
O.D (mg.l-1)	1.9	
Conductividad (µS.cm-1)	198	
[Zn] total (mg.l-1)	0.6	
[Zn] disuelto (mg.l-1)	0.3	
Clases algales:	Indiv. ml-1	%
Bacillariophyceae	339	83
Chlorophyceae	23	5
Cyanophyceae	8	34
Euglenophyceae	3	11
Dinophyceae + Xantophyceae	1	3

El pH y la concentración de Zn resultaron estables (Tabla 2), y la densidad algal total (Fig. 1) presentó:

Tabla 2			
Evolución del pH y del Zn (mg. l-1) a lo largo del bioensayo. Medias + ESM; entre paréntesis, número de muestras.			
	pH	Zinc total (mg. l-1)	Zinc disuelto
Control	6.6 + 0.2 (11)	0.7 + 0.2 (8)	0.3 + 0.1 (9)
Zn1	6.6 + 0.1 (11)	3.2 + 0.5 (10)	2.4 + 0.2 (9)
Zn2	3.3 + 0.3 (11)	9.5 + 1.1 (9)	9.0 + 0.3 (9)
Zn3	2.7 + 0.2 (11)	20.5 + 3.7 (10)	21.0 + 0.8 (10)
Zn4	2.4 + 0.1 (11)	44.5 + 2.1 (10)	42.4 + 1.9 (10)

Figura 1  
Evolución de la densidad algal total a lo largo del bioensayo



- una primera etapa de aumento, en la cual se alcanzaron los máximos. En Zn<sup>1</sup>, Zn<sup>2</sup> y Zn<sup>3</sup> éstos superaron al del control, mientras que en Zn<sup>4</sup> sólo se alcanzó el 70% del mismo.
- un segundo período de estabilización en valores algo superiores a los inoculados. En el control y en Zn<sup>1</sup> se observó al final del bioensayo una recuperación hasta valores similares a los máximos. En Zn<sup>2</sup> la densidad algal fue mucho mayor que la de otros tratamientos.

El efecto deletéreo global del Zn se observó hacia el final del ensayo en los tratamientos Zn<sup>3</sup> y Zn<sup>4</sup> (I.I < 1). En Zn<sup>2</sup> se estimuló el crecimiento a lo largo de todo el ensayo, y Zn<sup>1</sup> fue una concentración indiferente en este período (I.I = 1) (ver Fig. 2).

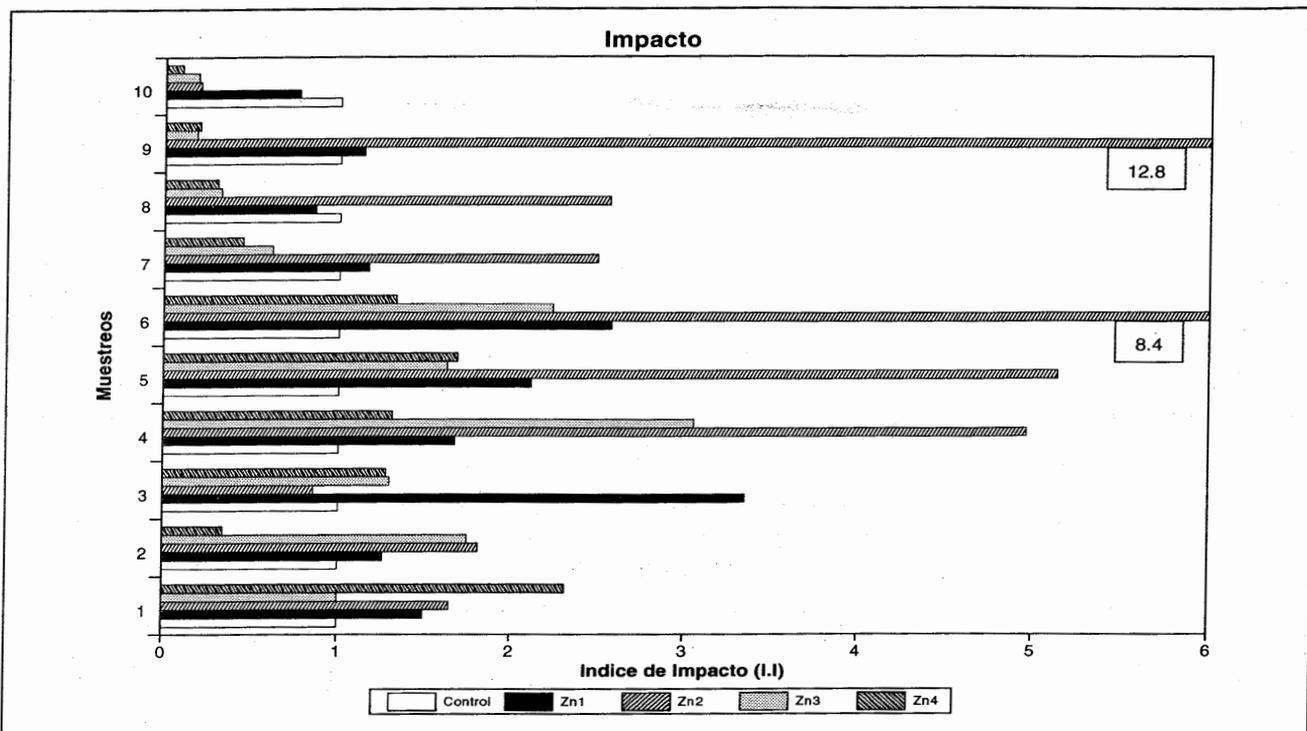
En general, las clases dominantes fueron *Bacillariophy-*

*ceae* y *Chlorophyceae*. En el inóculo las diatomeas resultaron el 83% del total. Dicha predominancia se invirtió a lo largo del bioensayo. En Zn<sup>2</sup> fue el caso más notorio; *Chlorophyceae* superó el 90%, mientras que en Zn<sup>4</sup> se observó una relación más pareja (*Chlorophyceae* 60%).

Dado que en los controles, las diatomeas mantuvieron su densidad casi inalterada, entendemos que su crecimiento no se vió afectado por una eventual limitación de nutrientes, sino por su mayor sensibilidad al metal y/o a la competencia con las *Chlorophyceae* quienes se adaptaron mejor a las condiciones de cultivo.

*Cyanophyceae*, *Euglenophyceae*, *Xantophyceae* y *Dinophyceae* no superaron en conjunto el 20% del total. Sus valores fueron menores a los del inóculo, siendo ésto más notorio en los tratamientos que en el control.

**Figura 2**  
Variación del índice de impacto (I.I) durante el bioensayo



Los valores de equitatividad, riqueza y diversidad específica se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3**  
Evolución de la riqueza, equitatividad y diversidad específica a lo largo del bioensayo\*

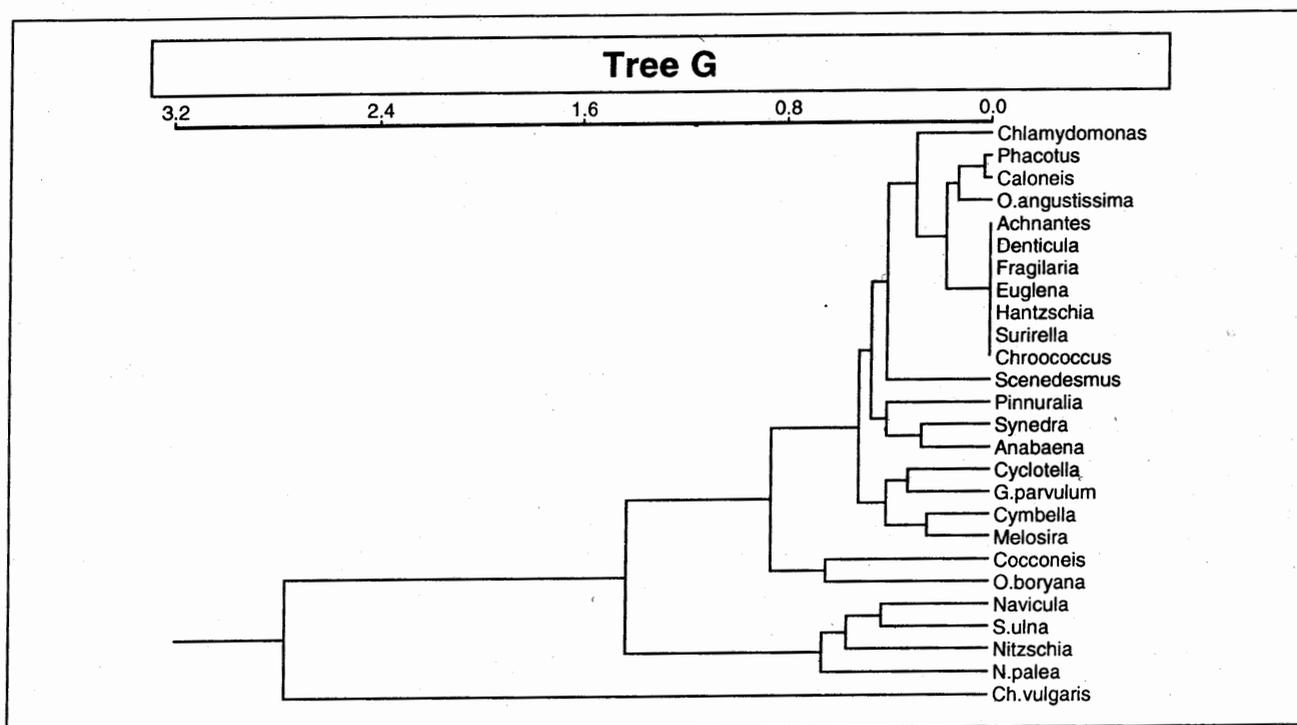
Muestreos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>RIQUEZA</b>											
Control	6.0	3.9	3.6	4.1	3.7	5.0	3.8	3.1	3.3	3.5	1.7
Zn1	6.0	3.1	3.2	0.8	3.2	3.6	3.6	3.1	3.3	5.1	4.1
Zn2	6.0	2.8	4.1	3.3	2.7	2.2	2.3	1.4	2.1	2.6	2.8
Zn3	6.0	5.9	2.6	3.4	2.6	2.8	2.8	2.7	2.4	2.2	2.5
Zn4	6.0	2.6	5.4	3.7	2.3	1.9	2.6	3.5	4.9	3.6	2.4
<b>EQUITATIVIDAD</b>											
Control	2.4	2.4	2.0	2.7	2.9	2.9	2.3	2.4	1.6	2.3	1.5
Zn1	2.4	2.2	2.0	0.7	2.0	3.6	1.6	1.6	1.7	1.7	1.9
Zn2	2.4	1.8	1.5	2.5	0.7	0.9	0.3	0.6	0.8	0.2	2.2
Zn3	2.4	2.3	1.0	1.9	1.9	1.3	1.2	1.9	1.9	1.7	2.0
Zn4	2.4	1.8	2.6	2.4	2.3	2.3	1.6	2.5	2.4	1.5	2.3
<b>DIVERSIDAD</b>											
Control	2.4	2.7	2.3	3.0	3.1	3.5	2.5	2.5	1.8	2.5	1.3
Zn1	2.4	2.2	2.2	0.4	2.1	2.0	1.8	1.6	1.9	2.2	2.3
Zn2	2.4	2.0	1.8	2.6	0.8	0.8	0.3	0.5	0.8	0.2	2.2
Zn3	2.4	2.9	1.0	2.1	1.9	1.3	1.2	1.8	1.7	1.5	1.8
Zn4	2.4	1.8	3.3	2.7	2.1	2.0	1.6	2.6	2.8	1.6	1.9

Se observa que el componente de equitatividad tuvo mayor peso que el de riqueza. En general, estos valores disminuyeron a lo largo del bioensayo, y en  $Zn^{2+}$  fueron aún más bajos debido al predominio de *Chlorella vulgaris*. Este taxón fue la especie netamente dominante en todos los tratamientos. En menor densidad, pero con igual frecuencia de aparición, las diatomeas *Nitzschia palea*, *Gomphonema parvulum* y *Synedra ulna* var. *amphyrrhinchus* fueron las especies subdominantes. Esto concuerda con lo registrado por Say et al. (1977)<sup>(9)</sup> quienes indican que la sensibilidad de las diatomeas es mayor que la de las clorofitas cocoides. Las restantes especies resultaron más sensibles al metal. A título de ejemplo se muestra el dendrograma de  $Zn^{2+}$  (ver Fig. 3).

Algunas especies de *Chlorella* pueden contrarrestar la toxicidad de los metales ya sea por complejación de los iones metálicos, por la formación de productos de excreción o por absorción de complejos iónico-metálicos a las paredes de la célula<sup>(10)</sup>. En ensayos multispecíficos como los nuestros, existen limitantes de tipo experimental para detectar la existencia de compuestos activos extracelulares de un taxón particular.

La tolerancia al  $Zn^{2+}$  de *N. palea*, *G. parvulum*, *S. ulna* var. *amphyrrhinchus* y *Ch. vulgaris* fue mayor a la registrada por otros autores<sup>(11, 12, 13)</sup>. *N. palea* y *G. parvulum* fueron registradas como dominantes en otros cuerpos de agua contaminados geográficamente cercanos (Luján y Matanza-Riachuelo)<sup>(14)</sup>.

Figura 3  
Dendrograma de las asociaciones algales resultante del análisis de agrupamiento entre especies fitoplanctónicas con 10 mg. l-1 de zinc ( $Zn^{2+}$ )



#### Agradecimientos

Agradecemos al Dr. G. Tell (UBA) el asesoramiento en aspectos taxonómicos. Se contó con el apoyo económico del CONICET y de la UNLu.

#### Bibliografía citada

- (1) Whitton, BA (1984) Algae as monitors of heavy metals. En: L.E. Shubert (Ed.) Algae as ecological indicators. Academic Press. London: 257-280.
- (2) Cairns, J Jr., PV Mc Cormick and BR Niederlehner (1992) Estimating ecotoxicological risk and impact using indigenous aquatic microbial communities. Hydrobiologia 237: 131-145.
- (3) Salibián, A, ML Topalián y CL Loez (1991) Influencia del zinc sobre el crecimiento algal en condiciones ambientales simuladas. Comunicaciones de las Jornadas de Investigación Científica en materia de contaminación de las aguas, ORCYT-UNESCO: 175-178.
- (4) Loez, CR et A Salibián (1990) Premières données sur le phytoplancton et les caractéristiques physico-chimiques du río Reconquista (Buenos Aires, Argentine), une rivière urbaine polluée. Revue Hydrobiol. trop. 23: 283-296.
- (5) Accorinti, JA (1960) Cultivo unialgal y masivo de Scenedesmus obliquus Turp. Ktz. Técnicas de obtención. Com. Museo Arg. Cs. Natur. "Bernardino Rivadavia" 1: 21-29.
- (6) American Public Health Association (APHA) (1992) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Water

Works Association and Water Pollution Control Federation 18 th Ed., Washington DC.

- (7) Shannon, CE and W Weaver (1963) The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, 117pp.
- (8) Pielou, EC (1966) The measurement of diversity in different types of biological collections. The Biologist 13: 131-144.
- (9) Say PJ, BM Díaz and BA Whitton (1977) Influence of Zinc on lotic plants II. Environmental effects on toxicity of zinc to Hormidium rivulare. Freshwater Biol. 7: 377-384.
- (10) Michnowicz, CJ and TE Weaks (1984) Effects of pH on toxicity of As, Cr, Cu, Ni and Zn to Selenastrum capricornutum Printz. Hydrobiologia 118: 299-305.
- (11) Say, PJ and BA Whitton (1981) Chemistry and plant ecology of zinc-rich streams in the northern Pennines. In: P. J. Say and B. A. Whitton (Eds.), Heavy metals in Northern England: Environmental and Biological Aspects, University of Durham. Department of Botany: 55-63.
- (12) Takamura N, F Kasai and MM Watanabe (1989) Effects of Cu, Cd and Zn on photosynthesis of freshwater benthic algae. Journal of Applied Phycology 1: 39-52.
- (13) Vymazal, J (1986) Occurrence and chemistry of Zinc in freshwater, its toxicity and bioaccumulation with respect to algae. Part 2. Toxicity and bioaccumulation with respect to algae. Acta Hydrochem. Hydrobiol. 14: 83-102.
- (14) del Giorgio, PA, AL Vinocur, RJ Lombardo and HG Tell (1991) Progressive changes in the structure and dynamics of the phytoplankton community along a pollution gradient in a lowland river - a multivariate approach. Hydrobiologia 224: 129-154.

## IX Congreso y XIV Jornadas Interdisciplinarias de Toxicología de la Asociación Toxicológica Argentina

(celebradas en Santa Fe, Argentina, 14-16 de setiembre 1994)

### Resúmenes de Trabajos Presentados

#### CONTROL QUIMICO DE POBLACIONES DE VINCHUCAS POR COMPUESTOS ANTIALIMENTARIOS.

Vassena, C.V., Picollo, M.I. y Zerba, E.N.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603 V. Martelli, Buenos Aires, Argentina.

En trabajos anteriores demostramos que ésteres metílicos de ácidos maleámicos N-sustituídos producían bloqueo de receptores sensoriales que llevaron a la inhibición de la alimentación en vinchuchas (*Triatoma infestans*).

También demostramos que los isómeros cis puros de dichos compuestos eran entre 2 y 20 veces más efectivos que las correspondientes mezclas cis-trans. En este trabajo se evaluó si los cis maleamatos, sintetizados por la Lic. González Audino del CIPEIN, eran capaces de modificar la curva de crecimiento de una población de vinchucas. Para ello se prepararon poblaciones experimentales expuestas a papeles de filtro impregnados con 0.1 mg/cm<sup>2</sup> de los distintos maleamatos. Se encontraron reducciones poblacionales significativas hasta los 450 días para los metil maleámicos con sustituyente etilo y octilo (EMM y OMM), hasta 300 días para heptilo (HpMM) y hasta los 200 días para butilo (BMM). Estas alteraciones poblacionales representan formas de control de *Triatoma infestans* más específicas y menos contaminantes del medio ambiente.

#### EFFECTO ANTIALIMENTARIO PRODUCIDO POR COMPUESTOS QUE INTERRUMPEN LA QUIMIORECEPCION EN DISTINTOS INSECTOS PLAGA.

Vassena, C.V., Picollo, M.I. y Zerba E.N.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603 V. Martelli, Buenos Aires, Argentina

Los insectos basan su comportamiento alimentario en una serie de receptores sensoriales. Trabajos de nuestro laboratorio demostraron que una serie de ésteres metílicos de ácidos maleámicos N-sustituídos bloquean los quimiorreceptores y producen efecto antialimentario en vinchucas (*Triatoma infestans*) llevando al control de poblaciones expuestas. En este trabajo se estudió el efecto antialimentario de dichos compuestos en distintas especies plagas. Se comenzó evaluando el efecto antialimentario del metil maleamato de butilo (BMM) sobre otro insecto hematófago como el mosquito (*Culex pipiens*). Se encontró que concentraciones de 1.5 µg/cm<sup>2</sup> inhiben la alimentación del 50% de los insectos tratados. Este valor es comparable con el obtenido para la dietiltolamida (DEET), un reconocido repelente de mosquitos de uso comercial. Se estudió también el efecto de BMM en poblaciones de moscas (*Musca domestica*) y de gorgojos de la harina (*Tribolium castaneum*). Se encontró que concentraciones de BMM 0.1% en el alimento de las moscas produce disminución significativa en el peso promedio de las mismas y que concentraciones de BMM 1% en el medio de cría de los gorgojos produce interrupción del desarrollo larvarios. Estos compuestos representan una nueva alternativa de control específico de insecto plaga.

#### EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA TOXICIDAD DE PIRETROIDES DE TIPO I Y II EN VINCHUCA.

Alzogaray, R.A. y Zerba, E.N.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603 V. Martelli, Buenos Aires, Argentina.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la variación de la actividad vinchucicida de los piretroides en función de la temperatura postratamiento. Elegimos la cis- y la trans- permetrina como modelos de piretroides de Tipo I y la deltametrina como modelo de Tipo II (la clasificación se basa principalmente en la sintomatología).

Todos los insecticidas fueron disueltos en acetona y aplicados en forma de tópicos abdominal. Los controles recibieron acetona sola. Los parámetros toxicológicos fueron calculados con un programa de computación basado en el método probit.

La temperatura postratamiento ejerce un importante efecto sobre toxicidad. La magnitud y el signo de dicho efecto depende de la molécula, del rango de temperatura y del estadio ninfal. En ninfas I la tendencia es que la toxicidad aumenta al disminuir la temperatura. La deltametrina es el caso extremo: a 16°C es 30 veces más tóxica que a 26°C. En ninfas III no se observa una tendencia definida ni tan marcada como en el caso anterior. La mayor diferencia corresponde a la cis-permetrina, que a 26°C es 10 veces más tóxica que a 36°C. Los tiempos de acción apenas varían en función de la temperatura. La mayor variación corresponde a la deltametrina, cuya acción a 26°C es 1.4 veces más rápida que a 16°C.

Confiamos que estos resultados permitirán una mejor evaluación y selección de piretroides para el control del vector de la Enfermedad de Chagas.

#### EFFECTO RESIDUAL DE INSECTICIDAS PIRETROIDES FORMULADOS EN EL CONTROL DE VECTORES DE CHAGAS.

Seccacini, E., Martínez, A., Picollo, M.I. y Zerba, E.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603 V. Martelli, Buenos Aires, Argentina

Deltametrina, β-cipermetrina, β-ciflutrina y cis-permetrina en formulaciones floables, fueron ensayadas en su acción residual vinchucicida sobre cerámica y vidrio en concentraciones de 25, 50, 25 y 100 mg/m<sup>2</sup> respectivamente.

En las mismas condiciones se determinó la residualidad de formulados no floables: cipermetrina concentrado emulsionable (150 mg/m<sup>2</sup>) y lambda-cialotrina polvo mojable (35 mg/m<sup>2</sup>). El efecto residual se midió por exposición semanal de ninfas V a los residuos de los formulados sobre los distintos soportes. Sobre cerámica, los formulados no floables fueron inactivos en las concentraciones ensayadas mientras que los floables más persistentes, deltametrina y β cipermetrina, resultaron activos hasta por lo menos 6 semanas en las condiciones de ensayo. Los resultados sobre vidrio mostraron una inversión de la performance: la mayor persistencia se observó para los no floables que fueron activos hasta por lo menos 21 semanas.

El seguimiento de la estabilidad química de los formulados floables de deltametrina, β-cipermetrina y cis-permetrina sobre vidrio se realizó por CGL. Para todos ellos se observó un ligero decaimiento de concentración de activo luego del primer mes y en el caso particular de la β-cipermetrina una degradación preferencial del isómero trans.

#### MECANISMOS MOLECULARES DE LA QUIMIO-RECEPCION DE VINCHUCA. POSIBLE BLANCO DE COMPUESTOS ANTIALIMENTARIOS.

Fontán, A., Casabé, N. y Zerba, E.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603 V. Martelli, Buenos Aires, Argentina

Trabajos previos demostraron que el tratamiento con N-etilmaleimida (NEM) o N-butilmaleamato de metilo (BMM), reactivos de -SH, produce en vinchuca un efecto antialimentario. Como continuación de los estudios sobre el rol del sistema de amplificación de señal como posible blanco molecular, en este trabajo se determinó por RIA el contenido en cGMP, cAMP e IP3 en antena (At) y proboscis (Pb) de insectos estimulados sobre paloma.

No se observaron variaciones significativas en cAMP o cGMP, lo que indicaría que dichos compuestos no actúan como 2do mensajero.

Esto fue corroborado en estudios de comportamiento luego del tratamiento tópico con DbcAMP o DbcGMP (dibutil derivados permeables a membrana). Asimismo, el tratamiento con dichos derivados no revirtió el efecto antialimentario del BMM o NEM.

Estudios preliminares indicaron la presencia de IP3 en At y Pb de ninfas V de *Triatoma infestans* estimuladas sobre paloma.

#### COMPORTAMIENTO TERMICO Y EFECTIVIDAD TRIATOMICA DE LA cis-PERMETRINA EN FUMIGENOS.

Audino, P.G., Masuh, H., Licastro, S., Picollo, M. y Zerba, E.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603  
V. Martelli, Buenos Aires, Argentina

La medición de la eficacia insecticida de los isómeros cis y trans de la permetrina sobre vinchuca, demostró que el cis presenta un efecto significativamente mayor. El isómero cis fue separado por recristalización de etanol-agua y su pureza establecida por CGL. Por HPLC con columna tipo Pirckle se resolvieron los dos enantiómeros del isómero cis.

Teniendo en cuenta la eficacia y uso creciente de formulaciones fumígenas en el control de vinchucas fue de interés estudiar el comportamiento térmico de la cis-permetrina. Se estableció que de una mezcla fumígena compuesta por clorato de potasio, dextrina y caolín se recupera un 20% de cis permetrina en humos analizados por CGL. Agregando a la mezcla agentes espumígenos (ciano o azo compuestos) la recuperación en humos aumenta hasta alcanzar valores entre 50 y 80%. El análisis reveló baja isomerización cis-trans, la cual es reducida por el agregado de agentes espumígenos.

Ensayos biológicos con ninfas I de *Triatoma infestans* en pequeña cámara de volteo con pastillas fumígenas, permitió obtener valores de  $TM_{50}$  (tiempo de mortalidad 50%) variando tiempo de exposición a humos. Pastillas fumígenas con 3% de permetrina resultaron significativamente más efectivas cuando se les incorporó un agente espumígeno.

Los resultados expuestos abren nuevas perspectivas al uso de formulaciones fumígenas en el control de vectores de la enfermedad de Chagas.

#### RESISTENCIA A MALATIA Y FENITROTION EN LARVAS Y ADULTOS DE *Tribolium castaneum*. INFLUENCIA DEL MEDIO DE CRIA.

Casadío, A.A. y Zerba, E.N.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603  
V. Martelli, Buenos Aires, Argentina

Las variables ecológicas, ya sean ambientales (temperatura, humedad, dieta), o poblacionales (edad, sexo), ejercen una importante influencia sobre el desarrollo de resistencia a insecticidas en insectos.

En este trabajo se estudió la influencia de 4 medios de cría (trigo, tripepiro, centeno y la mezcla de harina con levadura y fécula de maíz) sobre los fenómenos de toxicidad y resistencia a malatión en adultos y larvas de una cepa susceptible y una resistente de *Tribolium castaneum*. Las determinaciones de grado de resistencia (GR) se hicieron con diferentes métodos, a saber:

- a) exposición de insectos a residuos de insecticida sobre papel de filtro;

- b) exposición a alimento tratado con y sin aceite.

Los resultados obtenidos muestran claramente la influencia que ejerce la alimentación. En efecto en los insectos criados sobre centeno, se observó la disminución e incluso la reversión del fenómeno de resistencia. Estos resultados son coincidentes con la menor eficiencia de cría observada en centeno cuando se hicieron estudios poblacionales comparando las cuatro dietas.

Asimismo, en las cepas estudiadas se observó que la resistencia a malatión en larvas cruza con fenitrotión con un factor de resistencia mucho mayor para este insecticida. En adultos, por el contrario, se registró muy bajo GR al fenitrotión.

#### INTERACCIONES TOXICOLOGICAS DE cis- Y trans-PERMETRINA EN VINCHUCA.

Alzogaray, R.A., y Zerba, E.N.

CIPEIN (CITEFA-CONICET) - Zufriategui 4380, 1603  
V. Martelli, Buenos Aires, Argentina

Se estudió la toxicidad diferencial de los isómeros geométricos de la permetrina y el tipo de interacción que se produce cuando son aplicados en forma conjunta en vinchucas. Para evaluar la acción insecticida de estos compuestos se comparó su toxicidad con la de la deltametrina, que es uno de los piretroides usados actualmente en las campañas para el control de la vinchuca (vector de la Enfermedad de Chagas). Todos los insecticidas fueron disueltos en acetona y aplicados en forma de tópico abdominal. Los controles recibieron acetona sola. Los parámetros toxicológicos fueron calculados con un programa de computación basado en el método probit.

En ninfas I, el isómero cis- es 3 veces más tóxico que el trans-, e igual de tóxico que la deltametrina. El uso de inhibidores enzimáticos indicó que el isómero cis- es degradado por la actividad de oxidasas de función mixta, pero no por la actividad de esterasas. Con el isómero trans- ocurre lo contrario. Al aplicar ambos isómeros en forma simultánea en este estadio ninfal, se observa sinergismo.

En ninfas III, el isómero cis- es 25 veces más tóxico que el trans- y 5 veces más tóxico que la deltametrina. La inhibición de la actividad de oxidasas de función mixta y de esterasas no altera la toxicidad del isómero cis-. La aplicación simultánea de ambos isómeros en este estadio ninfal produce un efecto de antagonismo.

#### COLINESTERASAS SANGUINEAS Y EXCRECION URINARIA DE METABOLITOS NITROFENOLICOS DE PARATION Y FENITROTION

Oneto, M.L., Basack, S.B. y Kesten, E.M.

Toxicología y Química Legal. Depto Qca Biologica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. Pabellon II, 1428-Buenos Aires.

La determinación de las actividades de las colinesterasas sanguíneas se ha empleado durante varias décadas para controlar la exposición a plaguicidas organofosforados. Con el advenimiento de mejores técnicas para el dosaje de metabolitos en orina, la determinación de algunos de ellos se comenzó a usar como método complementario.

Estudios sobre el metabolismo de los plaguicidas paration y fenitrotión indican que el p-nitrofenol (PNF) y el p-nitro-m-cresol (PNC) son respectivamente los principales metabolitos urinarios, excretándose en su mayor parte conjugados con sulfato (PNP-S y PNC-S).

Con el objeto de analizar estos metabolitos y establecer su relación con las colinesterasas, se administraron dosis subletales de paratión mín. 99% (0.2-0.5 mg/kg) o fenitrotión mín. 99% (0.6-6 mg/kg) en aceite de oliva a ratas macho Sprague Dawley por inyección s. c.. Se recogió la

orina durante las 24 horas post-tratamiento. A continuación, las ratas se anestesiaron y se extrajo sangre del seno orbital en tubo heparinizado, separándose inmediatamente el plasma de los eritrocitos.

PNF y PNC se determinaron por CGL, luego de la hidrólisis ácida de la orina. PNF-S y PNC-S se aislaron por extracción en fase sólida en pequeñas columnas de C<sub>18</sub> y se analizaron por HPLC-C<sub>18</sub>.

Para la determinación de las actividades de la colinesterasa plasmática (CP) y eritrocitaria (ACE) se empleó una modificación del método de Ellman.

Tanto PNF y PNC como PNF-S y PNC-S se detectaron en todas las muestras de orina, aumentando la cantidad excretada en función de la dosis de los insecticidas en el rango ensayado.

No se observó una depresión significativa de la actividad de la ACE, mientras que se hizo evidente una disminución de la actividad de la CP, más notoria a las dosis más altas.

Los resultados sugieren que los metabolitos urinarios PNF y PNFS; PNC y PNC-S pueden resultar indicadores más precoces que las colinesterasas para detectar la absorción de los plaguicidas paratión y fenitrotión respectivamente.

#### UTILIZACION DEL METODO DE INHIBICION ENZIMATICA "FLUOTOX" EN ENSAYOS DE TOXICIDAD CON INVERTEBRADOS ACUATICOS.

Di Marzio, W. y Tortorelli, M.C.

Programa de Investigación en Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján, Buenos Aires, Argentina.

Uno de los principales temas de interés de la Ecotoxicología es la evaluación del peligro potencial, en términos de toxicidad, de la gran cantidad de compuestos químicos de síntesis existentes y de los efluentes industriales introducidos en el ambiente. Esto plantea la necesidad del empleo de métodos de rápida aplicación, sencillos y económicamente efectivos, que puedan ser utilizados en estudios de rutina en la determinación de la toxicidad de xenobióticos. El objetivo de este trabajo es presentar el método Fluotox incluido en los conceptos mencionados anteriormente. Dicho método fue desarrollado sobre la base de ensayos de toxicidad *in vivo* propuesta por Janssen *et al* (1992). La técnica consiste en la adición de un sustrato fluorogénico (4-metilumbeliferil-β-D-galactosido o MUF) en el medio de cultivo conteniendo los organismos de prueba. La incorporación del sustrato seguida de la hidrólisis enzimática, resulta en la formación de un compuesto que es altamente fluorescente en medio alcalino (4-metilumbeliferone). Esta fluorescencia *in vivo* se manifiesta en todo el cuerpo de los organismos y puede ser detectada visualmente usando una luz U.V. (366 nm). Exponiendo a los individuos a un tóxico, antes del agregado del MUF, resulta en una reducción o ausencia de fluorescencia por inhibición enzimática. Dicha inhibición puede interpretarse como una manifestación de la toxicidad de una sustancia. Debido a la corta duración del ensayo (1 hora de exposición al tóxico más 20 minutos de incubación con el sustrato) y simplicidad, lo hace apropiado para determinar la toxicidad inicial de un xenobiótico y también para extrapolar el valor de la concentración efectiva para el 50% de los organismos expuestos durante 1 hora (EC50-1hr) al valor de EC50 para la duración estandarizada según la especie de invertebrado. En este primer trabajo de aplicación del método descrito, se evaluó la sensibilidad del mismo utilizando como especie test al Anostraco *Artemia salina* (un microcrustáceo eurihalino) y al tóxico de referencia dicromato de potasio (EPA 1982). Se comparó estadísticamente la EC50-24 hrs para dicho compuesto con la EC50-1hr obtenida con el Fluotox.

#### ESTIMACION DE CONCENTRACIONES DE PROTECCION ECOTOXICOLOGICA EN AMBIENTES ACUATICOS PARA DISTINTOS PLAGUICIDAS Y PARA EL CROMO.

Di Marzio, W., Alberdi, J.L., Sáenz, M.E. y Tortorelli, M.C.

Programa de Investigación en Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján, Buenos Aires, Argentina.

Un objetivo importante, derivado de la realización de ensayos de toxicidad, es determinar el posible impacto de un compuesto dado, sobre los ecosistemas naturales. A partir de los índices de toxicidad calculados en dichos ensayos, agudos o crónicos, se pueden extrapolar a diferentes factores de riesgo con el fin de proteger las *n* especies presentes en una comunidad. Uno de los métodos utilizados asume que las CL50 o CE50 o los NOEC derivados de ensayos uniespecíficos con organismos acuáticos y para todas las especies posibles dentro la comunidad, son variables estocásticamente independientes con la misma distribución log-logística o log-normal (Wagner and Lokke, 1991). En este trabajo se determinaron las concentraciones permisibles (Kp) para distintos compuestos en el medio acuático, las cuales protegen al 95% de las *n* especies presentes en un ambiente, siguiendo el modelo propuesto por los autores mencionados. Dicho modelo supone una distribución normal de los índices de toxicidad seriadas anteriormente y considera a la batería de especies utilizadas en los ensayos, como una muestra representativa de la comunidad. El tamaño mínimo (alfa) es de tres especies por ensayo.

Las sustancias estudiadas fueron:

- 1) Paraquat como Osaquat® 27. 6%.
- 2) Glifosato ingrediente activo 99% y como Rondo® 48%.
- 3) Ciflutrina como Baytroid® 5%.
- 4) Cromo (Cr<sup>6+</sup>) como dicromato de potasio.

Las especies utilizadas fueron:

- 1) Algas: *Scenedesmus acutus* (cepa SAG N°276-3A), *Scenedesmus quadricauda* aislada del río Luján, *Scenedesmus quadricauda* (cepa CCAP N°276/21), *Selenastrum capricornutum* (CETESB), *Chlorella vulgaris* (UBA).
- 2) Cladoceros: *Daphnia magna* y *Daphnia spinulata*.
- 3) Anostracos: *Artemia sp.*
- 4) Anfibios: *Hyalella curvispina*.
- 5) Peces: *Cnesterodon decemmaculatus*, *Phallogoceros caudimaculatus*, *Bryconamericus theringii*, *Chetodon interruptus*.

Los Kp fueron: Osaquat =  $1.91 \cdot 10^{-4}$  mg paraquat/L (alfa=11); Glifosato i.a. =  $1.88 \cdot 10^3$  mg/L (alfa= 5); Rondo =  $2.88 \cdot 10^2$  mg glifosato/L (alfa=5); Baytroid =  $2.046 \cdot 10^{-19}$  mg ciflutrin/L (alfa=3) y Cromo =  $5.47 \cdot 10^7$  mg Cr<sup>6+</sup>/L (alfa=5).

#### ENSAYOS DE TOXICIDAD CON ORGANISMOS ACUATICOS. CULTIVO DEL ANFIPODO *Hyalella curvispina*, I: CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA EN DISTINTOS TIPOS DE AGUA.

Fuente, H., Sáenz, M.E., Tortorelli, M.C. y Di Marzio W.

Programa de Investigación en Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján, Buenos Aires, Argentina.

Los macroinvertebrados han sido propuestos como organismos de prueba en ensayos de ecotoxicidad en diferentes protocolos (ASTM 1982 y 1989, EPA US 1988, CETESB 1993). Son utilizados para determinar la toxicidad de compuestos puros, muestras de agua, efluentes industriales, pero principalmente de muestras de sedimentos. Una

de las especies propuesta en estos protocolos *Hyaella azteca*. Esta especie no es frecuente en nuestros cuerpos de agua. Una de las especies más abundantes en nuestro país es *H. curvispina* (Pereira, 1985) la cual puede capturarse en los ambientes acuáticos de la provincia de Buenos Aires. Con el objetivo de utilizar a individuos de esta especie como organismos de prueba en test de toxicidad, se presentan en este trabajo, los resultados de su cultivo bajo condiciones controladas. Estas condiciones fueron: temperatura  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo 12 horas luz/oscuridad, intensidad 500 lux. El cultivo se realizó en acuarios de  $20 \times 20 \times 5$  cm sin aireación. Los individuos fueron alimentados con alimento artificial para peces variedad TetraPyl<sup>®</sup>, a razón de 5% del peso húmedo por individuo por día. Se ensayaron tres tipos de agua: agua dulce artificial dura y blanda preparadas según EPA US (1989) (ADAD y ADAb) y agua de laboratorio (AL) (agua de pozo). Los parámetros físico-químicos se describen a continuación: pH: 7.66, 7.16, 8.51; conductividad 480, 130, 700  $\mu\text{m/cm}$  dureza 162.20, 33.8, 07.6 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$ ; alcalinidad 138.67, 31.33, 329.33 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$ ; oxígeno disuelto inicial: 9, 8.77, 9.17 mg/L; para ADAD, ADAb y AL respectivamente. Se utilizaron aproximadamente 100 individuos en cada medio de cultivo, divididos en tres replicas, se realizó una renovación semanal de dicho medio y se tomaron muestras de 5 individuos para estudiar el crecimiento en peso. Diariamente se registraron el número de sobrevivientes en cada replica. La experiencia se llevó a cabo durante 30 días. Los datos se analizaron mediante una ANOVA combinada con el test de Tukey. No hubo diferencias significativas entre los tres tipos de agua para el crecimiento en peso. La sobrevivencia en ADAD y ADAb fue significativamente superior respecto del AL.

#### TOXICIDAD AGUDA DE UN FORMULADO DE PARAQUAT SOBRE *Daphnia spinulata* Y *D. magna*.

Alberti, J.L., Di Marzio, W.D., Sáenz, M.E. y Tortorelli, M.C.

Laboratorio de Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján. Buenos Aires. Argentina

La finalidad de este trabajo fue comparar la toxicidad de un formulado del herbicida Paraquat (Osaquat) sobre la inmovilidad de dos microcrustáceos: *Daphnia spinulata* (Cladóceros nativo de la zona norte de la pcia de Buenos Aires) y *D. magna* (Cladóceros comúnmente utilizado como organismo de prueba por diferentes entidades internacionales). Paraquat (PQ) es empleado en el control de malezas terrestres y acuáticas de la citada zona. La concentración del herbicida en el formulado es de 27.6 g/L y su rango de aplicación oscila entre 0.1 y 1.5 mg/L.

Se realizaron bioensayos estáticos de 48 hs de duración, a  $20^\circ\text{C}$ , en total oscuridad y en dos tipos de agua dulce artificial, dependiendo del medio de cultivo de cada especie: *D. spinulata*: pH: 7.5-7.8; O.D.: 8.6-9 mg/L; salinidad: 0%; conductividad: 220-260  $\mu\text{mhos/cm}$ ; dureza: 120-150 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$ ; alcalinidad: 80-100 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$ .

*D. magna*: pH: 7.6-8; O.D. 8.2-8.8 mg/L; salinidad: 0%; conductividad: 420-480  $\mu\text{mhos/cm}$ ; dureza: 320-360 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$ ; alcalinidad: 210-250 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$ . Se expusieron juveniles de ambas especies (< de 24 h de vida) a las siguientes concentraciones del principio activo: para *D. spinulata*: 0.5, 1, 2, 4, 8 y 16 mg/L PQ y para *D. magna*: 3, 5, 8, 13, 21, y 33 mg/L PQ. La CE50 24 y 48 hs se determinaron a través del programa de análisis PROBIT (versión 1.4) recomendada por la USEPA.

La inmovilidad fue total a las 48 h para *D. spinulata* en las concentraciones 8 y 16 mg/L PQ y para *D. magna* a 21 y 33 mg/L PQ. El promedio de las CE50-24h para cuatro bioensayos fue de 8.81 mg/L PQ para *D. spinulata* y de 22.29 mg/L PQ para la *D. magna*, mientras que el promedio de las CE50-48h fue de 2.57 mg/L PQ para *D. spinulata* y para la *D. magna* de 6.24 mg/L PQ. La especie nativa presentó en

todos los ensayos mayor sensibilidad que *D. magna*, con lo cual se comprueba que *D. spinulata* es un buen organismo de prueba para estos tipos de bioensayos. Además, teniendo en cuenta el rango de aplicación del herbicida se puede concluir que esos valores al resultar cercanos a las CE50-48h obtenida para *D. spinulata*, podría llegar a afectar seriamente poblaciones naturales de la misma en caso de exposiciones prolongadas.

#### COMPARACION DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR EL HERBICIDA GLIFOSATO Y DOS DE SUS FORMULACIONES COMERCIALES

Sáenz, M.E., Di Marzio, W.D., Accorinti, J. y Tortorelli, M.C.

Laboratorio de Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján. Buenos Aires. Argentina y Depto Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. Pabellón 2, 1428-Buenos Aires, Argentina.

El glifosato (Gly) es un herbicida de amplio espectro, no selectivo utilizado en nuestro país para el control de malezas acuáticas y terrestres. El centro de acción de este herbicida es la inhibición de la EPSP sintetasa, una enzima relacionada con la síntesis de aminoácidos aromáticos. Además de afectar la síntesis de proteínas, también inhibe la síntesis del precursor de la clorofila. Es el principio activo de los formulados Ron-do y Roundup, los cuales se han convertido en herbicidas muy usados desde su introducción en 1971, debido a su bajo costo y gran espectro de actividad.

El objetivo de este trabajo fue comparar la acción tóxica de Gly g.t. y los formulados comerciales Ron-do y Roundup sobre la especie *Scenedesmus quadricauda*, alga clorofita fitoplanctónica presente en el río Luján (Pcia de Buenos Aires). Se realizaron experiencias con el fin de demostrar la acción del Gly g.t. sobre la síntesis de clorofila "a".

Se realizaron ensayos de toxicidad de 96 hs de duración, en condiciones controladas de laboratorio. Para cada tóxico evaluado se determinó la densidad celular de los cultivos algales tratados y el control. Se determinó la concentración de clorofila "a" en los cultivos expuestos al Gly g.t. utilizando los fórmulas de Lorenzen (1967). En cada ensayo de toxicidad se calculó las CE50. Se realizó un análisis estadístico de los datos (ANOVA).

Los ensayos llevados a cabo arrojaron una CE50 96hs para Gly g.t. de 7.21 mg Gly/L. Este mismo valor para los formulados comerciales Ron-do y Roundup fueron 9.09 mg Gly/L y 6.45 mg Gly/L respectivamente. En cuanto al efecto sobre la síntesis de clorofila "a" se registro una disminución significativa del contenido en clorofila en las poblaciones expuestas a 50 mg Gly/L, si bien se observó una sensible disminución en concentraciones menores.

Se concluye que Gly g.t. no resultó menos tóxico que los formulados, observándose una mayor toxicidad del Roundup con respecto a el formulado de Ron-do.

#### ACCION DEL HERBICIDA PARAQUAT SOBRE LA PRODUCTIVIDAD Y CRECIMIENTO POBLACIONAL DE UNA ESPECIE ALGAL FITOPLANCTONICA

Saenz, M.E., Accorinti, J. y Tortorelli, M.C.

Laboratorio de Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján. Buenos Aires y Depto Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. Pabellón 2, 1428-Buenos Aires.

El Paraquat (Pq) es un herbicida de contacto, no selectivo muy soluble en agua y de rápida acción a bajas concentraciones, ampliamente utilizado en la Argentina para el control de malezas acuáticas y terrestres. La

tasa de aplicación utilizada en prácticas agrícolas es de 4 L de formulado de Pq/Ha y de 0.1 a 2 mg Pq/L en el control de malezas acuáticas. El objetivo del trabajo fue evaluar la acción tóxica del herbicida Paraquat, en forma de su formulado comercial Osaquat, sobre la especie *Scenedesmus quadricauda*, aislada del río Luján (Pcia de Buenos Aires) realizando evaluaciones sobre el crecimiento poblacional y la capacidad de recuperación de las poblaciones afectadas por el tóxico. También se realizaron determinaciones del efecto producido sobre la productividad primaria.

Se realizaron ensayos de toxicidad de 96 hs de exposición. Posteriormente se llevaron a cabo ensayos de recuperación del crecimiento (en ausencia de tóxico) de 10 días de duración. Se determinó la productividad primaria de las poblaciones algales expuestas a las diferentes concentraciones de paraquat, realizando la incubación de botellas claras y oscuras en condiciones controladas de laboratorio. Para los ensayos de toxicidad, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento y la CE50 96 hs. En los ensayos de recuperación se determinó la densidad celular y la tasa de crecimiento. Se realizó un análisis estadístico de los resultados (ANOVA).

Se halló una CE50 96h de 0.32 mg Pq/L. Las poblaciones expuestas por encima de 0.2 mg Pq/L presentaron una inhibición significativa del crecimiento, con respecto al control. Las poblaciones expuestas a 3.2 mg Pq/L presentaron una total inhibición del crecimiento. En los ensayos de recuperación se observó crecimiento en todas las poblaciones, aun las expuestas a 3.2 mg Pq/L. Se observó una disminución del 36% en la productividad primaria en las poblaciones expuestas por encima de 0.4 mg Pq/L, con respecto al control.

Se concluye que la dosis de aplicación del Paraquat, afecta el crecimiento y la productividad de *S. quadricauda* ejerciendo una acción algística y no algicida.

#### RESISTENCIA DE UNA ALGA CLOROFICEA AISLADA DE UN RIO CON FUENTES DE CONTAMINACION A UN FORMULADO DE CIFLUTRINA.

Saenz, M.E., Di Marzio, W.D., Accorinti, J. y Tortorelli, M.C.

Laboratorio de Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján. Buenos Aires y Depto Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. Pabellón 2, 1428-Buenos Aires, Argentina.

La ciflutrina (Ci) es un insecticida no sistémico, relativamente nuevo, producido por Bayer en 1978. Su nivel de toxicidad y efecto de actividad es similar a la cipermetrina, con acción estomacal y efecto sobre el sistema nervioso central. Los plaguicidas llegan a los cuerpos de agua dulce a través de drenaje superficial, escorrentía o por aplicaciones aéreas de tierras cultivadas adyacentes. El estudio de los efectos de los plaguicidas sobre algas clorofíceas adquiere relevancia, ya que constituyen los principales productores primarios de los cuerpos de agua dulce.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la acción tóxica de la ciflutrina, en forma de su formulado comercial, sobre la especie *Scenedesmus quadricauda*, presente en el río Luján (Pcia de Buenos Aires) y su resistencia a este insecticida realizando comparaciones con una cepa patrón de la misma especie.

Se realizaron bioensayos de 96 hs de exposición al tóxico, bajo condiciones controladas de laboratorio. Se utilizó el formulado Baytroid, que contiene 5% de ciflutrina como principal activo. Los organismos de prueba utilizados fueron cultivos de *Scenedesmus quadricauda*, aislada de muestras provenientes del río Luján y cultivos de la cepa patrón N°276/21 de la misma especie proveniente de la Colección de Algas y Protozoos (CCAP) de Inglaterra. Para cada población se calculó la CE50, NOEC y LOEC. Se realizó un análisis estadístico de los datos (ANOVA).

Las experiencias llevadas a cabo con la cepa aislada del río Luján mostraron una disminución significativa del crecimiento por encima de 1 mg Ci/L. La CE50 96hs fue de 2.06 mg Ci/L. En las experiencias realizadas con la cepa patrón CCAP N° 276/21 se observó una disminución significativa del crecimiento por encima de 0.2 mg Ci/L. La CE50 96 hs fue de 0.38 mg Ci/L.

Se concluye que la cepa proveniente del río demostró una resistencia al formulado Baytroid comparando su respuesta con la cepa patrón de la misma especie. Por otro lado, los efectos tóxicos observados por el plaguicida corresponderían en gran medida a la presencia de xilol en su formulación.

#### TOXICIDAD AGUDA DE UN FORMULADO COMERCIAL DEL HERBICIDA PARAQUAT SOBRE INDIVIDUOS DE *Hyalella curvispina* (CRUSTACEO, ANFÍPODO)

Di Marzio, W.D., Fuente, H., Alberti, J.L. y Tortorelli, M.C.

Programa de Investigación en Ecotoxicología, Depto de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. C.C. 221, 6700-Luján, Buenos Aires, Argentina.

El paraquat PQ (1, 1'-dimetil, 4, 4'-bipiridilio) es un herbicida de contacto no selectivo. En la actualidad es uno de los herbicidas más ampliamente utilizado (Eisler 1991). Las tasas de aplicación varían entre 0.28-1.12 kg/ha y 0.1-2 mg/L para el control de malezas terrestres y acuáticas respectivamente. Es uno de los herbicidas de mayor uso en la zona centro-sur de la provincia de Buenos Aires (OSA y Bayer comunicación personal). Si bien su principal empleo es en el control de malezas terrestres, en varios municipios de dicha provincia se lo utiliza para el control de macrofitas acuáticas (por ej. laguna de Las Flores). El PQ es adsorbido por los suelos y sedimentos. En suelos de superficie es fotodescompuesto en varias semanas, pero el PQ permanece casi sin degradación, no-biodisponible, por varios años en subsuelos y en sedimentos (WHO 1884). Es altamente tóxico para larvas de crustáceos (Eiler 1991) y por otro lado es relativamente poco tóxico para peces de aguas frías y cálidas (Calderbank 1972). En este trabajo se determinó la toxicidad aguda, sobre *Hyalella curvispina*, de un formulado comercial de PQ conteniendo 27.6% de ingrediente activo: Osaquat® (OSA, Arg). Se trabajó con individuos adultos aclimatados a las condiciones de ensayo durante una semana. Estas fueron: temperatura  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperiodo 12 horas luz/oscuridad, intensidad 500 lux. Se utilizó como agua de dilución agua dulce artificial (ADA) dura y blanda 1:1, con 95 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/L}$  de dureza final (EPA US 1989). Los ensayos fueron realizados en cristalizadores, colocando en cada uno 10 anfípodos/150 ml de ADA. Las soluciones de ensayo se compararon con organismos control sin PQ. Todas las soluciones y los controles se hicieron por duplicado. Se registró el número de muertos en cada solución test. Con estos datos a partir del método PROBIT versión 4.1 EPA US 1989, se determinó la concentración letal para el 50% de los individuos expuestos a las 24 hs de ensayo. La CL50 24 hs fue: 5.98 (3.19-8.18) mg PQ/L. La CL1%-24hs fue de 0.97 mg PQ/L. La toxicidad crónica estimada según Persoone (1992) es de 0.598 mg PQ/L. La aplicación de PQ en ambientes acuáticos afectaría a *H. curvispina*.

#### RESIDUOS DE PLAGUICIDAS CLORADOS EN LECHE MATERNA

Maitre, M.I., Lorenzanti, E. y Lenardón, A.

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC) Universidad Nacional del Litoral-CONICET, Güemes 3450, 3000-Santa Fe, Argentina.

El presente trabajo, aún en desarrollo, realizado en colaboración con el Hospital de Niños R. Gutierrez de la ciudad de Santa Fe, tiene como objetivo conocer los niveles de residuos de plaguicidas organoclorados

que debido su carácter lipofílico se pueden encontrar en leche materna, tratando de identificar los probables factores de contaminación.

Debido la poca información existente, tanto en la provincia de Santa Fe, como en el país en general respecto a intoxicaciones crónicas en poblaciones relacionadas o no al uso de agrotóxicos, se evalúan los resultados frente a valores encontrados en el resto del mundo.

El muestreo fue realizado directamente por el personal perteneciente a la sala de Neonatología del Hospital de Niños registrándose información tal como edad de la madre y del bebé, cantidad de partos, lugar de origen y relación directa con plaguicidas organoclorados.

Como consecuencia del poco volumen de muestra disponible en algunos casos, fue necesaria la puesta a punto de técnicas analíticas que se adecuaron a esta limitación y que a su vez permitieran buenos porcentajes de recuperación de los compuestos a analizar, habiéndose efectuado numerosos ensayos en muestras sembradas con estándares de plaguicidas.

Paralelamente se determinaron los porcentajes de grasa en las leches, con el objetivo de estandarizar los resultados con mg/kg.

La identificación y cuantificación de residuos detectados se realiza por cromatografía gaseosa con detector de captura electrónica provisto de columnas Megabore DB-608, integrador de datos CDS 110, considerándose los siguientes compuestos: Hexaclorobenceno (HCB), Hexaclorociclohexano (isómeros alfa, beta y gamma), heptacloro y su epóxido, aldrin, dieldrin, clordano (isómeros alfa y gamma), endosulfan (I y II), endrin, p, p'DDE, p, p'DDD, o, p'DDT y p, p'DDT. Las muestras analizadas (cuarenta hasta el momento), presentan en un 90% residuos de alguno de los plaguicidas antes mencionados, siendo el epóxido del heptacloro, el p, p'DDE y los isómeros del Hexaclorociclohexano los más frecuentemente detectados.

#### ACTIVIDAD ESTERASICA EN NINFAS I DE *Triatoma patagonica* (VINCHUCA) EN PARALELO CON *Triatoma infestans*

Visciarelli, E. y Ferrero, A.

Laboratorio de Invertebrados II. Depto de Biología y Bioquímica. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, 8000-Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

*Triatoma patagonica* Del Ponte (vinchuca) es la especie más austral del país. Se la ha observado en viviendas libres de *Triatoma infestans* y se la ha encontrado naturalmente infectadas con *Trypanosoma cruzi*. Ensayos de toxicidad en *T. patagonica* con insecticidas utilizados en campañas de control de insectos vectores de la Enfermedad de Chagas revelaron que el orden de efectividad fue mayor para el piretroide deltametrina que para los organofosforados fenitrotión y malatión respectivamente. En términos generales la efectividad de estos compuestos es similar a otras especies de triatominos como *Triatoma infestans* y *Triatoma sordida*.

Dado que se desconoce la actividad de las enzimas que intervienen en el metabolismo detoxificante de los insecticidas en *Triatoma patagonica*, fue de interés evaluar en una primera etapa la actividad de esterasas de esta especie en paralelo con *T. infestans*.

Para tal fin se utilizaron ninfas I de *T. patagonica* y de *T. infestans* provenientes de colonias mantenidas en nuestro laboratorio a 28°C y 60% de H. R.. La fuente de enzimas se obtuvo a partir de homogenatos crudos de ninfas I ayunadas y sin cabeza. La actividad esterásica se midió por el método colorimétrico de Ellman utilizando tioacetato de fenilo (PTA) como sustrato.

Nuestros resultados indican que el sustrato PTA fue hidrolizado más rápidamente en los homogenatos de *T. patagonica* que en los de *T. infestans*.

Como consecuencia de lo observado sería conveniente evaluar la acti-

vidad de esterasas frente a otros sustratos e inhibidores que podrían explicar el comportamiento de *Triatoma patagonica* frente a los insecticidas utilizados.

#### EFFECTO DEL INSECTICIDA ORGANOFOSFORADO: MALATION Y DEL PIRETROIDE: DELTAMETRINA SOBRE EL CANGREJO ESTUARIAL *Chasmagnathus granulata* (DECAPODA, GRAPSIDAE) EN LA BAHIA BLANCA

Ferrero, A., Gutierrez, M. y Cervellini, P.

Laboratorio de Invertebrados II. Depto de Biología. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, 8000-Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

En la República Argentina los insecticidas organofosforados y piretroides son utilizados tanto en las prácticas agrícolas como en la salud pública.

Es sabido que los crustáceos marinos son vulnerables a los efectos tóxicos de estos xenobióticos. El cangrejo *Chasmagnathus granulata* es una especie omnívora detritívora y constituye el alimento de peces de importancia comercial en nuestra zona.

El objetivo del trabajo es iniciar un programa de estudios referente a la toxicidad de los insecticidas organofosforados y piretroides sobre organismos no destinatarios tal es el caso de la especie en cuestión. Para tal fin se determinó la CL50 96 hs de ambos insecticidas, siguiendo las técnicas sugeridas para tests estáticos de toxicidad. Los experimentos se realizaron utilizando soluciones acetónicas de insecticidas, siendo expuestas a las mismas machos adultos de ancho de caparazón: 20-22 mm y 32-34 mm. Se consideró que la concentración de oxígeno disuelto no variaba debido a una permanente aireación de los acuarios. Los test se realizaron en agua salina artificial (Instan Ocean) a 32%; 22°C y pH 7. El criterio de muerte utilizado fue la ausencia de movimiento o laxitud en el movimiento de los quelépedos.

Los resultados fueron los siguientes:

- para el insecticida organofosforado malatión talla 20-22 mm CL50:13 µg/L (11.3-19) y talla 32-34 mm CL50:19 µg/L (15-26).
- para el piretroide deltametrina:talla 20-22 mm y 32-34 mm CL50: 0.27 µg/l (0.25-0.45). Estos indicarían que el cangrejo estuarial *Chasmagnathus granulata* presenta una mayor tolerancia al insecticida malatión que al insecticida deltametrina.

Sería de interés determinar algún tipo de interacción entre estos insecticidas y los principales sistemas enzimáticos de detoxificación en *Chasmagnathus granulata*.

#### EVALUACION EN LABORATORIO DE LA EFECTIVIDAD DE SIETE PIRETROIDES EN *Rhizopertha dominica* Y *Tribolium castaneum* (INSECTOS PLAGA DE GRANOS ALMACENADOS)

Ferrero, A. y Laumann, R.

Laboratorio de Invertebrados II. Depto de Biología. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, 8000-Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

Los piretroides sintéticos muestran una alta actividad insecticida y una baja toxicidad en mamíferos. En la Rep. Argentina estos insecticidas son recomendados para el control de plagas de granos almacenados.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad de siete piretroides sintéticos (deltametrina, permetrina, cipermetrina, meotrin, asimetrina, esbiotrina y ciflutrina) en cepas susceptibles de *Rhizopertha dominica* y *Tribolium castaneum*.

Para tal fin los insectos fueron expuestos a papeles de filtro impregnados con soluciones acetónicas de los insecticidas, evaluando la respuesta a través de la CL50.

Los resultados obtenidos muestran que la toxicidad de los compuestos

varía sustancialmente en ambas especies. El orden de efectividad en *R. dominica* fue: esbiotrina, ciflutrin, meotrin y permetrina > asimetrina > cipermetrina > deltametrina.

En tanto que en *T. castaneum* el orden fue: asimetrina > esbiotrina > cipermetrina > ciflutrin > meotrin y permetrina > deltametrina.

Nuestros resultados muestran, además, que *T. castaneum* fue más tolerante a los piretroides sintéticos estudiados. Este fenómeno necesita ser mejor estudiado para elucidar las causas bioquímicas de esta tolerancia.

#### INTERACCION *Azospirillum brasilense* Cd Y PLANTAS DE MAÍZ Y TRIGO: EFECTO DEL 2, 4-D

Fabra, A., Jofré, E., Castro, S., Rivarola, V., Mori, G. y Balegno, H.

Fac. Cs. Exactas, Fco-Qcas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. 5800-Río Cuarto, Córdoba - Argentina.

En nuestro laboratorio se determinó que el herbicida 2, 4-D altera el crecimiento y la actividad metabólica de *Azospirillum brasilense* Cd en cultivo puro, cuando se agrega a una concentración 1mM.

Debido a que se conoce que este microorganismo aumenta el rendimiento de cultivos de cereales sobre los cuales se aplica el 2, 4-D es de interés estudiar el efecto del herbicida en la interacción planta-bacteria, a la dosis empleada a campo (320 g/ha).

A partir de semillas esterilizadas de maíz y trigo se obtuvieron plántulas en las que se determinaron los mecanismos de adhesión a raíz con bacterias controles y tratadas con 2, 4-D, según el método de Michiels y col., 1991. Además se determinó en el microorganismo el contenido de exopolisacáridos y polisacáridos capsulares extraídos según el método de Skorupska y col., 1985 y cuantificados por el método de Trevelyan y Harrison, 1952.

Se observaron alteraciones en el mecanismo de anclaje de las bacterias a raíces de maíz cuando el herbicida fue agregado "in situ". Dicho mecanismo no se vio modificado con plantas de trigo.

Si bien las bacterias se adsorben normalmente a las raíces, en el caso de maíz se ve afectado el anclaje, lo que estaría relacionado con el contenido de polisacáridos.

A dosis a campo el 2, 4-D no afectaría la interacción *Azospirillum*-trigo.

#### METABOLISMO Y TRANSPORTE DE POLIAMINAS EN CELULAS PROCARIONTES Y EUKARIONTES: EFECTOS DEL 2, 4-D.

Rivarola, V., Meichtri, L., Fabra, A., Castro, S., Mori, G. y Balegno, H.

Fac. Cs. Exactas, Fco-Qcas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. 5800-Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

En nuestro laboratorio se demostró que el herbicida 2, 4-D inhibe el crecimiento celular y la biosíntesis de macromoléculas tanto en cultivos de células CHO como en *Azospirillum brasilense* Cd. Estas alteraciones fueron revertidas por el agregado de poliaminas (Pas) al medio de cultivo.

Con estos antecedentes, se decidió estudiar:

- Si el agregado de Pas a cultivos de *A. brasilense* disminuye la incorporación del herbicida.
- Si el crecimiento con 2, 4-D produce una mayor incorporación de Pas exógenas tanto en células CHO como en las bacterias.
- La actividad de las enzimas involucradas en el camino biosintético de las Pas y,
- El efecto directo del 2, 4-D sobre la actividad de la enzima ornitina decarboxilasa (ODC) y sobre el número de moléculas de dicha enzima.

Los métodos seguidos fueron: Transporte de 2, 4-D y Pas: Engelke,

1987. Actividad enzimática: Noguchi y col., 1979. Contenido de Pas: Smith y Best, 1977. Número de moléculas de ODC: Seely y col., 1983. Se halló que la incorporación del herbicida no se modifica por la presencia de Pas. En células tratadas con 2, 4-D, el transporte de Pas se encuentra incrementado con respecto a los controles. El herbicida no tiene efecto directo sobre la actividad ODC a diferencia de lo que ocurre en células tratadas durante 8 hs, ni tampoco se altera el número de moléculas ODC.

Se concluyó que la disminución en el contenido de Pas se debería exclusivamente a la alteración de la actividad de la ODC. La reversión de los efectos del 2, 4-D por el agregado de Pas no se debería a una menor incorporación del herbicida. La acción primaria del 2, 4-D estaría localizada a nivel del metabolismo de Pas.

#### TOXICIDAD DE AGROQUIMICOS EN MICROORGANISMOS DEL SUELO

Castro, S., Vinocur, M., Permigliani, M., Halle, C. y Fabra, A.

Fac. Cs. Exactas, Fco-Qcas y Naturales y Dpto Ecología Agraria, Fac. Agr. y Vet. Universidad Nacional de Río Cuarto 5800-Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Numerosos trabajos indican que los agroquímicos afectarían la asociación entre leguminosas y bacterias del género *Rhizobium*. En nuestro laboratorio demostramos que el herbicida 2, 4-D inhibe el crecimiento de *Rhizobium sp.* (Fabra y col., 1987, 1992, 1993). El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto tóxico de los herbicidas 2, 4 DB, Scepter, Pivot y Sheriff sobre el crecimiento y el contenido de glutatión de *Rhizobium sp* y *B. japonicum*.

También se analizaron las posibles alteraciones que el fungicida Mancozeb produciría sobre el crecimiento de estos microorganismos y en el contenido de exopolisacáridos (EPS), moléculas involucradas en la interacción planta-bacteria. Además, se realizaron ensayos a campo determinando alteraciones en el número de nódulos/planta, peso seco de la parte aérea, peso seco de los nódulos y actividad nitrogenasa.

Los herbicidas estudiados se agregaron al medio de cultivo al inicio de la incubación o cuando las bacterias estaban en fase logarítmica (Gallori y col., 1991). El fungicida se agregó al inicio de la incubación determinando el número de células viables en cultivos en fase logarítmica tardía. Los EPS se extrajeron por el método de Skorupska y col., 1985 y se cuantificaron por el método de Trevelyan y Harrison, 1952. El contenido de glutatión fue determinado por el método de Sedlak y Lindsay, 1968. Los estudios en cultivos de maní se realizaron cuando las plantas estaban en los estadios fenológicos R1 y R6. La actividad nitrogenasa se determinó por el método de Hardy y col., 1973.

Los herbicidas no produjeron inhibición del crecimiento. Con respecto al contenido de glutatión, este se vio incrementado en un 60% en *Rhizobium sp* mientras que en *B. japonicum* el mismo no fue significativo. Esto indicaría que el glutatión podría estar protegiendo a estos microorganismos de los posibles efectos tóxicos de los herbicidas analizados, especialmente en *Rhizobium sp.*

El fungicida, en cambio, produjo una marcada inhibición del crecimiento sin disminuir el contenido de EPS.

Contrariamente a lo esperado, el efecto inhibitorio de este compuesto sobre el crecimiento bacteriano, no se tradujo en una alteración en la interacción planta-bacteria dado que no se encontraron diferencias entre controles y tratados en los parámetros analizados en los ensayos a campo.

#### RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN CARNES

García, S. R., De Jesus, J.J., Gómez, F. L. y Beldoménico, H. R.

Laboratorio Central de Servicios Analíticos. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Santiago del Estero 2654, 6° piso, 3000-Santa Fe, Argentina. TE/FAX (042)20018.

En la actualidad, asegurar la inocuidad de los alimentos es una de las obligaciones más comprometidas con el mejoramiento de la calidad de

vida de la población. Al mismo tiempo incorporar en las variables de la producción, como aspecto importante, la necesidad de lograr alimentos libres de contaminantes resulta decisivo para encarar con éxito su comercialización externa.

En el caso de las carnes, alimento de exportación tradicional de nuestro país, esta evolución ha derivado en la adecuación del sector industrial y de los organismos oficiales involucrados, para satisfacer las crecientes normativas sanitarias y de control, demandadas por mercados cada vez más exigentes, sensibilizados en las prácticas de alimentación sana y la conciencia ecológica de conservación del medio ambiente.

Una de las exigencias más difundidas es el control de residuos de plaguicidas, principalmente de la familia de los organoclorados, que son compuestos tóxicos químicamente estables, liposolubles y con efecto acumulativo en los tejidos vivos. Existe considerable legislación en nuestro país que regula el uso y comercialización de estos productos prohibiéndolos en su mayoría o restringiéndolos a unas muy limitadas aplicaciones.

El presente trabajo describe los resultados obtenidos en los análisis de compuestos organoclorados en muestras de tejido graso perirrenal de especies animales de exportación (bovino y equino) extraídas de las plantas industrializadoras respondiendo al programa nacional de residuos de carnes coordinado por el organismo nacional de control (SENASA) y auditado por los organismos pertinentes de USA y CEE.

Se utiliza un método analítico multiresiduo basado en un cleanup en una única columna de absorbente, Alúmina neutra desactivada, eluyendo con Eter de Petróleo. La determinación final es realizada por cromatografía gaseosa con ECD Ni<sup>63</sup>, utilizando columnas rellenas con mezcla de fases, selectivas para las siguientes familias de compuestos: Hexaclorobenceno, Lindano, isómeros de HCH (alfa, beta, delta), Heptacloro y Heptacloro Epóxido, Clordano e isómeros, Dieldrin, Aldrin y Endrin, Mirex, Metoxicloro, Toxafeno incluyéndose en los estudios a los compuestos de la familia de los Bifenilos Policlorados.

En el trabajo se describe la situación de la contaminación por residuos de plaguicidas, abarcando los muestreos una amplia zona productora de carne del interior del país, comprendiendo varias provincias centrales (Santa Fe, Entre Ríos, San Luis entre otras), resumiéndose la evolución observada en el período 1985-1994.

Se verifica la tendencia de los últimos años de reducción de la incidencia de valores positivos y violaciones a las tolerancias vigentes, especialmente para aquellos plaguicidas con prohibición total de uso en Argentina.

#### VALORES REFERENCIALES DE COPROPORFIRINAS URINARIAS TOTALES EN SUJETOS NO EXPUESTOS LABORALMENTE A METALES PESADOS

Piñeiro, A. E., López, C.M., Fontana, E., Panzuto, R.I., Martínez de Marco, M. y Roses, O.E.

Cátedra de Toxicología y Química Legal. Fac. de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires (UBA). Junín 956, 7° piso, 1113-Bs. Aires. Dto de Bioquímica Hosp. Aeronáutico Central y Dir Gral de Salud y Asist. Social. UBA. Buenos Aires, Argentina.

Las coproporfirinas urinarias totales (CPU) constituyen uno de los parámetros bioquímicos de importancia en el diagnóstico de la intoxicación plúmbica, muy especialmente en la exposición industrial al metal. La falta de valores de referencia para nuestra población, hace prioritario determinar la excreción urinaria de las CPU en sujetos sanos, no expuestos en su actividad diaria a los metales pesados.

Se estudiaron 176 individuos (80 varones y 96 mujeres) de entre 18 y 40 años, con perfil bioquímico normal para hemograma, VSG, gamma GT, proteínas totales, bilirrubina, GPT, GOT, FAL, creatinuria y orina de rutina.

El análisis estadístico de los datos indica que las raíces cuadradas de los mismos se ajustan a una distribución normal de Gauss. El 95% de los valores se halla comprendido entre 8 y 137 µg/L, no encontrándose diferencias significativas entre sexos.

#### VALORES REFERENCIALES DE ARSENICO EN CABELLOS: 1 - POBLACION NO EXPUESTA PROFESIONAL NI ALIMENTARIAMENTE AL ARSENICO. ULTIMA COMUNICACION

Sassone, A.H., Sinelli, M., Fernández de la Puente, G., Sarasino, C., López, C. y Roses, O. E.

Cátedra de Toxicología y Química Legal. Fac. de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 7° piso, 1113-Buenos Aires.

Esta comunicación constituye la última de una serie de investigaciones destinadas a determinar los valores referenciales de Arsénico en cabellos para una población no expuesta laboral ni alimentariamente al mismo.

Fueron seleccionados 155 sujetos de ambos sexos clínicamente sanos, cuyas edades oscilan entre 11 y 71 años.

El Arsénico presente en los cabellos fue determinado por la técnica de Vasac y Sedivec, previa mineralización por vía húmeda con mezcla sulfuro nítrico perclórica (4:35:1).

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó la metodología no paramétrica de Henry y col. dado que los mismos no se ajustan a una distribución normal de Gauss.

De este modo se obtuvo un valor límite de 1.0 µg/g de cabello, para el 95% de la población estudiada.

No se apreciaron diferencias significativas entre sexos.

#### NIVELES DE VANADIO EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO EN LAS LOCALIDADES DE CERES Y VILLA TRINIDAD (PCIA DE SANTA FE)

Kaczan, E., Scagnetti, J., Buniva, M.A., Mastandrea, C., Grigolatto, R. y Loteste, A.

Cátedra de Toxicología, Farmacia y Química Legal. Facultad de Bioquímica y Cs Biológicas. Univ. Nac. Litoral, C.C.530, 3000-Santa Fe, Argentina.

El vanadio, en la actualidad, es estudiado con gran interés. Resulta un elemento esencial para ciertas especies animales y vegetales. Existiría una correlación negativa entre este elemento y el desarrollo de arteriosclerosis y enfermedades cardiovasculares (Schroeder y col.).

Sin embargo, no hay evidencias suficientes para considerarlo como un elemento traza nutricionalmente esencial para el hombre. La OMS recomienda profundizar los estudios en poblaciones no expuestas laboralmente, en zonas donde esté presente en forma natural en aguas y suelos y por ende pueda incorporarse a la dieta del hombre.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en un primer monitoreo en dos localidades al NO de la Pcia de Santa Fe, teniendo como antecedente niveles de hasta 0.50 mg/L (Biesal, L. y col.) en esa zona. Se muestrearon 20 pozos en zona urbana de la ciudad de Ceres y 10 en Villa Trinidad. Se determinó la concentración de vanadio (según Fishman y Skougstad) y se caracterizó dureza, pH y conductividad.

Los niveles hallados van de 0.048 a 0.50 mg/L. Son relativamente altos frente a los determinados en otras regiones del planeta.

Se plantea la hipótesis de valores aun más elevados, considerando que las muestras fueron tomadas en un período inmediato posterior al pico de lluvias y de anegamientos por escorrentías pluviales provenientes de Santiago del Estero.

En este muestreo no se obtiene una correlación directa entre los niveles de Vanadio y la dureza y el pH. Sin embargo existe una cierta relación con la conductividad determinada en las muestras.

#### DETERMINACION DE LOS NIVELES DE ARSENICO EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO EN LAS LOCALIDADES DE CERES Y VILLA TRINIDAD (PCIA DE SANTA FE)

Kaczan, E., Scagnetti, J., Buniva, M.A., Mastandrea, C., Grigolatto, R. y Loteste, A.

Cátedra de Toxicología, Farmacia y Química Legal. Facultad de Bio-

química y Cs Biológicas Univ. Nac. Litoral. C.U., C.C. 530, 3000-Santa Fe, Argentina.

En los Dptos del NO de la Pcia de Santa Fe, el problema del agua potable reviste caracteres dramáticos, particularmente en las zonas urbanas, donde a la contaminación bacteriana, se suman los altos niveles de arsénico total.

La caracterización de la cuenca ha sido realizada por organismos oficiales atendiendo a la demanda social de contar con una provisión continua y económica de agua potable.

No existe, en cambio, un relevamiento de efectos biológicos en población estable, expuesta por agua de consumo a concentraciones moderadamente altas de As. En este trabajo, se presentan los resultados de la primera etapa de monitoreo.

Se seleccionan 20 núcleos familiares del radio urbano de Ceres y 10 de Villa Trinidad y se determinan los niveles de As en el agua de pozos domésticos. El tenor de As total fluctúa desde "no detectable" a 0.60 mg/L. No existe correlación directa entre la dureza, el pH y la conductividad de las muestras.

En tanto las muestras fueron tomadas en el período inmediato posterior al pico de lluvias y de anegamientos por escorrentías pluviales provenientes de Santiago del Estero, podría inferirse un "efecto dilutor" que se pondría de manifiesto al monitorear en una época de sequía (octubre-diciembre) los mismos pozos.

#### MODIFICACION DE ALGUNOS PARAMETROS BIOQUIMICOS POR EXPOSICION DE MOLUSCOS BIVALVOS A CADMIO O PLOMO

*Verrengia Guerrero, N.R. y Kesten, E.M.*

Toxicología y Química Legal. Depto Qca Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. Pabellón II, 1428 - Buenos Aires.

Bivalvos de la especie *Neocorbicula limosa*, recolectados del Parque Ecológico, Costanera Sur, en la Ciudad de Buenos Aires, fueron sometidos a un tratamiento agudo ( $t=96$  hs) con soluciones de 2.5 ppm de cadmio o 30.0 ppm de plomo. Los bioensayos se realizaron según condiciones estándares de literatura. Se determinaron los niveles de bioacumulación, el contenido de grupos tioles y de glucógeno en el tejido blando total.

Los elementos se cuantificaron por espectrometría de absorción atómica, luego de la digestión de la materia orgánica con ácido nítrico.

Se observó un significativo aumento en la concentración de cadmio, aproximadamente de diez veces en los animales tratados con dicho metal, en relación a los controles o los tratados con plomo. Estos últimos presentaron un nivel de plomo aproximadamente veinte veces mayor que los controles o los tratados con cadmio.

Para la determinación de los grupos tioles totales se aplicó el reactivo de Ellman, sobre una alícuota de homogenato de tejido. El glucógeno se cuantificó en otra alícuota del homogenato por colorimetría con yodo/ioduro, según técnica de la Dra C.R. Krisman, luego de la precipitación del polisacárido.

Los animales tratados con cadmio exhibieron un ligero, pero significativo aumento en la concentración de grupos tioles totales, de aproximadamente el 10%. Por otra parte, los niveles de glucógeno disminuyeron alrededor de un 20%.

En cambio, para los animales tratados con plomo no se observaron diferencias significativas, con respecto a los controles, en los niveles de grupos tioles ni en los de glucógeno, obtenidos por análisis del tejido blando total.

Si bien los dos grupos de animales tratados demuestran una alta capacidad para acumular los elementos metálicos en sus tejidos blandos, solo se han observado modificaciones en los parámetros bioquímicos estudiados en aquellos expuestos al cadmio. Por consiguiente, estos resultados contribuyen a poner en evidencia las diferencias de toxicidad, ya reconocidas, entre ambos elementos.

#### ESTUDIO EXPERIMENTAL DE IMPLANTES DE PLOMO EN RATA WISTAR. 1 - VARIACION DE PARAMETROS BIOQUIMICOS POSTIMPLANTE

*González, D.E., Piñeiro, A.E., Fernández, B., López, C.M., Bengochea, L., Villamil, E.C., Dominguez, A., Perazzo, J.C., Roses, O.E.*

Cátedra de Toxicología y Química Legal. Cátedra de Fisiopatología. Fac. de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 1113-Buenos Aires, Argentina.

Se procedió al implante de 500 mg (2 municiones) de plomo metálico a cada una de 28 ratas Wistar macho: 14 lo fueron en el glúteo (IM) y 14 en el peritoneo (IP). Como controles se utilizaron dos lotes de 7 y 8 animales. Al primero se le implantaron 2 perlas de vidrio similares a los de las partículas de plomo (V); al segundo se lo sometió a cirugía similar a la del primero pero sin realizar implante alguno (C).

A todos los animales se les determinó: plomobemia (PbS); actividad de aminolevulínico dehidratasa (ALA-D); hematóporfirinas (H) y ácido aminolevulínico urinario (ALA-U) previo a las operaciones y a los 30, 60 y 90 días después de realizadas.

Se apreció en los IP un rápido aumento de PbS con posterior descenso, en contraposición a los IM que mantuvieron elevados los niveles durante el estudio.

Como hecho sumamente llamativo se observó marcado descenso de ALA-D en todos los lotes, tendiendo a recuperar valores, en distinto grado hacia el fin de la experiencia.

El ALA-U mostró aumento inicial y posterior caída de valores, en cierta forma acorde con la evolución de los de ALA-D.

Las H mostraron un notable incremento tanto en IM como IP. IM tiende a mantener los valores a través del tiempo en tanto IP lo hace descendiendo hacia valores basales.

Se concluye que ALA-D y ALA-U serían indicadores poco confiables en caso de presencia de partículas de plomo en heridas, tanto en peritoneo cuanto en músculos.

PbS sería un parámetro confiable aún en el mediano plazo sólo si el metal está alojado en un músculo o en forma precoz si lo es en el peritoneo.

H es el parámetro que mejor responde a ambos tipos de implantes (intramuscular e intraperitoneal), pero siempre con respuesta mejor para el primero.

Las técnicas utilizadas fueron: PbS, absorción atómica; H, Piomelli, S. (espectrofluorimetría); ALA-U, Tomokuni, K. y Ogata, M.; ALA-D, Berlin, A. y Schaller, K.H.

#### DETERMINACION DE COBRE EN FRUTAS Y PRODUCTOS CITRICOS.

*Montti, M.T., Gerard, J.A., Chaulet, M.R., Hurtado, C., Tisocco, O., Buffa, M. y Subovich, J.*

Laboratorio de Investigación y Servicios. Facultad de Ciencias de la Alimentación. Universidad Nacional de Entre Ríos. Monseñor Tavella 1450, 3200-Concordia, Entre Ríos, Argentina. Telefax 045-218037.

En el marco del proyecto de investigación "Plaguicidas en productos cítricos" se encuadra la determinación de elementos trazas como cobre. Ya que éste es un elemento natural en los mismos y además un posible contaminante por el uso de fungicidas inorgánicos en tratamientos pre y postcosecha en cítricos. El contenido de cobre en cítricos, juntamente con otros elementos trazas, permite:

- 1) la posible identificación u origen geográfico, teniendo en cuenta la relación y selectividad en los procesos de absorción para los diferentes alimentos y especies de plantas.
- 2) revela las factibles adulteraciones y contaminaciones de los productos cítricos.

El muestreo anual se realiza en diversas variedades de frutas cítricas, jugos simples, concentrados y cremogenados con la colaboración de INTA Concordia y profesionales de la industria cítrica regional.

La técnica para el procesamiento de las muestras es la hidrólisis ácida y posterior determinación por E.A.A. (espectrofotometría por absorción atómica).

Los resultados obtenidos nos permiten establecer y comparar los niveles de cobre en frutas cítricas de la región. Los mismos varían según la época del año y las variedades. El muestreo se realizó para la cosecha 1994 y los valores son para la fruta entera los siguientes (tomándose como referencia los límites máximos de residuos nacionales-IASCAV: 20 mg de cobre/kg fruta).

Los valores medios (en mg Cu/kg) para naranja W Navel fueron 0.944 en fruta testigo, 1.613 en fruta quinta y 1.268 en fruta mercado y para Mandarina Satsuma fueron 0.684, 1.104 y 1.100 en los respectivos tipos de frutos. Los datos estadísticos de Jugos de naranja 11.8 Bx (en mg Cu/kg) son 0.387 en Argentina (Zona Entre Ríos, muestreo 1991-92-93), 0.283 en Brasil, 0.380 en Belize, 0.701 en Florida, 0.714 en México, 0.768 en California y 0.962 en Arizona.

Los datos estadísticos del relevamiento y la transferencia efectiva al sector citrícola e industrial producirá un mejoramiento del producto y calidad de vida poblacional.

#### DETERMINACION DE PLUMBEMIA HUMANA POR DPASV

Coronel, J.E. y Sigrít, M.

Laboratorio Central de Servicios Analíticos. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Sgo del Estero 2654, 6° piso, 3000-Santa Fe, Argentina. Fax (042)20018.

El estudio de la presencia de plomo en el hombre y en el ambiente resulta de primera importancia en nuestro país. El creciente interés de la sociedad en la preservación de la salud, los reclamos hacia el mejoramiento de la calidad de vida, aceleran la búsqueda de soluciones al grave problema de la contaminación ambiental, como así también inducen a mejorar los niveles de prevención de riesgos en el ámbito laboral. En el presente trabajo se presentan los estudios sobre el contenido de plomo en sangre de personas pertenecientes a grupos laborales con riesgo de contaminación, operarios de fabricas de baterías e imprentas gráficas, medidos por Voltimetría de Redisolución Anódica de Pulso Diferencial (DPASV-Differential Pulse Anodic Stripping Voltametry). Esta técnica electroquímica es de uso internacionalmente muy difundido especialmente en la determinación de metales pesados en alimentos, muestras ambientales y otras matrices biológicas. Sobre la base de aplicaciones de este tipo efectuadas en forma estandarizada en nuestro laboratorio, se desarrolló el procedimiento para el dosaje de plumbemia en animales y humanos, empleando digestión por vía seca y medición final por DPASV, con el objetivo de disponer de una técnica alternativa para los niveles sub-ppm, que reduzca los tiempos operativos y se adecue a los trabajos de control intensivo. En el presente trabajo se discuten las condiciones operatorias, la influencia de algunas variables críticas, la reproducibilidad del método empleado y su aplicación al dosaje de plumbemia en personas con distinto grado de exposición. Para las mediciones se emplea un equipo para voltimetría/polarimetría PAR 264 con un electrodo de Gota de Mercurio (DME 303) y plotter registrador. Los valores promedio (VP) y los valores máximos (VM) de plomo en sangre humana expresados en  $\mu\text{g}/100\text{ml}$  y agrupados según la ocupación laboral fueron:

- a) fabrica acumuladores, 16 casos, VP:51, VM:80;
- b) imprenta 1, 29 casos, VP:13, VM:74;
- c) imprenta 2, 28 casos, VP:13, VM:45;
- d) referencias, 4 casos, VP:13, VM:17.

El método empleado constituye una alternativa interesante para este dosaje. El equipamiento es relativamente sencillo y los tiempos de medición voltamétrica son del orden de 15 minutos por muestra. Con el método rutinario establecido se logra un límite de detección de 2  $\mu\text{g}/100\text{ml}$ .

#### MÓVILIZACION NATURAL Y ARTIFICIAL DEL Cd DESDE HIGADO Y RIÑÓN DE ANFIBIO

de la Torre, F., Ferrari, L., d'Huickue, L., Tudino, M., Salibian, A.

Programa de Ecofisiología Aplicada. División Biología. Dpto de Cs. Básicas. Universidad Nacional de Luján, C.C. 221, 6700-Luján; CIC-Bs As; CONICET y FCEyN - Universidad de Buenos Aires.

El Cd es un metal cuya cantidad en biota está aumentando. Desde 1991 en *Bufo arenarum* adulto capturados en su medio natural hemos hallado cantidades mensurables de Cd en los organos blanco. Nuestro objetivo fue comparar el proceso natural de movilización del Cd con el efecto de la administración del antagonista 2, 3-dimercaptopropano-1-ol (BAL). Se utilizaron machos adultos de *B. arenarum* preadaptados durante 7 días a temperatura y fotoperiodo constante (20°C y 12/12 hs) en frascos individuales con agua dulce artificial renovada diariamente. El peso corporal ( $x \pm \text{ESM}$ ,  $n=16$ ) de los sapos fue  $119 \pm 4.3$  g; fueron alimentados una vez por semana con corazón vacuno molido a razón de 0.15 g/kg peso corporal (p.c.). Los animales se agruparon en tres lotes: controles de tiempo inicial (grupo 1) y dos experimentales (grupos 2 y 3). Estos últimos recibieron desde el 20° día 3.5 ml de aceite sésamo (grupo 2) y 350  $\mu\text{M}$  de BAL/kg p.c. disuelto en aceite (grupo 3). Estas cantidades fueron administradas en forma proporcional por inyección i.p. en siete días.

A tiempo inicial y a 27 días se muestreó orina de cada sapo; luego se los desmédulo y se extrajeron muestras de hígado, riñón y heces del último tramo del intestino. Las muestras fueron digeridas en mezcla de  $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4\text{-HClO}_4$  y su contenido de Cd fue determinado por e.a.a. con llama de aire acetileno atomización electrotérmica con horno de grafito. El análisis estadístico se hizo mediante ANOVA de un factor y contrastes múltiples de Tukey ( $p<0.05$ ).

Los resultados (como  $x \pm \text{ESM}$ ) se indican a continuación:

Grupo	hígado	riñón	heces	orina	Cd total Tej.+heces
	( $\mu\text{g Cd/g}$ peso seco)			(ng Cd/ml)	
1	9.8 $\pm$ 1.1	35.2 $\pm$ 2.2	7.7 $\pm$ 2.4	7.0 $\pm$ 2.4	52.7
(n)	(4)	b (4)	(4)	(5)	
2	9.5 $\pm$ 1.6	12.5 $\pm$ 2.4	10.1 $\pm$ 2.1	8.3 $\pm$ 1.0	32.1
(n)	(6)	(5)	(3)	(6)	
3	4.4 $\pm$ 0.7	9.1 $\pm$ 0.9	18.7 $\pm$ 5.2	9.0 $\pm$ 1.9	32.2
(n)	a(5)	(4)	(5)	(5)	

(a) significativo respecto a 1 y 2; b: idem respecto a 2 y 3.

Concluimos que:

- 1) se confirma la presencia de Cd en tejidos de animales provenientes de su ambiente natural;
- 2) al mantener los animales en ambiente libre de Cd durante 34 días se observa una desintoxicación natural que reduce las cantidades totales en 60%;
- 3) dicho proceso ocurre selectivamente en riñón;
- 4) la administración de BAL moviliza selectivamente el Cd hepático que se reduce en 54%;
- 5) las cantidades de Cd movilizadas en ambos procesos se eliminan por heces;
- 6) la orina no parece ser una vía relevante de eliminación del Cd.

Agradecimientos: a la Fundación A. Roemmers y al ICI (V Centenario).

#### ACCION COMBINADA DEL pH Y LA CONDUCTIVIDAD SOBRE LOS EFECTOS TOXICOS DEL CADMIO EN CULTIVOS ALGALES.

García, M.E. y Salibian, A.

Programa de Ecofisiología Aplicada. División Biología. Dpto de Cs

Básicas. Universidad Nacional de Luján, C.C. 221, 6700-Luján; Carrera del Investigador Científico CIC-Bs As y FCN y M. Universidad Nacional de La Plata.

Las características físico-químicas de los métodos de incubación de las algas afectan la toxicidad del  $Cd^{2+}$  en solución por alteraciones en su biodisponibilidad lo que se evaluó mediante bioensayos llevado a cabo con cultivos uniespecíficos de *Scenedesmus acutus*.

Se prepararon dos medios de cultivos: Detmer-Accorinti (pH 7.3) y Detmer tamponado-Tris (pH 7.6). Alícuotas de 100 ml se colocaron en erlenmeyers mantenidos a temperatura constante (20°C) e iluminación continua (5000 lux).

A tiempo inicial se agregó cultivo madre algal en fase exponencial de crecimiento suficiente para tener una densidad aproximada de 100000 cel/ml.

Se agregó el  $Cd^{2+}$  (como cloruro) para obtener concentraciones nominales entre 0.025 y 2 ppm: se corrieron 4 controles. Todos los casos se efectuaron por duplicado. La experiencia duró 14 días con 5 muestreos a intervalos regulares: en cada muestra se determinó el pH, la conductividad y la absorbancia a 700 nm. Los resultados considerados fueron promedios de las lecturas de los duplicados.

El crecimiento de los controles de la serie Detmer fue 64% mayor con respecto al tiempo inicial; el de la serie Detmer-Tris aumento 144%.

En Detmer con 0.05 y 2 ppm  $Cd^{2+}$ , se observó una inhibición del crecimiento algal con un paulatino incremento desde el 6° día hasta el 14° En los tubos conteniendo 0.025 ppm  $Cd^{2+}$  no se observó inhibición.

El mismo fenómeno se observó en Detmer-Tris con 0.05 y 2 ppm  $Cd^{2+}$  a partir del 9° día de incubación, aunque las tasas de inhibición fueron menores con respecto a la serie Detmer, salvo en el caso de 1 y 2 ppm donde la inhibición a tiempo final (día 14) fue similar a la serie Detmer. Durante las incubaciones con y sin  $Cd^{2+}$  y para ambos medios de cultivo, el pH aumentó desde el inicio hasta los días 6-9, para luego disminuir y estabilizarse en un nivel más bajo hasta el final del ensayo. La amplitud de los cambios de menor en Detmer-Tris.

Para ambas series la conductividad se mantuvo con poca variación hasta el 9° día; a partir del día 11 se registró una disminución en todos los casos, inclusive en los controles. Dicho parámetro osciló entre 464 y 508  $\mu S \cdot cm^{-1}$  (Detmer) y entre 3135 y 3380  $\mu S \cdot cm^{-1}$  (Detmer-Tris). Concluimos que en nuestras condiciones experimentales:

- la estabilidad del pH (Detmer-Tris) favorece de manera manifiesta el crecimiento algal, y
- la inhibición debido a la presencia del  $Cd^{2+}$  se manifiesta anticipadamente en Detmer no tamponado con respecto al mismo medio tamponado.

El rango de variaciones de pH permite asegurar que en lo referente al metal los efectos observados, en las dos condiciones de cultivo, han de atribuirse al ion  $Cd^{2+}$  ya que fue la especie química dominante en las soluciones experimentales; además, en dicho rango de cambios de pH en Detmer-Tris el grado de complejamiento debido al Tris puede ser mínimo.

#### TURNOVER DE DOPAMINA EN RATAS EXPUESTAS A BAJAS DOSIS DE PLOMO DURANTE LA GESTACION Y LACTANCIA.

Virgolini, M.B., Minetti, S.A y Fulginiti, A.S.

Depto de Farmacología. Fac. de Cs. Químicas. Univ. Nac. de Córdoba. Córdoba, Argentina.

Trabajos previos realizados en ratas señalan que hijos de madres expuestas a bajas dosis de plomo durante la gestación y lactancia muestran alteraciones conductuales (hipermovilidad y dificultades en el aprendizaje) principalmente en edades tempranas del desarrollo. Con el objeto de estudiar si esas alteraciones podrían atribuirse a modificaciones en el turnover de las monoaminas cerebrales, en el presente trabajo se determinó el "turnover" aparente de dopamina (DA) en cuerpo estriado y núcleo accumbens. Se determinó la velocidad de

desaparición de DA luego del pretratamiento con alfa-metil-p-tirosina (alfa-MT), inhibidor específico de la tirosina hidroxilasa, enzima limitante de la síntesis de DA.

Ratas Wistar de 3-4 meses de edad fueron crónicamente expuestas a una solución de acetato de plomo (0.04 g/L; 22 ppm de Pb) en el agua de bebida durante el período de gestación y lactancia. Las madres controles recibieron agua destilada. Las crías de ambos grupos, en el día postnatal 1 no difirieron en el peso de las camadas ni en el tamaño de las mismas, tampoco se observaron diferencias en la ganancia de peso durante la lactancia. A los 35 días de edad los animales, controlés y experimentales, fueron inyectados con salina o con 30 mg/kg de alfa-MT y sacrificados 2, 3 o 4 hs después. Se extrajeron sus cerebros y se diseccionó el estriado y el accumbens para determinar los niveles de DA por HPLC.

Los resultados demuestran que, en núcleo accumbens, la velocidad de desaparición de DA fue significativamente menor en los animales experimentales en relación con los controles lo cual indicaría un menor "turnover" de DA en esta estructura. En estriado, la caída en los niveles del neurotransmisor fue similar en ambos grupos de animales.

Los resultados se discuten considerando que este cambio podría estar involucrado en las alternativas conductuales observadas.

#### RELACIONES CADMIO-ZINC EN *Phocoena spinipinnis* Y *Orcinus orca*.

Gerpe, M., Moreno, V., Rodriguez, D. y Bastida, R.

CONICET. Universidad Nacional de Mar del Plata y Fundación Mundo Marino. Funes 3350, 7600-Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Durante los últimos años ha habido un creciente interés en el estudio de metales pesados en mamíferos marinos. Dentro de estos contaminantes hay metales esenciales como el zinc y otros que no lo son, el cadmio. Estos últimos pueden interactuar con macronutrientes y metales esenciales, llegando a sustituirlos o interferir en sus funciones. Estas interacciones se deben a las similitudes químicas entre elementos. Tanto en los sistemas biológicos como en el medio abiótico, se suelen presentar duplas de elementos que interactúan. Un ejemplo es la relación cadmio-zinc, la cual fue objeto de estudio en este trabajo. Para lograrlo se realizó el análisis de ambos metales en distintos tejidos de dos especies de mamíferos marinos: *Phocoena spinipinnis* (marsopa espinosa) y *Orcinus orca* (orca).

Las determinaciones de los niveles de cadmio y zinc se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica con llama de aire/acetileno, con previa digestión ácida.

Las concentraciones de cadmio en las dos especies fueron cercanas o inferiores al límite de detección, a excepción del riñón e hígado. En el tejido renal los niveles fueron 1.05 ppm para *Orcinus orca* y 4.55 para *Phocoena spinipinnis* y en el hepático 0.21 ppm y 0.23 ppm respectivamente. En orca, las concentraciones más altas de zinc se encontraron en músculo (22.37 ppm) y la más baja en grasa (0.13 ppm). En marsopa espinosa, los niveles más altos también fueron en el músculo (18.95 ppm) y en el hígado (19.21 ppm), siendo no detectables las concentraciones en el tejido graso.

Las concentraciones en hígado y riñón se deben a la importante actividad metabólica de ambos, la cual los transforma en acumuladores de metales esenciales y no esenciales. Además, la presencia de metalotioneínas en ambos órganos aumentan esa capacidad concentradora. Por último es de destacar la importancia de estos datos, no sólo por el conocimiento de la distribución de metales en especies de mamíferos marinos, sino también por la utilidad de estos organismos como indicadores de contaminación.

#### CADMIO EN MATERIA PRIMA CARNICA DE DISTINTAS ESPECIES ANIMALES.

Beldoménico, H.R., Campagnoli, D.U. y Musante, D.

Laboratorio Central de Servicios Analíticos. Facultad de Ingeniería

Química. Universidad Nacional del Litoral. Sgo del Estero 2654, 6° piso, 3000-Santa Fe, Argentina. Telefax (042)20018.

El Cadmio es uno de los elementos difundidos en la naturaleza que presenta riesgos de intoxicación al ser humano, tanto en forma aguda como en exposiciones a bajas concentraciones. En el hombre se acumula en algunos órganos (corteza renal y otros) de manera que con ingestas no muy excesivas (del orden de 130 µg Cd/día) se pueden alcanzar niveles suficientes para provocar disfunciones observables a los 50 años de vida.

Las principales fuentes de ingreso de Cadmio al organismo son la dieta y el hábito de fumar (el humo de cigarrillo contiene cantidades apreciables de este elemento). El mismo se encuentra naturalmente distribuido en pequeñas concentraciones en el suelo, aire, agua y biosfera, distribución que se puede alterar por las movilizaciones producidas por la actividad de muchas industrias (minería, metalúrgica, etc.) y por fenómenos atmosféricos naturales. Estos factores influirán en el tenor de Cadmio encontrado finalmente en los alimentos.

Por ello se han establecido internacionalmente límites tolerables para la ingesta total de Cadmio, que oscilan entre 400 y 500 µg de Cd por semana y en las últimas décadas se han incrementado los esfuerzos para evaluar y controlar el nivel de Cadmio en los alimentos, conduciendo a las medidas preventivas o correctivas que correspondieran en resguardo de la salud poblacional.

En los alimentos derivados de animales el contenido de Cadmio varía con la especie, el tejido, el tipo de alimentación del animal y el grado de contaminación externa del ambiente en que se desarrolló.

El presente trabajo describe los estudios efectuados sobre el nivel de Cadmio en tejidos (hígado, riñón y músculo) de especies animales cuyas carnes se utilizan en alimentación humana y que constituyen rubros de importancia en el comercio de exportación de nuestro país. Las especies estudiadas son bovinos, equinos y aves (pollos).

El estudio de bovinos es representativo de la situación de todas las zonas productivas de carne del país, y corresponde a los muestreos oficiales del programa nacional de control de residuos químicos en carnes desarrollado por nuestro laboratorio con la coordinación del organismo de control sanitario nacional (SENASA) y la auditoría del organismo control de Estados Unidos (USDA-FSIS).

Los valores obtenidos para el caso de bovinos reflejan niveles bajos de concentración (promedio 0.17 ppm para riñón que es el de mayor nivel) siendo los mismos equiparables a los valores de referencia, dados por la bibliografía, correspondientes a muestreos de zonas libres de contaminación. Estos niveles resultan también muy diferenciados de los obtenidos en estudios similares efectuados en países con mayor grado de industrialización (por ej. 0. ppm promedio para riñón bovino en USA).

El estudio en equinos responde a muestras obtenidas de establecimientos de exportación a la CCE, observándose la importante particularidad en esta especie de presentar valores relativamente altos, sobre todo en riñón (superan las 30 ppm en algunos casos). Esta acumulación de Cadmio aumentada con respecto a otras especies puede asociarse con la forma de alimentarse del animal (que aumentaría el ingreso de Cadmio por ingerir pasto con una proporción de raíces y suelo) o por una mayor susceptibilidad de la especie al elemento, cuestión que es motivo de estudios posteriores.

#### NIVELES DE PLOMO EN EL AIRE DE LA CIUDAD DE ROSARIO.

*Birocco, M.C., Fernández, S.G. y Coria, I.*

Facultad Católica de Química e Ingeniería. Pontificia Universidad Católica Argentina.

La presencia de plomo en el aire de las ciudades, provenientes de los escapes de los automotores que utilizan naftas con aditivos en base a este elemento es un preocupación mundial sobre todo en lugares de alta densidad de tránsito vehicular.

La Dirección General de Política Ambiental de la Municipalidad de Rosario, conocedora de los efectos tóxicos que sobre la población en general tiene la inhalación de partículas de plomo suspendidas en el aire urbano, encaró la evaluación de los niveles de plomo en el aire de la ciudad mediante un Convenio con la Facultad Católica de Química e Ingeniería (UCA), a la cual confió las distintas etapas del proceso de obtención de resultados, que permitieran servir de base a una futura legislación sobre el tema, hoy inexistente en el Municipio de Rosario. Las etapas de muestreo en el microcentro de la ciudad, análisis posterior en los laboratorios de la Facultad y evaluación estadística de los resultados, se cumplieron de acuerdo a un cronograma elaborado en conjunto con la Dirección General de Política Ambiental, cumpliendo los plazos fijados en el Convenio.

El nivel de plomo promedio durante el período analizado y para el microcentro de la ciudad de Rosario fue de 0.416 µg/m<sup>3</sup>. La Organización mundial de la Salud recomienda mantener en las ciudades valores entre 0.5 y 1 µg/m<sup>3</sup>, por lo que los valores encontrados están en el orden de 10 veces menos que lo recomendado.

El muestreo realizado fuera de la zona céntrica indica niveles de plomo similares a la misma, pero debe establecerse que los datos son escasos para realizar un análisis definitivo.

#### DETERMINACION DEL trans-trans ACIDO MUCONICO POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION.

*Giolito, I.R., García, C.A. y Girolami, H.R.*

Instituto de Estudios Bioquímicos. Mendoza 1180, 2000-Rosario. Argentina.

El propósito del presente trabajo es presentar un método para la determinación del trans-trans ácido mucónico (ttMA) en orina, por Cromatografía Líquida de Alta Presión con detección ultravioleta. El ttMA es un metabolito de oxidación del Benceno, este solvente ha sido clasificado como carcinógeno tipo I por IARC.

Se prepararon soluciones patrones del ttMA, utilizando el ácido vanílico (VA) como standard interno. Se realizó una curva de calibración con concentraciones: 0.025; 0.05; 0.075; 0.1; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mg/ml. Mezclas de soluciones acuosas de ttMA/VA fueron pasadas por columnas de resina de intercambio aniónico (Dowex 1) previamente activadas. La eluciones se realizaron con una mezcla de Metanol: cloruro de sodio 1.5M (1:1). Se inyectó 15 µL de cada eluato en el cromatógrafo. Se utilizó un Cromatógrafo Líquido de Alta Presión Hewlett-Packard serie 1050, cuaternario, con detector UV a 265 nm, con columna de fase reversa Hypersil C18 (ODS) 25 x 4.6 mm 5 µL, con integrador HP 3396 serie II. La fase móvil fue A: Buffer Acetato de sodio 5 mM pH 3.5: Metanol: agua (45:5:50) a tiempo 0 min a flujo 1.0 ml/min y B: Buffer Acetato de sodio 5 mM pH 3.5: Metanol (90:10) a tiempo 10 min a flujo 1.5 ml/min.

Se recolectaron muestras de orina de 20 personas no expuestas al Benceno previa acidificación de las mismas y se conservaron a -20°C, las cuales fueron procesadas de igual forma que las soluciones acuosas.

El analito (ttMA) y el standard interno (VA) fueron identificados por el tiempo de retención y cuantificados por el método de standard interno, lográndose la separación y resolución cromatográfica en un tiempo inferior a 25 minutos. El límite de detección fue de 100 pg y la curva de calibración fue lineal para el intervalo de concentraciones de 0.025 a 2.5 mg/L. La recuperación de la mezcla ttMA/VA fue del 90-93%.

En el caso de las orinas a las que se le adicionó VA y ttMA, se obtuvo una recuperación entre el 85 a 91%. Los resultados se expresaron en mg/L. Las concentraciones de ttMA halladas en personas no expuestas (n=20) fueron menores a 0.33 mg/L.

Conclusión: La sensibilidad del método permite aplicarlo al control de personas expuestas al Benceno y el ttMA es un indicador biológico para el riesgo a exposición al mismo. Este estudio puede ser realizado en orinas ocasionales expresando los resultados en mg/g de Creatinina tanto al inicio como a la finalización de la jornada laboral.

### MONITOREO DE NIVELES PLASMATICOS DE HALOPERIDOL POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION.

Giolito, I.R., García, C.A. y Girolami, H.R.

Instituto de Estudios Bioquímicos. Mendoza 1180, 2000-Rosario. Argentina.

El objetivo del presente trabajo es proponer un método sencillo y rápido para la cuantificación del Haloperidol en plasma por Cromatografía Líquida de Alta Presión.

Las muestras de sangre se extrajeron con heparina a pacientes sometidos a tratamiento con Haloperidol. Las extracciones se realizaron a los diez días de haber comenzado el tratamiento. En cada caso se separó 1 ml de plasma, el cual fue sometido a la extracción en fase sólida con columnas de fase reversa C<sub>8</sub>, el solvente de elusión utilizado fue una mezcla de isopropanol: cloruro de metileno:hidróxido de amonio (20:80:0.5). El eluato obtenido se evaporó en baño a 60°C con chorro de nitrógeno; el residuo se retomó con 50 µL de fase móvil. Para la separación cromatográfica se usó una columna fase reversa Hypersil CPS 5u (250 mm x 4.6 mm); como fase móvil se usó una mezcla compuesta de Buffer Fosfato 50 mM/Acetonitrilo (1:2) a un flujo de 1.2 ml/min. Se utilizó una curva de Haloperidol como standard externo cuyo rango de concentración fue de 2.5:5:10:20 ng/ml en igual matriz biológica. Se utilizó un Cromatógrafo Líquido de Alta Presión Hewlett-Packard mod. 1050, isocrático, y detector ultravioleta de longitud variable a una longitud máxima 254 nm. El volumen de inyección fue 15 µL.

El tiempo de desarrollo cromatográfico fue de 8 minutos. No se presentaron interferencias con otras drogas psicoactivas: clorpromazina, tioridazina, trifluoperazina, imipramina, amitriptilina, carbamacepina, fenitoína, desipramina, alprazolam, fluoxetina, clonazepam. El límite de sensibilidad fue menor de 1 ng/ml.

El método propuesto resulta ser una determinación simple, rápida y útil en el seguimiento terapéutico de pacientes psiquiátricos, donde las concentraciones plasmáticas óptimas son distintas para diferentes síndromes patológicos y distintos grupos etarios.

### TOXICIDAD AGUDA DE EXTRACTO DE FRUTOS DE *Nelia azedarach* L. EN RATAS.

Carpinella, M.C., Palacios, S., Fulginiti, A., Britos, S., y Alonso, R.A.

Centro de Química Aplicada y Departamento de Farmacología, Fac. de Cs. Qcas. Universidad Nacional de Córdoba. C.C. 16, Córdoba, Argentina.

*Nelia azedarach* L. es un árbol muy difundido en nuestro país, conocido con el nombre de "Paraíso".

Sus frutos presentan triterpenoides, con propiedades pesticidas (insecticidas y fungicidas).

En el presente trabajo se estudió la toxicidad aguda, mediante la determinación de la LD50, por vía oral e intraperitoneal de un extracto etanólico del fruto maduro entero.

Se usaron ratas Wistar de ambos sexos, de 3-4 meses de edad, entre 150-300 g, todas ellas con libre acceso a agua y comida, excepto 24 horas antes y 12 horas después de la administración.

Por vía oral se administró hasta 16 g/kg (límite de solubilidad del extracto). Con las diferentes dosis administradas no se observó sintomatología alguna. Por vía intraperitoneal, la LD50 fue de 1.41 g/kg. Los síntomas más relevantes desarrollados por los animales antes de morir (entre 40 minutos y 48 hs post-administración fueron: piloerección, hipotermia, temblor, disnea y convulsiones. El análisis anatómico-patológico de los diferentes órganos (corazón, pulmón, hígado, bazo, riñón) reveló congestión sanguínea difusa en todos ellos, siendo más intensa en el pulmón, con coágulos en numerosos vasos sanguíneos pequeños, en el parénquima una intensa congestión de los tabiques con edema y extravasación eritrocitaria a los espacios alveolares fue observada. La lesión fue similar al edema agudo de pulmón.

### INTOXICACIONES MULTIPLES CON METANOL POR VINOS ADULTERADOS.

Wamba, Z., Stoichevich, S. y Stoichevich, M.

Laboratorio de Toxicología. Poder Judicial de la Pcia de Buenos Aires. Calle 41 entre 119 y 120, 1900-La Plata, Argentina.

Estudiamos los vinos adulterados, sangre y vísceras de 47 víctimas fatales (19 en febrero/93 y 28 en septiembre de 1993), por ingestión de vino blanco conteniendo entre 4.5-5.5 ml% de metanol. Se dosaron metanol y etanol en 160 intoxicados internados con seguimiento de su terapia etílica.

En los muertos se cuantificó metanol y su metabolito ácido fórmico en sangre y en distintos órganos por separado, empleando cromatografía en fase gaseosa, técnica de "head space", transformación en formiato de metilo del ácido fórmico.

Se hallaron en sangre valores de metanol de hasta 3.40 g%. De ácido fórmico en sangre y vísceras de hasta 0.75 g%. Correlaciones entre valores hallados, tiempo de sobrevida, tratamiento, etc.

### OXIDO DE ETILENO: ESTUDIO DE MARCADORES BIOLOGICOS EN PERSONAS OCUPACIONALMENTE EXPUESTAS.

Gadano, A., López Nigro, M., Di Carlo, M.B., Gasparini, S., Campos, S., Negri, G. y Carballo, M.

Depto Bioqca Clínica. Fac. Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956, 1113-Buenos Aires, Argentina.

El Oxido de Etileno (OE) es un agente esterilizante que posee propiedades alquilantes en sistemas biológicos.

En el presente trabajo se trata de evaluar la sensibilidad de parámetros biológicos en la evaluación del daño producido por el OE en 12 técnicos de una central de esterilización (cada uno de ellos con sus correspondientes controles).

Entre los marcadores biológicos determinados, se encuentran: hemograma; electroforesis de Hb; proteinograma electroforético; hepatograma, incluyendo, fosfatasa alcalina total y lactato deshidrogenasa. Así mismo, se determinó el índice mitótico (IM) y la cinética de proliferación celular (CPC) en preparados obtenidos de cultivo de linfocitos de sangre periférica. También se realizó el fraccionamiento de la fosfatasa alcalina, encontrándose fracción placentaria en 6 de los individuos expuestos y en 1 del grupo control (mujer embarazada). Los estudios citogenéticos revelan una inhibición del IM y una interacción directa del OE con el material genético, mostrando un retraso en el CPC.

Estos resultados muestran la importancia de un biomonitorio de las poblaciones expuestas a un agente tóxico como el OE.

### EL ROL DE LOS CENTROS DE INTOXICACIONES EN LAS INTOXICACIONES MASIVAS.

Mandolesi, G., Cargnel, E. y Albiano, N.

Unidad de Toxicología, Htal de Niños R. Gutiérrez. Gallo 1330, Buenos Aires, Argentina.

Frente a las intoxicaciones graves y de carácter masivo que acontecieron en los dos últimos años en nuestro país (dietilenglicol en propóleo, alcohol metílico en vinos, etc.) los Centros de Intoxicaciones tuvieron que ofrecer una respuesta eficaz, sin contar desde un comienzo con información oficial.

Ante la posibilidad de la repetición de estos hechos y dado los escasos mecanismos de control que permiten supervisar toda la producción y distribución de los productos medicinales y/o alimentarios es imprescindible readequar los sistemas de comunicación hacia y desde los Centros de Intoxicaciones para pesquisar e implementar las medidas adecuadas que ayuden a circunscribir y brindar solución al problema. Esto requiere un proceso de transformación, proponiendo un sistema de redes para la pronta detección de estos sucesos. En líneas generales, estas redes deben contar con un Efecto Central, Efectores Periféricos,

notificadores, correspondiendo a c/u una tarea específica, y utilizando los medios de comunicación actuales lograran una mejor interrelación que permitirá una optimización del servicio que se brinda. Se hará hincapié en el rol que debería desempeñar la ATA.

#### **CARACTERISTICAS DE LAS CONSULTAS POR ALIMENTOS REALIZADAS EN LA UNIDAD DE TOXICOLOGIA DEL HOSPITAL DE NIÑOS "R. GUTIERREZ" DE BUENOS AIRES, EN EL AÑO 1993.**

*Albiano, N.F., Barlotti, M. y Di Biase, L.P.*

Unidad de Toxicología, Hospital de Niños R. Gutiérrez. Gallo 1330, Buenos Aires, Argentina.

La Unidad de Toxicología, Hospital de Niños R. Gutiérrez de Buenos Aires, recibió durante el año de 1993 un total de 34735 consultas. De ellas 1345 (3.9%) corresponden a las efectuadas por alimentos. En el poster se analizan las características de estas últimas, realizadas entre enero de 1993 y enero de 1994. Las variables observadas son: distribución por sexo y edad, tipo de alimento involucrado, presencia de síntomas e indicación de tratamiento, quien realizó la consulta y el lugar de procedencia. También se tuvo en cuenta si la intoxicación afectó a una sola persona o si los involucrados fueron varios. La mayoría no presentó síntomas de enfermedad. Los cambios en las características organolépticas de los alimentos advierten del riesgo y permiten que la consulta sea efectuada con rapidez.

#### **INTOXICACION POR ORGANOFOSFORADOS. ANALISIS ESTADISTICO DE 15 AÑOS DEL CENTRO NACIONAL DE INTOXICACIONES.**

*García, S., Voitzuk, A., Llorens, M.R. y Curci, O.*

Centro Nacional de Intoxicaciones, Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. Avenida Marconi e Illia, 1706-Haedo Norte, Buenos Aires, Argentina.

Se analiza la estadística de pacientes internados con plaguicidas inhibidores de colinesterasas, en el Hospital Posadas, entre el segundo semestre de 1979 y el primer semestre de 1994.

El objetivo de este estudio fue el aumento significativo observado a partir de 1991 de la incidencia de dicha intoxicación.

Se presentan los datos de 194 historias clínicas, correspondientes al total de pacientes registrados e internados. Los mismos se discriminan por sexo, edad, tipo de intoxicación, vía de ingreso, tipo de plaguicida, tiempo transcurrido entre la exposición y la consulta, clínica, valor de la colinesterasa, tratamiento y mortalidad.

Se concluye que el aumento observado en las consultas se debió sustancialmente a intoxicaciones con un hormiguicida de la "Línea Jardín", que contiene Cloropyrifos cuya fórmula se modificó en 1990. Este cofa produce un cuadro clínico y de laboratorio característicos, que se analizan en el trabajo.

#### **INTOXICACIONES AGUDAS GRAVES EN ADULTOS.**

*Voitzuk, A., García, S. y Curci, O.*

Centro Nacional de Intoxicaciones, Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas. Avenida Marconi e Illia, 1706-Haedo Norte, Buenos Aires, Argentina.

Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes adultos internados en la Unidad de Terapia Intensiva del Hospital Posadas, por causas tóxicas en los últimos 10 años (1983-1993). El objetivo del mismo fue evaluar las causas de intoxicaciones más comunes y la mortalidad de las mismas. El total de pacientes 238, se presentan discriminados por sexo: mujeres 146 y hombres 92, edad, tóxicos: psicofármacos, otros medicamentos, plaguicidas, ácidos, alcoholes, gases, picaduras, bromato de potasio y tipo de intoxicación: suicida, accidental, iatrogena y UID. Se analizan particularmente las intoxicaciones con psicofármacos y plaguicidas ya que la incidencia de las mismas corresponde al 80% de los internados.

Se analiza la mortalidad del total de los pacientes, ajustada por sexo, edad, causa, tóxico y si la misma se debió a causas intrínsecas del tóxico o por complicaciones secundarias.

Se comparan estos datos con la mortalidad general de la UTI concluyendo, que el número de pacientes intoxicados y la mortalidad de los mismos es de 6.2% y 1.8% respectivamente, respecto a otras causas de internación en este UTI.

#### **EFFECTOS DEL ETANOL Y CALCIO ANTAGONISTAS SOBRE EL MOVIMIENTO ESPONTANEO DE ROEDORES.**

*López, C.M., Rodríguez Girault, M.E., Quiroga, P.N. y Roses, O. E.*

Cátedra de Toxicología y Química Legal. Fac. Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956, 7° piso, 1113-Buenos Aires, Argentina.

El Etanol (ET) produce en los animales de experimentación y en el hombre, distintos efectos comportamentales que se han relacionado con los procesos de neurotransmisión en el sistema nervioso central. Dado que el ión calcio juega un rol importante en la liberación de los neurotransmisores, se ha estudiado la interacción entre ET y dos calcio-antagonistas: Nifedipina (N) y Verapamil (V), en pruebas de "open field". Ratonés Swiss machos, de  $30 \pm 2$  g recibieron oralmente 2g/kg de ET y 75 mg/kg de c/u de las drogas; fueron divididos en seis lotes: Control (c), ET, N+ET, V+ET, N y V, analizándose el comportamiento basal y después de 50 minutos de la administración de las sustancias. Se observó una disminución de la motilidad de todos los grupos experimentales con respecto al basal, obteniéndose el mayor porcentaje en los lotes que recibieron V+ET (-90%) y N+ET (-70%).

Esto sugiere que los cambios comportamentales provocados por el alcohol pueden estar mediados, al menos en parte, por una acción de éste sobre los canales del calcio.

#### **EFFECTO INHIBITORIO DE LA CICLOFOSFAMIDA (CP) SOBRE LA ACETILCOLINESTERASA (AcChe) ERITROCITARIA HUMANA.**

*Villamil, E., Roses, O., Lopez, C. y Ochoa, C.*

Cátedra de Toxicología y Química Legal. Fac. Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956, 1113-Buenos Aires, Argentina.

Sobre eritrocitos humanos hemolizados se determinó la actividad de la AcChe a seis concentraciones (47.1 a 2.4  $\mu$ M) de sustrato (Acetilcolina) en ausencia o presencia de CP (0. a 1.0 mM).

En presencia del inhibidor la enzima se incubó durante 5 minutos a 37°C y luego se determinaron las actividades enzimáticas utilizando el método de Ellman.

Los resultados fueron obtenidos a partir de 9 ensayos independientes. El contenido de proteínas en el hemolizado fue estimado según el método de Lowry.

Para determinar la Km y si la inhibición era o no competitiva, se usó el método de Lineweaver-Burke.

Para determinar Ki y Ki se usaron los gráficos de 1/Vmáx vs CP y las pendientes de las curvas de Lineweaver-Burke vs CP respectivamente. Se encontró que la (CP) inhibe a la AcChe humana en concentraciones de 0.1 a 1.0 mM produciendo inhibiciones de un 14 a 51%. El tipo de inhibición es no competitiva, hallándose un valor de Km para la AcChe de  $5.2 \pm 0.1$   $\mu$ M, un valor de Ki de  $0.40 \pm 0.05$  mM y un valor de KI de  $1.06 \pm 0.05$  mM.

Dado que  $K_i < K_I$  predomina una inhibición no competitiva. Contradice lo hallado por otros autores referente a la AcChe en presencia de CP en cerebro de pollo.

#### **INTOXICACION MASIVA CON METANOL EN LA CIUDAD DE GUALEGUAYCHU.**

*Goldaracena, C.A., Piaggio, R.E., Piaggio, R.L. A., Taus, M.R., Raffo, A. y Shapiro, D.*

Facultad de Bromatología. Universidad Nacional de Entre Ríos. IN. DA.BI. Instituto de Análisis Bioquímicos. Urquiza 934, 2820 - Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina.

En el mes de febrero de 1993 salieron a la venta en el mercado argentino vinos que contenían elevadas cantidades de Alcohol Metílico. La comercialización de estos vinos originó en nuestra ciudad una importante intoxicación en la cual fallecieron cuatro<sup>(4)</sup> personas.

El total de casos estudiados fue de cuarenta y tres<sup>(43)</sup>, veintinueve<sup>(21)</sup> pacientes fueron internados en el Hospital Centenario Local, dos<sup>(2)</sup> de ellos fallecieron, veinte<sup>(20)</sup> fueron atendidos en consultorios externos y dos<sup>(2)</sup> murieron antes de recibir atención médica.

En el trabajo realizado se revisaron las historias clínicas de los pacientes atendidos por consultorios externos.

Se efectuaron dosajes en metanol en sangre de casi la totalidad de los pacientes atendidos, se analizaron varios parámetros: edad, sexo, ingesta de vino, tiempo de latencia, sintomatología, tratamiento, evolución, respuesta al tratamiento, relacionándolos con la concentración sanguínea de metanol, encontrándose en general coincidencias con las citas bibliográficas existentes.

El método usado para la determinación de metanol fue la Microdifusión según la técnica de Feldsten y Kledshoj.

Observamos algunos datos que mencionaremos y que pueden significar un aporte para el estudio de la intoxicación metílica:

- algunos pacientes con elevada concentración de metanol, mayores de 0.25 g/L, se presentaban asintomáticos. El interrogatorio posterior nos indicó que además del vino contaminado habían ingerido también importantes cantidades de otras bebidas alcohólicas con las que realizaron su propia etil-terapia;
- muchos trabajos sobre intoxicación por metanol indicaban la irreversibilidad de las lesiones oculares (Amaurosis). Sin embargo dos<sup>(2)</sup> pacientes con tratamiento de etil-terapia y uno<sup>(1)</sup> sin tratamiento que presentaban Amaurosis al principio de la intoxicación lograron una recuperación parcial de la visión;
- el tratamiento usado en la mayoría de los pacientes fue la etil-terapia, pese a presentar algunos de ellos concentraciones de metanol en sangre superior a 0.5 g/L, indicadores de hemodialisis, igualmente la mayoría evolucionó en forma favorable.

Con datos complementarios se estudiaron varios vinos traídos por pacientes o sus familiares en los cuales se comprobó la existencia en cantidades muy superiores a las permitidas por el Código Alimentario Argentino.

#### INTOXICACION POR ALIMENTOS CONTAMINADOS CON *Salmonella enteritidis*.

Zaglia, B., Bertolotti, A., Soler, R., Misiko, R., Uriz, S.  
y Rossi Bilbao, J.

Laboratorio Central de Salud Pública de la Pcia de Buenos Aires.  
Depto Bromatológico. División Microbiología Alimentaria.

Resumen: El presente trabajo es un informe sobre el hallazgo en alimentos de *Salmonella enteritidis* en una intoxicación con 111 afectados, 70 de los cuales fueron hospitalizados. Efectuadas las investigaciones microbiológicas de los alimentos posiblemente responsables, se comprueba en 2 de ellos la presencia de *Salmonella enteritidis*. Se investigó el origen de la contaminación, proviniendo la misma de huevos adquiridos en la zona.

Se tomaron las medidas sanitarias habituales, en relación con la etiología comprobada.

#### ESTUDIO DE GENOTOXICIDAD EN UNA MEZCLA COMPLEJA DE ORIGEN ALIMENTARIO: EXTRACTOS DE YERBA MATE.

López, L. y Moreton, J.

Cátedra de Higiene y Sanidad. Fac. Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956, 1113-Buenos Aires, Argentina.

Los estudios de genotoxicidad de mezclas complejas con composición no definida deben encararse, de ser posible, empleando varios sistemas biológicos a fin de evitar falsos resultados negativos.

En el presente trabajo se han realizado determinaciones de daño genético inducido por fracciones hidrosolubles obtenidas de muestras comerciales de yerba mate. En esta primera etapa del estudio se emplearon dos sistemas bacterianos para detección de genotoxicidad. El ensayo de Ames, el más empleado a nivel internacional, que permite determinar mutagenicidad en cepas de *Salmonella typhimurium* y el ensayo de daño reparación de ADN en *Bacillus subtilis* (ensayo rec) que detecta lesiones inespecíficas en el genoma.

Las muestras se tomaron de dos productos que se comercializan en Buenos Aires y se sometieron a extracción tres veces con agua a 80°C. Cada extracto fue estudiado en forma directa, por separado, en cada sistema biológico empleando la técnica descrita por los autores de los mismos. En el test de Ames se empleó activación microsomal con fracción S9 de hígado de rata.

Los resultados obtenidos mostraron ausencia de efectos genotóxicos detectables por el sistema Ames. En el ensayo rec una de las muestras fue positiva en la determinación de la eficiencia de plaqueo comparativa entre la cepa parental rec+ y la mutante rec-de *B. subtilis*.

Estos resultados señalan la inducción de un daño inespecífico sobre la molécula de ADN que al no generar una respuesta mutagénica no se detecta con el ensayo de Ames.

Futuros estudios con sistemas de células eucariontes permitirán caracterizar la lesión al genoma.

#### GENOTOXICIDAD DE LIQUIDOS RESIDUALES DE UNA INDUSTRIA GRAFICA.

Vazquez, M.A., López, L. y Moreton, J.

Cátedra de Higiene y Sanidad. Fac. Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Junin 956, 1113-Buenos Aires, Argentina.

El objetivo de este trabajo fue determinar la contribución de los efluentes de una industria gráfica al efecto genotóxico detectado previamente por los mismos autores, en ríos de la zona del Gran Buenos Aires que recibieron distintos tipos de aguas contaminadas.

Se seleccionó para este estudio una industria gráfica mediana, ubicada en Capital Federal, que cumple con las normas vigentes para eliminación de residuos líquidos. Estos son en parte tratados para vaciarlos en el colector cloacal y en parte almacenados en tanques de los que se retiran periódicamente para someterlos a otros tratamientos.

Se tomaron muestras de agua de las cámaras de pretratamiento y de toma de muestra que se pasaron a través de resina XAD2. Las resinas fueron luego eluidas secuencialmente con éter etílico y metanol. Los solventes se evaporaron a presión reducida y el residuo se resuspendió en dimetilsulfóxido para su ensayo biológico. Las muestras de agua no eliminada a cloacas se ensayaron en forma directa, luego de una filtración esterilizante.

Los estudios de genotoxicidad se realizaron con el sistema de *Saccharomyces cerevisiae* D7, dado que el empleo de otros sistemas microbianos no fue posible debido a la alta toxicidad de las muestras.

Los resultados obtenidos mostraron incrementos significativos en las frecuencias de conversión génica mitótica y reversión génica inducidas por los distintos extractos y las muestras de agua cruda, aun empleando diluciones. En estas condiciones puede decirse que estos efluentes representan un riesgo para la biota del curso de agua receptor de los mismos.

#### ALTERACIONES TOXICOLÓGICAS PRODUCIDAS EN RATAS POR EL PLASTIFICANTE DI-2-ETIL HEXIL FTALATO (DEHF).

Mocchiutti, N., Giangressi, G.C. y Lombardo, Y. A.

Dpto de Ciencias Biológicas. Facultad de Bioquímica y Cs Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. Pje "El Pozo" C.C. 530, 3000 - Santa Fe, Argentina.

Existen numerosos ésteres del ácido ftálico que se emplean industrialmente para conferir flexibilidad y ductilidad a los plásticos de vinilo, siendo el DI-2-Etil hexil Ftalato (DEHF) el más empleado en la pro-

ducción de elastómeros destinados a la fabricación de recipientes que contienen alimentos dado que el DEHF no se encuentra químicamente unido a la matriz polimérica del plástico, puede ocurrir la liberación o lixiviación del mismo a la sustancia que contacta con el recipiente, lo que determina una exposición potencial para el hombre si se tiene en cuenta la gran aplicación y producción de elementos plásticos para envasar y/o almacenar alimentos.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar en animales de experimentación algunas alteraciones toxicológicas producidas por el DEHF adicionando al alimento standard de laboratorio.

Se emplearon ratas machos de la cepa Wistar que al alcanzar un peso inicial de  $117 \pm 3$  g fueron agrupadas aleatoriamente en 2 lotes experimentales: DEHF 0.5% (dieta standard de laboratorio suplementada cada 100 g con 0.5 g DEHF durante 90 días), DEHF 2% (dieta standard de laboratorio suplementada cada 100 g con 2 g DEHF durante 21 días) y 2 lotes controles que recibieron exclusivamente la dieta standard en sus tiempos respectivos. Durante la experiencia se registró la evolución del peso de los animales. Conocido el efecto hipolipemiente del DEHF se cuantificó al final de las experiencias el contenido de triglicéridos (TG) y colesterol en plasma e hígado. Además se determinó la velocidad de secreción hepática de triglicéridos al plasma en el lote DEHF 2%.

Los resultados obtenidos muestran un significativo retardo en el crecimiento solo en el lote DEHF 2%, con presencia de hepatomegalia en ambos lotes experimentales respecto a sus controles (DC). Disminución de los niveles de TG plasmáticos ( $X \pm SEM$ , mM; DEHF 2%  $0.36 \pm 0.06$  vs  $0.56 \pm 0.08$  en DC,  $p < 0.01$  y DEHF 0.5%  $0.28 \pm 0.03$  vs  $0.57 \pm 0.05$  en DC,  $p < 0.01$ ). Aumento en el contenido hepático de TG y de colesterol en el lote DEHF 2% (TG,  $\mu\text{mol}/\text{organo}$ ;  $120 \pm 869 \pm 5$  en DC,  $p < 0.001$  y colesterol,  $\mu\text{mol}/\text{organo}$ ;  $156 \pm 5$  vs  $113 \pm 5$  en DC,  $p < 0.001$ ). No se hallaron diferencias significativas en estos parámetros en el lote DEHF 0.5%. La velocidad de secreción hepática de TG en el lote DEHF 2% se relacionó con las modificaciones observadas en los niveles plasmáticos de TG. Sin embargo, los análisis cualitativos de las lipoproteínas circulantes no evidencian cambios significativos en sus perfiles electroforéticos en gel de agar.

Nuestros resultados indican que los animales que ingirieron al plastificante DEHF en dosis tóxicas (2%-21 días) manifestaron retardo en el crecimiento, hepatomegalia, alteraciones lipídicas a nivel plasmático y hepático. No obstante no haber observado retardo en el crecimiento ni cambios en los contenidos lipídicos hepáticos con la dosis menor (0.5%-90 días), se encontraron también hepatomegalia y alteraciones lipídicas plasmáticas como con la dosis mayor de DEHF. Estas evidencias adicionales de los efectos tóxicos del DEHF incorporado al organismo a través de los alimentos demuestran la nocividad potencial para la salud humana que determina su empleo.

#### EL EXCIPIENTE COMO CAUSA DE EFECTOS ADVERSOS EN MEDICAMENTOS DE APLICACION LOCAL.

Bulgach, D., Bindstein, E., Gimenez, E. y Lombardo, G.

Departamento de Farmacología, Instituto Nacional de Medicamentos. Caseros 2161, 1264-Capital Federal, Argentina. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

El Sistema Nacional de Farmacovigilancia de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica fue creado el 22 de septiembre de 1993.

Dicho Sistema registró en marzo de 1994 una serie de reportes de efectos adversos locales producidos por una marca comercial de un pediculicida en aerosol a base de piretrinas. Se realizaron los estudios Farmacoepidemiológicos que demostraron que la incidencia de efectos adversos para una nueva marca y en una determinada forma farmacéutica eran muy superiores a los otros pediculicidas. El Instituto Nacional de Medicamentos, a través del Departamento de Farmacología realizó un estudio de inocuidad de pediculicidas de aplica-

ción tópica según técnica de Draize. En esta etapa se trató de correlacionar los resultados de los reportes al Sistema con los valores de irritación primaria dérmica en conejos, adaptando el método de acuerdo a las indicaciones de uso. En cada caso se analizó al producto terminado, y en caso de irritación marcada se estudiaron los componentes de la formulación por separado. Los resultados permitieron identificar la relación entre los efectos adversos detectados por el Sistema Nacional de Farmacovigilancia y la concentración del solvente Isoparafina en la forma farmacéutica aerosol del medicamento problema. Se destaca la importancia de la interrelación entre los estudios de laboratorio y la investigación farmacoeconómica, ya que permite la formulación de hipótesis y se comprobación experimental.

#### FUENTES PUNTUALES Y DISPERSAS DE COLIFORMES FECALES EN DOS BALNEARIOS URBANOS (STO TOME, PROV. STA. FE).

Emiliani, F. y González de Paira, S.

Instituto Nacional de Limnología. J. Maciá 1933, 3016-Santo Tomé, Santa Fe, Argentina.

Estimamos la calidad bacteriológica, y las causa que la afectan, de un balneario situado en la ribera del río Salado en su tramo inferior y otro situado en la laguna Bedetti, ambos de la ciudad de Santo Tomé.

Con ese objetivo, recolectamos 144 muestras en ambos lugares y en zonas aledañas analizándolas bacteriológicamente de acuerdo con Ormerod et al. (1985), con cinco repeticiones por dilución. Para la identificación de las especies utilizamos el API 20E (Analytab, 1990). La concentración de coliformes fecales (CF) en el balneario situado en el ambiente lótico fluctuó entre 50 y 17000 CF/100ml y entre 50 y 13000 CF/100ml en aquel situado en la laguna.

Detectamos y analizamos varias fuentes puntuales que aportan CF a ambos balnearios. Algunas de ellas se convierten en fuentes dispersas al desaguar en bañados aledaños (o en otros cuerpos de agua) en épocas de sequía o de bajos niveles hidrológicos y llegar a los balnearios por desborde o inversión de las corrientes en épocas de lluvias o crecientes. Las enterobacterias más frecuentes resultaron *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Referencias: Ormerod, K.; Bonde, G.J. y Kristensen, K.K. - 1985. Bacteriological Examination (p.273-461). En: Examination of Water for Pollution Control (Suess, M.J., Ed), World Health Organisation, Oxford, 532p.

Analytab Products -1990. API 20E Analytical Profile Index, Enterobacteriaceae and Other Gram Negative Bacteria. Sherwood Medical, N. York (p. s/n).

#### HIPOTESIS SOBRE MORTANDAD DE PECES EN LA CUENCA INFERIOR DEL RIO SALADO (SANTA FE).

Emiliani, F. y González de Paira, S.

Instituto Nacional de Limnología. J. Maciá 1933, 3016-Santo Tomé, Santa Fe, Argentina.

Es probable que la mortandades de peces registradas en diversos puntos de la cuenca inferior del río Salado se deba a fuentes puntuales y dispersas que interactúan en determinadas situaciones hidrológicas y climáticas.

Durante períodos de sequías y de bajos niveles hidrométricos, las aguas de los tributarios del río Salado quedan embalsadas agropecuarias. Si durante este período se registran intensas lluvias en las subcuencas, las facies lénticas de estos cuerpos leníticos liberan abruptamente los residuos almacenados durante la época de sequía como así también aquellos depositados sobre suelos, zanjas y lagunas de oxidación. Dado que en esos momentos aun persisten niveles hidrométricos bajos, los caudales resultan insuficientes para diluir los contami-

nantes, representando una situación de riesgo para la vida de los peces que se encuentran atrapados en los tramos conformados por la intersección de los diferentes tributarios.

Los registros apuntados desde 1977 hasta 1988, indican que estas mortandades están asociadas a niveles hidrométricos inferiores a los 3 m (hidrómetro en el INALI) y lluvias superiores a 50 mm en localidades de las subcuencas, como así también a concentraciones superiores a 20000 Coliformes Fecales (CF)/100 ml. A pesar de que los CF se los suele asociar solamente a desagües cloacales, estos también son muy abundantes en todos los efluentes de las industrias agropecuarias, en sus lagunas de oxidación y en los suelos dedicados a la cría de ganado (Emiliani, 1980 y 1992). Si bien el aumento de las concentraciones de CF y el registro de las lluvias acontecen simultáneamente, la aparición de peces muertos se registra dos o tres días después, cuando la concentración de CF ha disminuido.

#### Referencias:

Emiliani, F. -1980. Ecología de la contaminación de la cuenca inferior del río Salado, I: Evaluación de coliformes fecales. Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral, 41-69.

Emiliani, F.-1992. Ecología Acuática Bacteriana. Informe PIA 0065/90, INALI, CONICET, 58 p.

### EVALUACION DE LA CALIDAD DEL AGUA SUBTERRANEA EN ZONAS CARENTES DE SERVICIOS SANITARIOS, PARTIDO DE LA PLATA.

Adaro, G.B., Amaro, A.A., Brignoles, P.M., Caballero, L.V., Deya, M.C., Gamarra, M., Garcia, V.M., Lamberti, C.S., Mastroantonio, G., Pérez Córdoba, A., Giannuzzi, L. y Magariños, M.C.

Taller de Análisis de Potabilidad de Aguas Subterráneas. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. 47 y 115, 1900-La Plata, Buenos Aires, Argentina.

De acuerdo a las cifras del último censo, de un total de 655.103 habitantes de La Plata y Gran La Plata, 220.803 habitantes obtienen el suministro diario de agua para abastecimiento desde el subsuelo, mediante pozos.

La carencia de agua corriente y la condición sanitaria en general están caracterizadas por dos circunstancias fundamentales: alta incidencia de patologías como las enfermedades diarreicas, y persistencia de elevada tasa de mortalidad infantil.

El presente trabajo tiene por objetivos realizar un diagnóstico del estado de saneamiento en aquellos ámbitos del Partido de La Plata donde se carece de agua corriente y red cloacal, espacializando previamente las áreas críticas con el fin de evaluar estadísticamente la calidad microbiológica y físico-química de las aguas de consumo mediante un monitoreo de la misma.

Con esta finalidad se analizaron muestras de agua tomadas en las siguientes zonas: Gorina, Barrio Caminito, Villa Castells, San Lorenzo, Savoia-1, Centinella, Savoia-2, Villa Montoro, Villa Elisa, Delegación Tolosa-Arroyo El Gato, Los Hornos Oeste-Lisandro Olmos, Delegación San Carlos-Localidad Las Quintas, El Retiro y Los Hornos. Los resultados encontrados indican que de un total de 150 muestras analizadas, el 65% resultan no ser aptas para consumo por su contaminación microbiológica. Los otros parámetros analizados, que resultan de interés toxicológico, se refieren a nitratos, nitritos y fluoruros, los cuales registraron niveles mayores a los máximos aceptables en el 28, 4%, 10% y 30% respectivamente.

Los valores obtenidos estarían avalando, en una primera instancia, las hipótesis de trabajo y el esquema metodológico desarrollado multidisciplinariamente. Asimismo, los resultados hallados sobre la no potabilidad del agua de consumo estarían en concordancia con las características particulares que presenta el hábitat en las zonas estudiadas, como densidad poblacional, nivel socio-económico, falta de cobertura del servicio de recolección de residuos, ocupación de áreas con riesgo

de inundación, entre otros. Por otra parte, estas mismas consideraciones pueden realizarse en base a la evaluación química particularmente referida a los tenores de nitratos, en algunas de las zonas muestreadas.

Finalmente puesto que un monitoreo adecuado no se queda en la simple recolección de muestras y su análisis, sino que incluye a todas las actividades necesarias para asegurar que los componentes del sistema funcionen sin riesgo y fallas, es que se evalúa asimismo las medidas inmediatas vehiculizadas a través de recomendaciones y talleres de educación sanitaria, y las soluciones más integrales.

### CONSIDERACIONES SOBRE LA POTABILIZACION DEL AGUA PARA CONSUMO HUMANO EN RIO TERCERO (CORDOBA, ARGENTINA).

Lerda, D.

Dirección de Bromatología, Higiene y Control Ambiental, Municipalidad de Marcos Juárez, 2580-Marcos Juárez, Córdoba, Argentina.

Fue llevado a cabo un estudio en el agua del Río Tercero y en el agua a la salida de la planta potabilizadora (San Marcos, Pcia de Córdoba) durante catorce meses. El principal objetivo de este trabajo fue no solo controlar los aspectos bacteriológicos, ficológicos y químicos sino además valorar la genotoxicidad del agua potable y la influencia de la técnica de potabilización. En el control bacteriológico se tuvieron en cuenta el recuento de colonias aeróbicas, coliformes por NMP y pseudomonas. En el aspecto ficológico por microscopía se investigó la presencia de algas y en el aspecto químico se determinó la presencia de metales, fenoles y plaguicidas. La evaluación de mutagenicidad se realizó en dos sistemas: bacterias y linfocitos humanos. Los parámetros bacteriológicos fueron negativos; en control ficológico se detectaron algas de varias Divisiones, siendo remarcable la presencia de cianófitas productoras de hepatotoxinas. En el análisis químico no se detectaron cromo, mercurio, fenoles, 2, 4-D ni 2, 4, 5-T, en cambio se obtuvieron valores de arsénico que van desde no detectable hasta 0.114 mg/L y de vanadio entre no detectable hasta 0.109 mg/L. En la valoración genotóxica los datos preliminares obtenidos en la presente investigación mostraron en diversos sistemas biológicos la genotoxicidad y clastogenicidad del agua potable. De acuerdo a estos resultados y los efectos de mejorar la potabilidad del agua y por ende proteger la salud de la población se recomienda:

- (1) realizar el tratamiento de los desechos cloacales e industriales en aquellas localidades que no lo posean,
- (2) en la planta potabilizadora, incentivar el uso de desinfectantes alternativos como bióxido de cloro u ozono. Además, carbón activado granular como filtrante, siempre después de haber utilizado al máximo el tratamiento físico del agua del río y agua potabilizada como hasta ahora, con la posibilidad de ir incorporando nuevas determinaciones químicas como Ni, Cd, Pb, fosfatos, nitratos, nitritos y además realizar estudio virológico en distintas épocas del año.

### EVALUACION DE LA CALIDAD DEL AGUA DEL ARROYO "CAÑADA DE GOMEZ". DETECCION DE AGENTES CONTAMINANTES.

Mulé, B., Botta, H. y Girolami, H.R.

LEB. (Area Bromatológica) y Fac. de Cs Bioquímicas y Farmacia. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531, 2000-Rosario (Area Toxicológica), Santa Fe, Argentina.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad del agua del arroyo "Cañada de Gomez" desde su ingreso al municipio hasta la salida del mismo, habiéndose seleccionado para ello distintas estaciones de muestreo, diferenciados en estaciones base y estaciones impacto.

## 1 - Muestreo:

Estaciones Base: sitios donde no hay impacto ambiental inmediato.

## Estación N°1

Referencial (nacimiento del curso de agua)

## Estación N°3

Antes del volcamiento de residuos industriales.

## Estación N°5

Salida del Municipio.

Estaciones impacto: sitios donde el curso de agua sufre la agresión de residuos tóxicos.

## Estación N°2

Efluente de jabonera y cartonera.

## Estación N°3

Desagües Pluviocloacales.

## Estación N°4

Volcamiento de efluentes de curtiembre.

## Estación N°5

Colector final de residuos industriales.

Las muestras fueron extraídas según normas de O. S. N. con un intervalo de 12 hs cada uno durante los días 5 y 6 de marzo de 1993, a las 7:00 PM y 7:00 AM.

## 2 - Análisis e investigaciones realizadas:

1 - Examen de potabilidad de agua y líquidos efluentes según normas de O.S.N.

2 - Investigación complementaria de: Materia grasa, fenol, tensioactivos, iones sulfuro, plomo y mercurio según técnicas de O.S.N., cromo (III) y (VI) según Standard Methods of Water Analysis, calcio y magnesio por E.A.A.

3 - Examen microbiológico: según técnicas de OMS y A.O.A.C.

Se obtuvo una marcada elevación de las concentraciones de iones sulfato y cromo a partir de las estación impacto N°4. Las determinaciones restantes no sufrieron variaciones significativas a lo largo de las distintas estaciones de muestreo seleccionadas. En cuanto a la parte microbiológica se observó la presencia de una abundante flora microbiana (gérmenes aerobios y enteropatógenos) que se vio incrementada en la estación N°3 (desagüe pluviocloacal).

La presencia de iones sulfato y cromo en el agua del arroyo "Cañada de Gómez, a partir de la estación impacto N°4, se debió a la utilización de estos elementos para el curtido de cueros. Se observó que en la estación referencial del arroyo no se detectó cromo en ninguno de sus estados de oxidación y si se detectó en la estación N°5, con lo que se infiere la incorporación de los iones al caudal del arroyo. Con las cifras obtenidas se detectó que se superaba ampliamente los parámetros fijados por O.S.N. para un volcamiento a un curso de agua. Habiéndose consultado bibliografía específica, se concluyó que la toxicidad del cromo no se limita solo al estado de cromo (VI) sino a todos los estados de oxidación, que producen riesgos importante para el hombre y para todos los individuos componentes del ecosistema. Dado que los iones sulfato reducen la resistencia química del hormigón endurecido, la elevada concentración hallada en el agua del arroyo contribuiría a la corrosión del hormigón.

#### CUANTIFICACION DE E. coli EN QUESOS MEDIANTE TECNICAS DE HIBRIDACION DE ACIDOS NUCLEICOS.

Gianuzzi, L., Brandi, L. y De Antoni, G.

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos

(CIDCA). Fac. de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. 47 y 116, 1900-La Plata, Buenos Aires, Argentina.

*E. coli* es un microorganismo del tracto gastrointestinal del hombre y animales de sangre caliente, sin embargo, cepas de *E. coli* entero-patógeno han sido descritas como las causantes de toxoinfecciones produciendo uremia hemolítica y diarreas sanguinolentas entre otros daños. Es así como la presencia de *E. coli* en alimentos es un índice de malas prácticas de higiene y de contaminación de origen fecal.

El presente trabajo tiene por objetivo cuantificar diferentes niveles de inoculación de *E. coli* en quesos al inicio y al final del almacenamiento refrigerado mediante la técnica de hibridación de ácidos nucleicos comparando con los recuentos de placa.

Se trabajó con 50 g de queso tipo Port Salut de marca de primera calidad al que se inoculó tres niveles de *E. coli*:  $10^5$ ,  $10^3$  y  $10$  cel/g. Se utilizó un control que consistió en 50 g de queso sin inocular. Se determinó los recuentos mediante técnica de hibridación de ácidos nucleicos y recuento en placa en agar bilis rojo violeta glucosa con incubación a 37°C durante 18-24 hs. Se analizó también el efecto que presenta el almacenamiento refrigerado sobre el microorganismo luego de 7 días de almacenamiento en películas de baja permeabilidad gaseosa. Los resultados encontrados mostraron que las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos permiten cuantificar en forma satisfactoria los niveles de *E. coli* observándose buena correlación con los recuentos en placa. Sin embargo, bajos niveles de *E. coli* (menores de 102 cel/g) no pueden ser detectados en placas pudiendo hacerse mediante la técnica de hibridación dado que presenta mayor sensibilidad (3 cel/g). Asimismo, el efecto del almacenamiento a 4°C mostró que *E. coli* sufre una disminución respecto a los niveles iniciales de inoculación que varió entre 1 y 2 ciclos logarítmicos pudiendo deberse a la competencia con la flora natural. El método empleado en el presente trabajo basado en la hibridación de ácidos nucleicos constituye uno de los primeros intentos que resultan de utilidad para evaluar la posibilidad de cuantificar diferentes niveles de *E. coli* siendo además sensible, rápido, seguro y permite detectar en forma temprana contaminación de alimentos.

#### AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y DETERMINACION DE LA CAPACIDAD TOXICOGENICA DE HONGOS AISLADOS DE ALIMENTOS.

Beccaria, A., Iacona, V., González, A., Latorre, M.G., Nepote, A., Rico, M., Sansevich, M.E., Zulani, M.F. y Lurá, M.C.

Cátedra de Microbiología General. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. Pje "El Pozo". C.C. 530, 3000-Santa Fe, Argentina.

La calidad de los alimentos se estudia desde hace varios años. Sin embargo, solo recientemente ha cobrado importancia el estudio de los hongos que los contaminan.

El objetivo de nuestro trabajo fue determinar la identidad y toxigenicidad de los hongos contaminados aislados de cereales y productos alimenticios elaborados con ellos, en nuestra ciudad y zona de influencia. Se estudiaron muestras de maíz, polenta, sémola, trigo, fideos, pan, masa de bombas y soja.

La identificación toxicogénica se determinó mediante estudios macro y microscópicos según lo aconsejado por Rapper and Fennell, Rapper and Thom, Pitt, Barnett, Booth y Pionelli.

La capacidad toxocogénica se determinó mediante el empleo de los ensayos de citotoxicidad: inhibición en el desarrollo y/o alteraciones morfológicas de *Bacillus thuringiensis*, ensayo Rec y Prueba de la hemólisis.

Del total de cepas aisladas (306), el 56.5% correspondió al género *Aspergillus*, el 18.3% a *Penicillium* y el 9.5% a *Fusarium*.

El 11.7% de los hongos estudiados mostraron algún tipo de toxicidad, 7 de los cuales produjeron elongación de *Bacillus thuringiensis*, 17 resultaron mutagénicos (Rec +) y 17 fueron hemolíticos.

Resultó llamativa la cantidad de hongos recuperados a partir de las muestras de maíz y pan, alimentos de consumo masivo, por los que se sugieren estudios más exhaustivos al respecto.

Teniendo en cuenta la toxigenicidad encontrada y el hecho de que los ensayos biológicos aplicados permiten detectar diferentes efectos tóxicos, se considera necesario recurrir a una bacteria de pruebas que se complementen para determinar con mayor precisión la capacidad toxigénica de los hongos que contaminan los alimentos.

#### **TOXICIDAD CRONICA DE UN METABOLITO BACTERIANO PRESENTE EN ALIMENTOS REFRIGERADOS.**

*Eraso, A.J., Lasagno, M., Mattana, C. y Albesa, I.*

Dpto de Microbiología e Inmunología. Fac. de Cs. Exactas, Física-Química y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nac 8, Km 601, 5800. Río Cuarto y Dpto de Farmacia Fac. de Cs. Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina

Pioverdina, metabolito que caracteriza al grupo fluorescente de *Pseudomonas*, se ha encontrado presente, al igual que sus bacterias productoras, en alimentos refrigerados como pollo, ricota y carne molida<sup>(1)</sup>.

La estructura quinoleica de pioverdina<sup>(2)</sup> dió pie a la hipótesis de que este pigmento bacteriano pudiera presentar biotoxicidad<sup>(2)</sup>.

Se efectuaron tres experiencias con ratones BALB, basadas en el suministro oral de diferentes formulaciones de pioverdina extraída y purificada de cultivos de una cepa productora de *P. fluorescens*<sup>(3)</sup>. Se obtuvieron muestras de sangre de los ratones, antes, durante y al final de los tratamientos, midiéndose en el suero las actividades de transaminasas (GPT y GOT) y fosfatasa alcalina (FALC), para constatar los efectos tóxicos a nivel hepático. Los tratamientos se extendieron entre los 150 y 210 días. Se analizaron las significaciones estadísticas de: los tratamientos (varianza) y de las frecuencias de los incrementos (Chi cuadrado).

Los incrementos de transaminasas y fosfatasa alcalina de los tratados resultaron significativamente mayores que los de los controles. El promedio para las tres experiencias de los índices de incremento calculados del cociente entre los promedios al final sobre los promedios antes de los tratamientos, resultaron para GPT, GOT y FALC respectivamente de 2.25, 2.32 y 0.72 en los controles y de 6.90, 6.96 y 1.26 en los tratados.

Estos resultados están indicando un efecto de toxicidad crónica, al menos a nivel hepático de un metabolito bacteriano.

Referencias:

- (1) Albers et al. J. of G. Microbiol., 131:3251-3254, 1985.
- (2) Namiki, M. en Adv. in Food Res., 32:115-175. Ed. by C.O. Chischester and B.S. Schweigert, AP. INC (London). Ltd., 1988.
- (3) Mattana et al en Resumen MIC 17 de VII Jor. Científicas de la Fac. de Cs. Ex., Fis-Quim. y Naturales de la U.N.R.C., Río Cuarto, 1994.
- (4) Wendenbaun, S. et al., Tetrahedron Letters, 24 (44):4877-1880, 1983.

#### **CONTAMINACION DE AGUAS SUBTERRANEAS PARA CONSUMO HUMANO POR DEFICIENCIAS EN LOS SISTEMAS DE CAPTACION.**

*Marti, L.E., Otero, J.L., Dalia Santina, R.O. y Rosmini, M.R.*

Departamento Tecnología de Productos Pecuarios y Salud Pública. Facultad de Agronomía y Veterinaria de Esperanza. Universidad Nacional del Litoral. R.P. Luis Kreder 2805, 3080-Esperanza, Santa Fe, Argentina. Tel (0496)20639-21037.

Para evaluar la cantidad de agua de pozo para consumo humano, obtenida por bombas de extracción domiciliarias, se realizó un relevamiento de cuatro barrios sin provisión de agua potable de red y con antecedentes de enfermedades hídricas.

Se trabajó sobre 67 manzanas, abarcando un total de 1557 habitantes, equivalente al 5.53% de la población de la ciudad de Esperanza, Provincia de Santa Fe, República Argentina.

En cada sector se evaluaron las siguientes aspectos:

- 1) Fuentes de provisión de agua para consumo;
- 2) formas de extracción del agua;
- 3) formas de asentamiento de la bomba de extracción;
- 4) profundidad de los pozos de agua y pozos negros;
- 5) distribución de ambos pozos en el lote,
- 6) distancia entre ambos pozos;
- 7) distancia entre el fondo del pozo negro y la superficie del manto acuífero;
- 8) calidad físico-química y bacteriológica del agua y
- 9) destino de las aguas servidas.

Se utilizó una planilla confeccionada ad-hoc para asentar los datos obtenidos visualmente.

Para determinar la calidad del agua de consumo, se tomaron muestras siguiendo las normas nacionales vigentes, realizándose las análisis correspondientes en organismos oficiales.

Se relacionaron los resultados obtenidos del relevamiento con la contaminación del agua verificada en el 89.2% de las muestras analizadas. De los datos recabados se puede concluir que la poca profundidad de los pozos de agua (solo el 32.99% se encontraba a más de 15 metros), la insuficiente distancia lineal entre los pozos de agua y pozos negros (en el 93.98% de los casos era menor de 15 metros), la incorrecta distribución de ambos pozos en el terreno (en el 32% de los casos estaban ubicadas incorrectamente) y las deficiencias en las instalaciones de las bombas de extracción (en el 42% de los casos se encontraban con: asiento precario de las mismas, falta de brocal, encamisado expuesto al ambiente, etc.), son las vías o fuentes más importantes de la contaminación encontrada (aerobias, coliformes totales, coliformes fecales, nitratos y nitritos por encima de los valores normales, según el C.A.A.).

#### **MICOTOXINAS EN LOS ALIMENTOS.**

*Rinaldi, M.*

Laboratorio de Conosud SA. Ruta Nac N°11. Barrio Caiman. Pcia. Santa Fe, Argentina.

El objetivo del trabajo fue la evaluación de la destrucción de la aflatoxinas en semillas algodón en la industria aceitera.

La determinación de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en semillas y pellets de algodón se realizó por cromatografía en capa delgada con el método BF modificado utilizando tolueno.

Los resultados que se obtuvieron demuestran que luego del doble proceso de extracción de aceite (por prensado y con solvente), de la desolventización y del pelletizado el contenido de aflatoxinas en el pellet disminuye notoriamente con respecto al valor inicial en las semillas, registrándose dentro de los límites establecidos por las normas.

# Taller sobre la Evaluación de Efecto Insecticida sobre Triatominos

(Workshop on the Insecticide Effect Evaluation in Triatominos)

1 al 4 de noviembre de 1994 - Buenos Aires - Argentina

Zufriategui 4380 (1603) Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina  
Tel 761-0131/0331 (int 224) - Fax 54-1-7603210

WORLD HEALTH ORGANIZATION  
UNDP/WORLD BANK/WHO SPECIAL PROGRAMME TDR

## PROTOCOLO DE EVALUACION DE EFECTO INSECTICIDA SOBRE TRIATOMINOS

### 1 - Evaluación de actividad insecticida a nivel de laboratorio

- 1.1. Material biológico
- 1.2. Aplicación tópica de principios activos insecticidas
- 1.3. Exposición a superficies tratadas con insecticidas formulados
- 1.4. Efecto residual de insecticidas formulados sobre distintos soportes
- 1.5. Criterio de muerte
- 1.6. Análisis estadístico de los resultados

### 2 - Monitoreo de resistencia

#### 2.1. A campo

- 2.1.1. Material biológico
- 2.1.2. Determinación y aplicación de dosis discriminante.

#### 2.2. En laboratorio

- 2.2.1. Material biológico
- 2.2.2. Línea de base de susceptibilidad de insectos de campo y de laboratorio.
- 2.2.3. Determinación y aplicación de dosis discriminante.
- 2.2.4. Determinación de grado de resistencia.

### 3 - Evaluación de actividad insecticida en campo

- 3.1. Requerimiento
- 3.2. Selección de muestra de casas
  - 3.2.1. Infestación
  - 3.2.2. Tipo de vivienda
- 3.3. Tamaño de muestra de casas
- 3.4. Evaluación
  - 3.4.1. Métodos de evaluación
  - 3.4.2. Criterios de infestación
  - 3.4.3. Frecuencia de evaluaciones
  - 3.4.4. Bioensayo
- 3.5. Operación
- 3.6. Determinación de dosis
- 3.7. Determinación de resistencia en poblaciones de campo

1

### Evaluación de actividad insecticida a nivel de laboratorio

#### 1.1. Material biológico

##### 1.1.a. *Triatoma infestans*

Se usan insectos provenientes de una cepa susceptible de *Triatoma infestans* criada en laboratorio en condiciones ambientales constantes: 25-30°C, 50-70% HR y fotoperíodo 12:12 hs. Los intervalos entre comidas no deberán ser mayores a 15 días.

Se considera cepa susceptible a una colonia establecida en laboratorio (por lo menos 5 generaciones sin aporte de material externo) o una colonia iniciada por recolección de material de campo en zonas donde no hubo aplicación de insecticidas (por lo menos en 5 años).

Para los ensayos toxicológicos se usan ninfas V de 15-20 días en el estadio y 7 días de ayuno. Por ejemplo, se seleccionan ninfas V recién mudadas, a los 7-8 días se alimentan y 7-8 días después se utilizan en el ensayo (en estas circunstancias el peso de las ninfas es 140±20 mg).

#### 1.1.b. Otras especies de triatominos

Para cada especie de triatomo a utilizar, es necesario definir las condiciones ideales de cría y estandarizar las ninfas a utilizar en el bioensayo.

#### 1.2. Aplicación tópica de principios activos insecticidas.

Se usan ninfas V según lo descripto en 1.1.

Se realiza la aplicación tópica de 1 µl de solución acetónica del principio activo insecticida, en la parte dorsal del abdomen de cada insecto, con un microaplicador (por ejemplo: Arnold Hand Microapplicator Burkard, Rickmansworth, Herts, England o Micro-liter Syringe Hamilton 50 = µl con Repeating Dispenser, Hamilton Co.). Se utilizan no menos de 10 ninfas por dosis y por repetición. En un primer ensayo se usan 4 niveles de dosis con un factor 1/10 entre cada dosis y en los ensayos finales se usan 4 niveles de dosis intermedias que lleven a por lo menos 3 puntos que registren entre 10 y 90 % de mortalidad.

Se tratan grupos de 10 insectos controles con el mismo volumen de acetona para análisis. Los insectos se colocan en recipientes de boca ancha con papel plegado en su interior y cubierto con tela gasa. Se registra mortalidad a las 72 horas.

Se utilizan los datos de mortalidad a las 72 horas para el cálculo de los parámetros estadísticos DL50 y DL95 y los respectivos intervalos de confianza. Todos los parámetros se expresarán en (µg/insecto).

Deben realizarse al menos tres réplicas independientes de cada ensayo en distintos días.

Las condiciones ambientales post-tratamiento son 25 - 30°C y 50 - 70% HR.

#### 1.3. Exposición a superficies tratadas con insecticidas formulados.

Se usan superficies circulares de vidrio plano y discos de papel de filtro cualitativo Whatman N° 1.

Las superficies se impregnan en forma homogénea mediante pipeta y en forma espiralada hacia el centro, con un volumen tal que 16 µl de dilución acuosa del formulado impregnen 1 cm<sup>2</sup> de superficie. Por ejemplo, para una superficie de 9 cm de diámetro (64 cm<sup>2</sup>) se utilizará 1 ml de solución de formulado.

Se deja evaporar durante 24 horas.

Se exponen durante 60 minutos, por lo menos 10 ninfas V seleccionadas según 1.1.

Los insectos se pasan a recipientes limpios con papeles plegados y se registra la mortalidad a las 72 horas. Con los datos de mortalidad a las 72 horas se calculan los parámetros estadísticos CL50 y CL95 en (µg/cm<sup>2</sup>) con sus respectivos intervalos de confianza.

Los ensayos se realizan al menos por triplicado independientes en distintos días.

Las condiciones ambientales post-tratamiento son 25 - 30°C y 50 - 70% HR.

#### 1.4. Efecto residual de insecticidas formulados sobre distintas superficies.

Se impregnan superficies de vidrio o papel según 1.3, con la dilución del formulado insecticida tal que la concentración de principio activo sobre la superficie sea la recomendada para el control en campo.

A las 24 horas y luego una vez por mes se exponen durante 1 hora a las superficies tratadas, grupos de al menos 10 ninfas V, seleccionadas según 1.1.

Se registra la mortalidad a 72 horas. Se continúa el procedimiento según 1.3.

El efecto residual se informa como porcentaje de mortalidad en función del tiempo de envejecimiento del insecticida formulado en la superficie.

Esta metodología podrá ser adaptada a cualquier otra superficie en que interese evaluar residualidad, dependiendo de las superficies más frecuentes en las áreas endémicas de cada país.

### 1.5. Criterio de muerte

Muchos insecticidas, como por ejemplo los piretroides, producen una gama de efectos que van desde la incoordinación hasta el volteo, pasando por una serie de etapas intermedias que hacen muy difícil el diagnóstico "vivo o muerto". En un intento por calificar estos insectos afectados y para unificar el diagnóstico se ha considerado el siguiente criterio de muerte:

Se considera "muerto" el insecto que colocado sobre un papel de filtro no tiene actividad locomotora propia, ya sea en forma espontánea o cuando es estimulado con un pincel o una pinza.

### 1.6. Análisis estadístico de los resultados

Con los datos de porcentaje de mortalidad a 72 hs en función de dosis o concentración, se calcula el parámetro estadístico DL 50 ó CL 50, según método probit (Litchfield J. & Wilcoxon E., J.Exp.Therap. 96, 99 (1949))

Se recomienda unificar la metodología de cálculo de los parámetros estadísticos en un programa que seleccione y distribuya OMS - OPS.

En caso de no contarse con computadora se utilizará la metodología manual según papel probit descripta por Lichfield & Wilcoxon (cita anterior).

## 2 - Monitoreo Resistencia

### 2.1. A campo

#### 2.1.1. Material biológico

Se usan ninfas V de *T. infestans* recolectadas en zonas donde se quiere monitorear resistencia.

#### 2.1.2. Determinación y aplicación de dosis discriminante.

Se determina en laboratorio la línea de base de susceptibilidad de ninfas V de cepa susceptible (definida según 1.1). Se utiliza la metodología de exposición de insectos a papeles de filtro impregnados con distintas concentraciones de principios activos insecticidas disueltos en aceite de oliva (fosforados y carbamatos) o en aceite de silicona (piretroides). Para aplicar estas soluciones a papeles de filtro se realizan diluciones de cada concentración con 4 veces su volumen de acetona. Con estas diluciones de principio activo en aceite de oliva-acetona se impregnan discos de papel de filtro (según 1.3.) de forma tal que la cantidad de aceite en cada papel es la misma y sólo varía la cantidad de principio activo insecticida. La cantidad de aceite final en el papel debe ser 3,7 mg aceite/cm<sup>2</sup> de papel tratado. Ejemplo: se pesa 1 mg de principio activo insecticida, se agrega 0,25 ml de aceite y 1 ml de acetona para impregnar un disco de papel de filtro de 9 cm de diámetro (64 cm<sup>2</sup> de superficie). En este caso la concentración final de principio activo en el papel es 15,6 µg/cm<sup>2</sup>.

Se establece la concentración discriminante como la CL99 obtenida de la curva concentración versus mortalidad según 1.7.

Se exponen grupos de no menos de 10 ninfas V durante 60 minutos a la concentración discriminante. La supervivencia reiterada (por lo menos 1 superviviente en dos de tres ensayos) indica un posible fenómeno de resistencia con sólo 3% de probabilidad de error. De ser así se realizará una determinación del grado de resistencia en laboratorio.

### 2.2. En laboratorio

#### 2.2.1. Material biológico

Se usan ninfas I provenientes de la colonia susceptible de laboratorio, y de la primera generación (F1) del material recolectado a campo. El uso de la F1 del material recolectado a campo permite evaluar si la resistencia detectada tiene origen genético. Se usan ninfas I de la F1 para acortar la demora entre el momento de recolección de material a campo y la realización del ensayo.

En ambos casos las ninfas I tienen 5-7 días de edad y están ayunadas desde la eclosión (en estas circunstancias el peso es 1,2 +/- 0,2 mg).

### 2.2.2. Línea de base de susceptibilidad

Se usan ninfas I provenientes de la cepa susceptible (según 1.1) y se seleccionan según 2.2.1. Se determina la curva dosis-mortalidad del principio activo insecticida por el método de aplicación tópica según 1.2., pero con un volumen de aplicación de 0,2 µl.

### 2.2.3. Determinación y aplicación de dosis discriminante

Según la línea base de susceptibilidad determinada de acuerdo a 2.2.2., se establece una dosis discriminante equivalente a la DL 99 de la cepa susceptible.

No menos de 10 ninfas I descendientes de insectos recolectados en campo (F1), se exponen a la dosis discriminante.

La supervivencia reiterada (por lo menos un superviviente en dos de 3 ensayos) de los insectos expuestos indica desarrollo de resistencia y justifica la determinación de grado de resistencia.

### 2.2.4. Determinación de grado de resistencia.

Se determinan las DL 50 según 2.2.2. para ninfas I de cepas susceptible y salvaje resistente.

Se establece el grado de resistencia de cada muestra según:

$$G.R. = \frac{DL\ 50\ Cepa\ Salvaje}{DL\ 50\ Cepa\ Susceptible}$$

Cuanto mayor sea el GR mayor será la magnitud de la resistencia.

### Recomendación

Implementar un programa de aplicación de estos protocolos con uno o más insecticidas seleccionados en laboratorios de América Latina que dispongan de colonias de triatominos en cría. Esto a los fines de evaluar la aplicabilidad de los protocolos elaborados y realizar un meta-análisis estadístico de la dispersión de los resultados obtenidos.

## 3 - Evaluación de actividad insecticida en campo

### 3.1. Requerimiento

Definir la probable dosis de aplicación a campo teniendo en cuenta los resultados obtenidos en laboratorio sobre la actividad y la residualidad de las formulaciones sobre distintas superficies que se pueden encontrar en campo.

### 3.2. Selección de casas a muestrear

#### 3.2.1. Infestación

a. Determinar el porcentaje de casas infestadas en el intra y peridomicilio, definiendo la especie o especies de triatominos objetivo de control.

b. Estimar la densidad poblacional de triatominos de la especie en estudio por unidad domiciliaria, tratando por separado intra y peridomicilio.

#### 3.2.2. Tipo de vivienda

##### a. Intradomicilio

La selección se hará de acuerdo a los objetivos experimentales. En general, para la evaluación de diferentes insecticidas o diferentes formulaciones de distintos insecticidas, es importante definir los tipos de materiales de construcción más frecuentes y asociados al lugar preferentemente colonizado por el insecto (pared, techo).

En el caso de *T. infestans*, encontrada frecuentemente en paredes de la vivienda, si hubiera una gran variabilidad en los materiales de construcción, habría que seleccionar para cada grupo experimental números similares de viviendas de cada tipo: adobe, barro, mampostería.

Si el investigador pretende además evaluar los efectos de distintas superficies sobre el efecto insecticida debe elegir números semejantes de las distintas superficies. Se debe considerar que la inclusión de más de un factor en el experimento, tiene como consecuencia un aumento en el tamaño de las muestras (número de viviendas) a utilizar.

##### b. Peridomicilio

Si el objetivo del experimento es evaluar la acción del producto sobre las infestaciones peridomiciliarias, entonces se deberán adoptar criterios semejantes a los descriptos para el intradomicilio (presencia de gallineros, conejeras, corrales, etc.)

### 3.3. Tamaño de la muestra

Tratamiento o grupo experimental: Incluye el efecto del factor o combinación de factores a estudiar en el experimento. Ejemplo: Si se quiere estudiar el efecto de tres insecticidas distintos, deberán seleccionarse tres grupos experimentales o tratamientos. Si se pre-

tende estudiar el efecto de tres insecticidas distintos sobre tres tipos diferentes de superficies de paredes, habrá que seleccionar nueve grupos experimentales o tratamientos.

En todos los casos se recomienda (denro de lo posible) que exista un grupo experimental control, tratado con un insecticida en formulación y dosis con resultados conocidos para el área de trabajo seleccionada para el experimento.

Como mínimo recomendable que permita mantener una muestra suficientemente grande para lograr una evaluación significativa a través de la experiencia (que puede durar un año o más), el estudio debería comenzar con grupos de 30 a 50 casas infestadas por tratamiento. De esta manera se asegura que al menos 20 casas infestadas al inicio alcancen el final de la prueba.

Si el objetivo es determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se aplica la fórmula derivada de la prueba para diferencias de proporciones (Fleiss J.L., *Statistical methods for rates and proportions*, 2ª edición, Wiley, pag. 262, 1981). Fleiss presenta tablas que permiten calcular los tamaños muestrales necesarios para distintos valores de proporciones, a y b.

En el siguiente ejemplo, se consideran proporciones de reinfestación variables, para uno de los tratamientos ( $p_1=0,3-0,6$ ) frente a una proporción de reinfestación fija ( $p_2=0,1$ ) del tratamiento estándar.

Número mínimo de viviendas infestadas necesario en cada grupo experimental, para detectar una diferencia significativa mínima entre las proporciones de reinfestación alcanzados luego de dos tratamientos alternativos. Cálculos basados en un  $a=5\%$  y un  $b=20\%$ .

proporción de reinfestación esperada *		Nº mínimo necesario de casas infestadas por grupo*
Trat. nuevo	Trat. estándar	
$p_1 = 0,3$	$p_2 = 0,1$	71
$p_1 = 0,4$	$p_2 = 0,1$	38
$p_1 = 0,5$	$p_2 = 0,1$	24
$p_1 = 0,6$	$p_2 = 0,1$	17

\* al tiempo t post-intervención

Cuando no fuera posible obtener una evaluación de infestación inicial casa por casa es recomendable considerar un número suficientemente grande de viviendas que permita asegurar el número de casas infestadas deseado. Por ejemplo, en un Area con 30-40% de casas infestadas se puede tomar una muestra de 150 casas por grupo experimental.

Es también importante tener en cuenta si la infestación es intra o peridomiciliaria para asegurar grupos similares de infestación para cada tratamiento.

Para poder comparar dos o más tratamientos con insecticidas, la selección de casas en un Area experimental puede seguir una distribución por grupos de casas contiguas (bloques) o localidades o bien una distribución al azar. Esta última tiene la ventaja de distribuir el efecto de factores no controlados en forma equitativa entre todos los grupos experimentales por ejemplo: tipos de construcción, presión de reinfestación y hábitos de los habitantes.

Por otro lado, el muestreo al azar requiere un planeamiento y supervisión muy estrictos y una identificación muy clara de cada una de las viviendas para evitar confusiones, lo que puede tornar muy complicada esta metodología. Si en la localidad hay evidencias de que existen grupos de viviendas con características diferenciales de peridomicilio, tipo de construcción, grado de infestación, etc., entonces sería recomendable realizar un muestreo aleatorio estratificado. Cada estrato consiste en un grupo aproximadamente homogéneo de viviendas con algunas características comparables; por ejemplo, casas con pared de barro ó casas con pared de mampostería. Los tratamientos se asignan aleatoriamente dentro de cada estrato.

El muestreo por bloques o localidades para cada uno de los tratamientos necesita cuidados para asegurar homogeneidad entre ellos con respecto a las características de las viviendas y de los datos entomológicos pre tratamiento. La ventaja de este diseño es que no se produce interferencia entre los grupos debida a la falla de alguno de los tratamientos. Si fuera posible, sería conveniente elegir varios bloques distribuidos a lo largo de todo el Area experimental.

### 3.4. Evaluación

#### 3.4.1. Métodos de evaluación

##### a. Captura por hora/hombre

Consiste en la captura de *triatominos* vivos por uno o dos hombres entrenados, equipados con linterna y pinzas y un agente expurgante como el piretro ó la tetrametrina.

El tiempo de búsqueda puede variar de 10 minutos a una hora por casa. Al final se calcula el número de *triatominos* capturados por una hora/hombre.

##### b. Métodos continuos de detección

I. Cajas de cartón perforadas con papel plegado en su interior (cajas de Gomez Nuñez, sensores María, Serena, etc) u hojas de papel o almanaques, pegados a la pared (dos por habitación). Se inspeccionan periódicamente en busca de señales de *triatominos* (deyecciones, exuvias, huevos y los propios *triatominos* vivos o muertos)

##### II. Captura por los moradores

Cualquiera de los tres métodos (captura por hora/ hombre, cajas de cartón y/o captura por los moradores) pueden ser utilizados para la evaluación, pero se sugiere que al menos se utilicen dos métodos, de los cuales uno sería la captura por hora/hombre y que se realice antes del rociado y a los tres, seis y doce meses después del rociado, siguiéndose cada seis meses mientras es necesario.

#### 3.4.2. Criterios de Infestación

Se considera que una casa está infestada ante el hallazgo de un *triatomino* vivo (ninfa o adulto) o de huevos embrionados de la especie objetivo de control.

Pueden ser calculados tres índices :

$$a. \text{Índice de infestación} = \frac{\text{Nº casas infestadas con triatominos} \times 100}{\text{Nº casas examinadas}}$$

$$b. \text{Índice de colonización} = \frac{\text{Nº casas con ninfas} \times 100}{\text{Nº casas con triatominos}}$$

$$c. \text{Índice de densidad} = \frac{\text{Nº insectos capturados (hora/ hombre)}}{\text{Nº casas infestadas (hora/hombre)}}$$

#### 3.4.3. Frecuencia de evaluaciones

Se recomienda realizar evaluaciones cada tres meses con un mínimo de evaluaciones a los tres, seis y doce meses y posteriormente cada seis meses. Se continúa hasta que el índice de colonización se halle por encima del 30%.

Si hubiera casas recolonizadas antes de la finalización de la experiencia, se las vuelve a tratar, pero se las considera que permanecen como reinfestadas hasta el final del estudio.

#### 3.4.4. Bioensayo

Se utilizan 10 ninfas V alimentadas a repleción una semana antes, colocadas en conos de material transparente (del tipo de los utilizados para ensayos con mosquitos según OMS) en contacto con las superficies tratadas (por lo menos dos conos por tipo de superficie y por grupo de tratamiento).

El tiempo de exposición a la pared es de 72 hs. y la determinación de la mortalidad se realiza tres días después de la transferencia de insectos a recipientes limpios.

Se consideran a los insectos volteados como muertos según 1.5.

#### 3.5. Operación

Antes de la aplicación de insecticidas debe sacarse del domicilio todo alimento, agua, utensilios de cocina y animales domésticos. Los muebles pesados deben ser separados de las paredes. El rociado debe alcanzar todas las partes de las paredes, debajo del techo, marcos de camas y partes traseras de muebles.

Se utilizan bombas Hudson-X-Pert o bombas manuales de presión constante, equipadas con manómetro capaz de medir hasta 60 psi, adaptadas con pico tipo Teejet 8002 o similar y que producen flujo de 750-800 ml/min a unos 50 psi. El rociado se realiza a una distancia de 45 cm de la superficie, resultando una franja rociada de 70-75 cm de ancho, superpuesta 5-10 cm de cada lado.

La velocidad de aplicación debería ser 0,4-0,5 m/seg. En condiciones ideales se esperaría una velocidad de rociado de 35-45 ml/m<sup>2</sup> de la formulación diluida. Una carga de una bomba de 10 litros serviría para tratar 250 m<sup>2</sup>. Teniendo en cuenta el porcentaje de ingrediente activo, se puede calcular la cantidad de formulación (F) necesaria para una carga.

$$F (\text{g ó ml}) = \frac{\text{dosis target (g.a.i.)} \times 250 (\text{m}^2 \text{ estimados por bomba}) \times 100}{\text{concentración (\% formulación)}}$$

En el caso de técnicas nuevas de aplicación, hay que adaptarse a especificaciones del fabricante.

**3.6. Determinación de dosis**

La forma más común de controlar el dosaje aplicado depende de la calibración de las bombas (ml/min) y del entrenamiento del rociador para aplicar a velocidad constante y a distancia apropiada de la pared. No siempre la aplicación es homogénea ni la dosis aplicada es la real.

La forma más común de calcular la dosis real es tener en cuenta el volumen del insecticida diluido utilizado dividido por los metros cuadrados rociados. Otro método utilizado se basa en el análisis químico del insecticida depositado sobre las paredes.

**3.7. Detección de resistencia en poblaciones de campo**

Es necesario realizar un monitoreo de resistencia en áreas tratadas frecuentemente con insecticidas o donde se observan fallas en las campañas de control.

**a. Captura de insectos**

Se capturan triatominos en el estado de ninfa V.

**b. Medición de resistencia**

Se recomienda el uso de papeles impregnados con dosis diagnóstico, exponiendo ninfas V recolectados en el área y evaluadas según 2.1.2.

**Anexo I****EVALUACION ECONOMICA  
I - METODOLOGÍA PROPUESTA**

La metodología propuesta se basa en el análisis COSTO - EFECTIVIDAD que consiste en conocer cuánto obtener cada unidad del objetivo buscado para cada una de las intervenciones.

Se deben seguir los siguientes pasos:

1. Cuantificación de los costos de cada intervención
2. Cuantificación de la efectividad de cada intervención
3. Obtención del cociente COSTO/EFFECTIVIDAD para cada intervención.

**II. CUANTIFICACIÓN DEL COEFICIENTE COSTO - EFECTIVIDAD**

Se procederá a dividir, para cada intervención, el costo total actualizado entre el número total corregido de casas sobrevivientes. Ello nos arrojará los coeficientes costo-efectividad para cada una de las intervenciones. Como ejemplo:

$$\text{Costo Total/Casa/Año de Protección} = \frac{MA+SU+SP+IN+(SU+X\% SP+X\% IN)n \times 12}{MO}$$

donde:

- MA : Costo de Mapeo  
 SU : Costo de Vigilancia  
 SP : Costo de Fumigación  
 IN : Costo de Insecticida  
 X : Percentage de Casas para Tratarse por Tratamiento Selectivo  
 n : Número de Tratamientos Selectivos Necesarios Para Mantener un Nivel de Control de  $\geq 90\%$  durante al menos un año.  
 MO : Meses con  $\geq 90\%$  de Control.

**ANEXO II****EJEMPLO DE DETERMINACIÓN DE COSTOS EN BRASIL****BASIC DATA FOR DETERMINATION OF OPERATIONAL COSTS  
OF TRIATOMINE CONTROL IN BRAZIL****1. STAFF****1a. FIELD TEAM ( 100% OF TIME) INCOME / WORKER**

3 GUARDS	SALARY	US\$ 96.00
1 CHIEF GUARD	BENEFITS	US\$ 40.30
1 DRIVER	PERDIEM	US\$ 11.85 x 20
TOTAL:		US\$ 373.40 X 5 (TEAM) = US\$ 1.867.00

**1b. SUPERVISION & TECHNICAL SERVICES TEAM (25% OF TIME)**

1 INSPECTOR		
1 DRIVER	US\$ 373.4 x 3 x 25 =	280.0 OR* 373.40
1 TECHNICIAN	100	
2 FOR SURVEILLANCE*		

**2. TRANSPORT**

- 2a. FUEL FOR 100 KM /DAY (3KMLITER AT APPROX. US\$ 0.5/LITER)  
 20 DAYS /MONTH (1.25 VEHICLES) - US\$ 416.00/MONTH

**2b. MAINTENANCE AND DEVALUATION OF THE VEHICLES  
CORRESPONDING TO 100% OF 2a - US\$ 416.00/MONTH**

Taking this data into account it was possible to calculate the operational costs for each house treated, for the various activities performed during the campaigns, according to SUCAM's methodology, i.e., mapping, surveillance, spraying, post-treatment evaluation and selective treatments:

**OPERATIONAL COSTS-HOUSE****1. MAPPING**

8 HOUSES/MAN/DAY - DURING 20 DAYS/MONTH = 480 HOUSES/MONTH

FIELD TEAM SALARIES	US\$ 1,867.00
SUPERVISION & TECHNICAL	US\$ 280.00
TRANSPORT	US\$ 832.00
TOTAL:	US\$ 2,979.00 : US\$ 6.2/HOUSE

**2. SURVEILLANCE**

6 HOUSES/MAN/DAY = 360 HOUSES/MONTH

FIELD TEAM SALARIES	US\$ 1,867.00
SUPERVISION & TECHNICAL	US\$ 373.00
TRANSPORT	US\$ 832.00
TOTAL	US\$ 3,072.00 : US\$ 8.5/HOUSE

**3. SPRAYING**

4 HOUSES/MAN/DAY = 240 HOUSES/MONTH

FIELD TEAM SALARIES	US\$ 1,867.00
SUPERVISION & TECHNICAL	US\$ 280.00
TRANSPORT	US\$ 832.00
TOTAL	US\$ 2,979.00 : US\$ 6.2/HOUSE

**4. POST-TREATMENT EVALUATION + SELECTIVE TREATMENT  
(X% OF THE HOUSES)**

COST OF SURVEILLANCE + X% OF THE COST SPRAYING + X% OF THE COST OF INSECTICIDE/HOUSE (GENERALLY CHEAPER THAN THE SPRAYING OF ALL HOUSES WITHOUT SURVEILLANCE)

To calculate the mean cost of the insecticide sprayed in each house, for each treatment group, the following formula and parameters were considered:

COST OF INSECTICIDE/HOUSE

COST  
INSECTICIDE/

$$\text{HOUSE} = \frac{\text{DOSE} \times \text{TREATED AREA} \times \text{PRICE FORMULATION}}{\text{CONCENTRATION} \times 10}$$

DOSE: g.a./m<sup>2</sup>

TREATED AREA: AVERAGE TREATED AREA OF DOMICILIARY UNITS  
(250 m<sup>2</sup> IN THIS ASSAY-POSSE-GO)

PRICE: IN US\$ / KG OR L OF FORMULATION

CONCENTRATION: OF THE FORMULATION BEFORE DILUTION

EG: BHC	DOSE:	0.8g
	AREA:	250 m <sup>2</sup>
	PRICE:	US\$ 4.00
	CONC.:	30%
	COST:	$\frac{0.8 \times 250 \times 4.0}{30 \times 10} = \text{US\$ } 2.7 / \text{HOUSE}$

Finally the formula for the total cost for each house to be maintained free of infestation during a one year period could be developed:

**TOTAL COST / HOUSE / YEAR PROTECTION**

$$\text{COST/HOUSE/YEAR} = \frac{MA+SU+SP+IN+(SU+x\%SP+x\%IN)n \times 12}{MO}$$

MA = MAPPING = 6.2 (US\$ /HOUSE)

SU = SURVEILLANCE = 8.5 (US\$ / HOUSE)

SP = SPRAYING = 12.8 (US\$ /HOUSE)

IN = COST OF INSECTICIDE / HOUSE

x = PERCENTAGE OF HOUSES TO BE TREATED IN THE SELECTIVE TREATMENTS.

n = NUMBER OF SELECTIVE TREATMENTS NECESSARY TO KEEP AROUND > 90% CONTROL AT LEAST ONE YEAR

MO = MONTHS WITH AROUND 90% CONTROL

EG = HCH

$$\text{COST/HOUSE} = \frac{6.2 + 8.5 + 12.8 + 2.7 + (8.5 + 0.38 \times 12.8 + 0.38 \times 2.7) \times 3 \times 12}{12} = \text{US\$ } 73.4$$

## Taller sobre la Evaluación de Efecto Insecticida sobre Triatominos (Workshop on the Insecticide Effect Evaluation in Triatominos)

1 al 4 de noviembre de 1994 - Buenos Aires - Argentina

Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas  
Zufriategui 4380 (1603) Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina  
Tel 761-0131/0331 (int 224) - Fax 54-1-7603210

WORLD HEALTH ORGANIZATION  
UNDP/WORLD BANK/WHO SPECIAL PROGRAMME TDR

### DISERTACIONES

- Perspectivas de eliminación de la transmisión vectorial y transfusional de la Enfermedad de Chagas en América: La iniciativa de los países del Cono Sur.

*Dr. Alvaro Moncayo*

- Control de la transmisión vectorial en Argentina

*Dr. Roberto Chuit*

- Control de la transmisión vectorial en Brasil

*Dr. Antonio C. Silveira*

- Control de la transmisión vectorial en Paraguay

*Dra. Olga Woroniecki*

*Dra. Antonieta Arias*

- Experiencias de monitoreo de resistencia en el Continente

*Dr. Michael Nelson*

- Perspectivas biológicas y ecológicas para el desarrollo de resistencia en Triatominos: Ciclo de vida, estrategias de control y Variables ambientales.

*Dr David Gorla*

- Evaluación biológica en laboratorio de actividad triatomicida: Necesidad de estandarización, Actividad Insecticida de Principios Activos, Actividad Insecticida de Formulaciones, Actividad residual, Efectos no letales (antialimentarios, repelencia, expurgue) y Determinación de la concentración de campo.

*Dr Eduardo Zerba*

- Evaluación estandar a campo : Protocolo estandar, Monitoreo de desinsectación, Efectividad residual y Acceso estadístico

*Dr Alfredo Oliveira Filho*

- Métodos de Detección y Monitoreo de Resistencia en Triatominos: Evaluación de resistencia, Ensayos de laboratorio, Ensayos a campo, Evaluaciones bioquímicas, Dosis discriminante vs Factor de resistencia.

*Dra María Inés Picollo*

#### NOTA:

Se espera obtener del Taller un protocolo estandar detallado para evaluaciones en laboratorio y a campo de susceptibilidad y resistencia de Triatominos a insecticidas

### LISTA DE PARTICIPANTES

- *Arias Antonieta*, Unidad de Medicina Tropical, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Río de la Plata y La gerezna, Casilla de Correo 2511, Asunción, Paraguay. Fax 595 21- 214094/449734.

- *Bermúdez H.*, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Simón, Avenida Esteban Arce, Casilla 3119, Cochabamba, Bolivia. Fax 01 591 42 82522. Tel 01 591 42 43380 / 47930

- *Chuit Roberto*, Director Nacional de Epidemiología, Ministerio de Salud y Acción Social, 9 de julio 1925, 9º piso, 1332, Buenos Aires, Argentina. Fax 54 1 383 0105. Tel 381 8911 / 49 (int 439)

- *Gorla David*, Centro de Investigaciones Entomológicas, Velez Sarsfield 299, 5000, Córdoba, Argentina. Fax 54 51 244092

- *Gurtler Ricardo*, Laboratorio de Ecología, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria (1428) Buenos Aires, Argentina. Fax 54 1 782 0620

- *Licastro Susana*, Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN)(CITEFA - CONICET), Zufriategui 4380, Villa Martelli (1603), Buenos Aires, Argentina. Fax 54 1 760 3210.

- *Oliveira-filho Alfredo*, Universidade Federal de Río de Janeiro, Nucleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Laboratorio de Biología, CCS, Bloco H. 21.941-590, Río de Janeiro, Brasil. Tel/Fax 55 21-270 3883.

- *Piccolo María Inés*, Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN) (CITEFA-CONICET), Zufriategui 4380, Villa Martelli (1603), Buenos Aires, Argentina. Fax 54 1 760 3210.

- *Salomón Daniel*, Instituto Nacional de Investigación en Enfermedad de Chagas (INDIECH), Ministerio de Salud y Acción Social, Av Paseo Colón 568 (1063), Buenos Aires, Argentina. Fax 54 1 331 7142.

- *Silveira Antonio*, Fundacao Nacional de Saúde, Ministerio da Saúde, Esplanada dos Ministerios, Bloco G, Anexo B do MS, sala 111, CEP 70.058.900, Brasília D.F., Brasil. Tel 55 61 315 2432. Fax 55 61 321 1842.

- *Woroniecki Olga*, Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo y otras Metaxénicas (SENEPA), Ministerio de Salud Pública, Brasil y Fulgencio R. Moreno, Asunción, Paraguay. Fax 595 21 210019.

- *Zerba Eduardo*, Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN) (CITEFA-CONICET), Zufriategui 4380, Villa Martelli (1603), Buenos Aires, Argentina. Fax 54 1 760 3210.

#### Secretaría

*Moncayo Alvaro*, UNDP/ World Bank/ WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Disease (TDR), World Health Organization (1211), Geneva 27, Tel 41 22 791 3865. Fax 41 22 788 0839.

*Nelson M.*, Oficina OPS / OMS Brasília, Setor Embaixadas Norte, Lote 19, 70800 - 400, Brasília, D.F. Brasil. Fax 55 61 321 1922.

## Iniciativa de los Países del Cono Sur

Alvaro Moncayo MD

Jefe Control de Tripanosomiasis y Leishmaniasis  
Organización Mundial de la Salud - Ginebra

Bajo la coordinación de la Organización Panamericana de la Salud y del Programa de Control de Enfermedades Tropicales en Ginebra, este proyecto busca interrumpir antes del Año 2000 la transmisión vectorial y transfusional de la Enfermedad de Chagas en **Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay**, en otras palabras, en dos terceras partes de la extensión de América del Sur.

Las herramientas que se tienen a la mano son eficaces y económicamente abordables por los Ministerios de Salud de los países mencionados: por una parte, desinsectización de las casas campesinas y su mejoramiento mediante el uso de insecticidas de efecto residual, de pinturas insecticidas de lenta liberación, de potes fumígenos, de nuevos materiales de construcción y, por otro lado, el tamizaje de las donaciones de sangre para transfusiones.

La Tripanosomiasis Americana o Enfermedad de Chagas, llamada así en honor del ilustre médico brasileño, Carlos Chagas es prevalente en las áreas rurales endémicas de América Latina desde México al sur de la Argentina ya que las malas condiciones de la vivienda favorecen la multiplicación del insecto vector que transmite el parásito causante, el *Trypanosoma cruzi*.

A partir de la década de los años 1970's la Enfermedad se ha "urbanizado", a causa de las donaciones de sangre infectadas de los migrantes del campo a las grandes ciudades en todo el Continente.

Se reconocen, pues, dos formas de transmisión: la vectorial a través de un insecto triatomíneo de varias especies, conocido localmente en los distintos países como "vinchuca", "barbeiro", "pito", "chinche picuda", "kissing bug" etc., y la forma transfusional de transmisión a través de las transfusiones de sangre infectada con el parásito.

La evolución de la Enfermedad de Chagas es de larga duración: después de un período asintomático que suele durar entre 15 y 20 años, el 30% de las personas infectadas presentan lesiones irreversibles del sistema nervioso autónomo que regula el funcionamiento cardíaco y del sistema digestivo dando como consecuencia el apareamiento de bloqueos y arritmias cardíacas y muerte súbita por embolismos o paro cardíaco. Además se producen dilataciones considerables de esófago, intestinos y colon conocidas como megavisceras.

Los estudios epidemiológicos adelantados con la estrecha colaboración de los Ministerios de Salud de los países de América Latina a comienzos de la década de los años 1980's permiten calcular que un total de 100 millones de personas, es decir un cuarto de los habitantes de América Latina, viven en áreas endémicas y están a riesgo de contraer la infección y que hay 18 millones de personas infectadas en todo el continente.

En los seis países que hacen parte de la "Iniciativa del Cono Sur" viven algo más de 60 millones de personas en áreas de alto riesgo de adquisición de la infección y se cuentan 11 millones de infectados, o sea un **70% de la prevalencia total del continente**.

De las cifras anteriores se puede derivar una incidencia de infecciones humanas de **1 millón de casos nuevos por año y un total de 45.000 muertes anuales** por las lesiones cardíacas irreversibles que hemos comentado.

El impacto económico de la Enfermedad es muy alto ya que las lesiones cardíacas afectan en su mayoría a personas jóvenes en edad de plena producción.

Si utilizamos como un indicador de la carga económica impuesta por la enfermedad, los años de vida incapacitante perdidos por los pacientes (lós AVADS o DALYS) vemos que estos suman 2 700 000, lo cual coloca a la Enfermedad de Chagas en tercer lugar en el mundo después de la Malaria y la Esquistosomiasis entre las Enfermedades Tropicales.<sup>(1)</sup>

Más aún, es la cuarta causa del total de las enfermedades transmisibles en América Latina y el Caribe después de las Infecciones respiratorias infantiles, las Enfermedades diarreicas y el SIDA.

Solamente en Brasil, entre 1979 y 1981 ocurrieron 14 000 muertes debidas a Enfermedad de Chagas en personas menores de 40 años, lo cual representa aproximadamente 260 000 Años de Vida potencial perdidos o el equivalente a 260 millones de dólares considerando el salario mínimo rural para ese entonces.<sup>(2)</sup>

En Argentina, cifras de 1994 nos hablan de 2 millones de infectados y 400 000 Electrocardiogramas anormales que muestran los bloqueos, hemibloqueos y arritmias característicos de la forma cardíaca de la Enfermedad. Los costos de atención médica de estos enfermos ascienden a 60 millones de dólares anuales.<sup>(3)</sup>

Teniendo, pues, como telón de fondo esta realidad clínico-epidemiológica y económica, la "Iniciativa de los Países del Cono Sur" fue establecida por los Ministerios de Salud de esos países en 1991 en Brasilia y ha venido trabajando a través de una Comisión Técnica Intergubernamental constituida por los responsables de los programas de control de estos países y por funcionarios de la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud.

La voluntad política de los Ministerios de Salud se ha concretado en las aportaciones presupuestales que se han hecho para financiar las actividades de control planificadas y evaluadas por la Comisión Intergubernamental en reuniones anuales. Entre 1991 y 1994, se han invertido más de 90 millones de dólares en la financiación de los programas nacionales de control.

Los resultados hasta el momento son los siguientes:

### ARGENTINA

Entre 1982 y 1993 se ha demostrado una disminución de cerca del 75% en los índices generales de infestación domiciliar por insectos triatomíneos transmisores del parásito en 13 de las 15 provincias endémicas del país.<sup>(4)</sup> De igual manera, la tasa de incidencia anual de enfermedad en el grupo de adultos jóvenes de 18 años, ha bajado de 4.8% en 1982 a 1.2% en 1993. <sup>(5)</sup> Se espera eliminar la transmisión vectorial y transfusional en el curso de los próximos cinco años. (Ver Gráfico 1)

### BRASIL

En 1982 había 711 Municipios de este país infestados con *Triatoma infestans*, la especie del insecto vector más importante; en 1993 únicamente había 98 Municipios infestados, es decir, que ha habido una importante reducción del 87%, quedando el resto para ser trabajado en un plazo de dos años.<sup>(6)</sup> De un modo parecido, datos de 1994 nos indican que la prevalencia de donaciones sanguíneas infectadas en todo Brasil cayó de 6.5% en 1982 a 1% en 1992, una marcada reducción de 85% <sup>(7)</sup>, (Ver Gráficos 2 y 3).

### CHILE

Entre 1982 y 1993 se ha demostrado una disminución del 90% en los índices generales de infestación domiciliar por insectos triatomíneos transmisores del parásito en todas las Regiones endémicas del país. De igual manera, la tasa de incidencia anual de enfermedad en el grupo de personas jóvenes de 15 años o menos, ha bajado en la IV Región de 20.3% en 1986 a 4.2% en 1992, es decir se ha reducido en un 80% <sup>(8)</sup>. Se espera eliminar la transmisión vectorial y transfusional en 1997.<sup>(9)</sup> (Ver Gráfico 4).

### URUGUAY

Entre 1983 y 1992 se ha logrado una disminución del 98% en los índices generales de infestación domiciliar por insectos triatomíneos transmisores del parásito en todas las áreas endémicas del país. De igual manera, la tasa de incidencia anual de enfermedad en el grupo de jóvenes de 12 años o menos, ha bajado de 2.4% en 1985 a 0.2% en 1993. Se espera eliminar la transmisión vectorial y transfusional en 1996.<sup>(10)</sup> (Ver Gráfico 5).

La situación en otras áreas endémicas del Continente requiere una adaptación de las estrategias de control usadas en los países del Cono Sur ya que el insecto transmisor no está establecido en las viviendas sino en los alrededores de las mismas.

De todas maneras el tamizaje de las donaciones sanguíneas infectadas se estableció desde el año pasado en los Países Andinos y en los Países de América Central.

GRAFICO 1

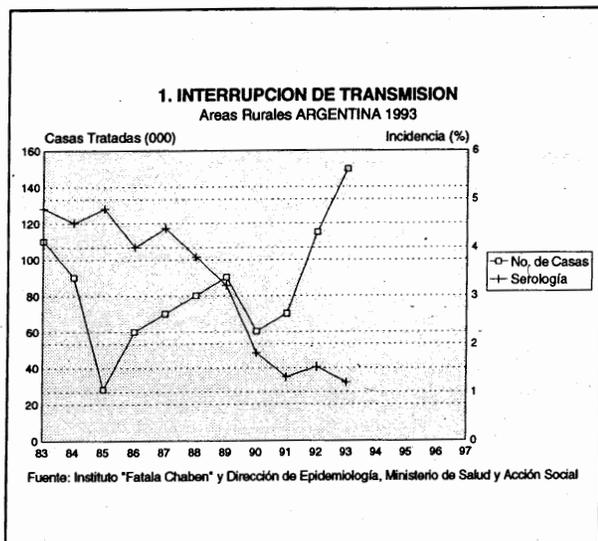


GRAFICO 4

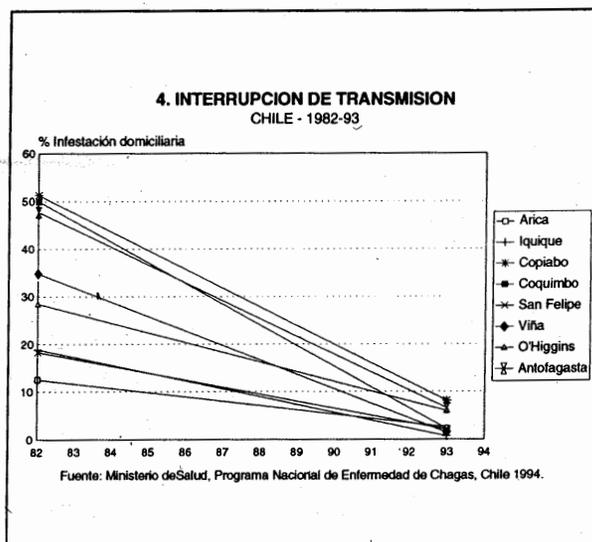


GRAFICO 2

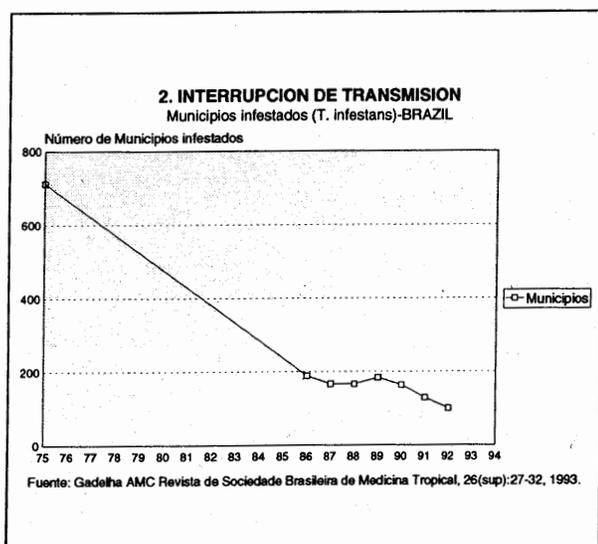


GRAFICO 5

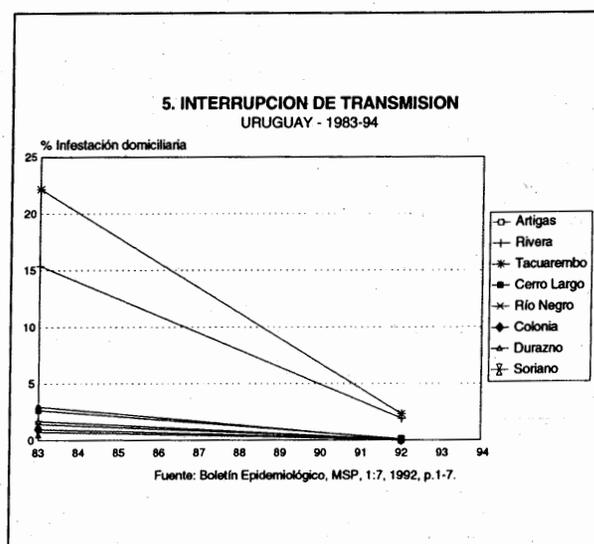
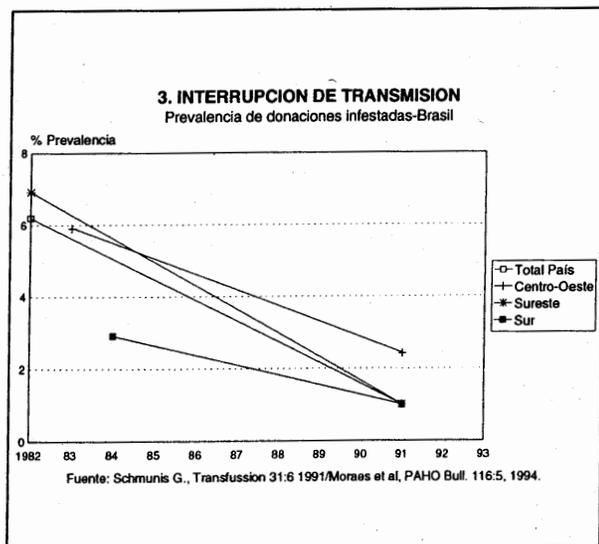


GRAFICO 3



REFERENCIAS

- (1) World Bank, World Development Report 1993, p.216 - 218.
- (2) TDR Tenth Programme Report, WHO, Geneva, 1990, p.76.
- (3) Ministerio de Salud y Acción Social, Dirección de Epidemiología, Buenos Aires, 1994 (Comunicación personal).
- (4) Ministerio de Salud y Acción Social, Dirección de Epidemiología, Anuario Programa Nacional de Chagas, Buenos Aires, 1993.
- (5) Informes Tecnicos Instituto "Fatala Chaben" y Ministerio de Salud y Accion Social, Buenos Aires, 1994.
- (6) Gadelha AMC, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 1993, 26(Sup.):27-32.
- (7) Moraes H. et al. PAHO Bulletin, 116:5, 1994.
- (8) Aguilera X, Apt W, Rodriguez J et al. Revista Medica de Chile, 1994, 122:254.
- (9) World Health Organization, Weekly Epidemiological Record, Geneva, 1995, 3:13-16.
- (10) World Health Organization, Weekly Epidemiological Record, Geneva, 1994, 6:38-40.

## Control Vectorial de la Enfermedad de Chagas en la República Argentina

Roberto Chuit<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dirección de Epidemiología, Secretaría de Salud.  
Ministerio de Salud y Acción Social. 9 de Julio 1925 - (1322) Capital federal, Bs. Aires.

La Enfermedad de Ghagas o Trypanosomiasis Americana, afecta exclusivamente al Continente Americano. Su distribución se corresponde con la dispersión de los triatomíneos domiciliarios, abarcando ésta una región comprendida desde Argentina y Chile<sup>1</sup> hasta los Estados Unidos de Norte América<sup>2,3</sup>.

Las acciones para controlar la transmisión de la Enfermedad de Chagas en Argentina tienen como inicio actividades efectuadas por Cecilio Romaña en Chaco, Carlos A. Soler en La Rioja y Carlos Bravo en Catamarca en la década de los años 50. A partir de 1962 se organiza el Servicio Nacional de Control de Chagas, y el Instituto Nacional

de Investigación de la Enfermedad de Chagas "Dr. Mario Fatala Chabén" (INDIECH), teniendo como objetivos efectuar el Control de la transmisión vectorial en 10 provincias Argentinas y el control de la transmisión interhumana respectivamente, a partir de 1974 la totalidad de las provincias fueron incluidas bajo programa.

Los beneficios de las acciones desarrolladas durante los últimos 30 años de funcionamiento del Programa, se observan en la modificación de las prevalencias serológicas en varones de 18 años, a ser incorporados para el Servicio Militar, que de un 10,3% de prevalencia en los años 1965-1969, desciende al 1,6% en 1992, 5. (Tabla 1).

**TABLA 1**  
**Prevalencias de Infección de *T. cruzi* en varones examinados en el reconocimiento médico de su clase para el Servicio Militar.**  
**Por Provincia, año de nacimiento y año de estudio, entre 1963 y 1992. Argentina 1993.**  
**\* años 1990-1991-1992 deben efectuarse ajuste por variación muestral en el denominador.**

PROVINCIA	CLASE/AÑO											
	63/81	64/82	65/83	66/84	67/85	68/86	69/87	70/88	71/89	72/90*	73/91*	74/92*
Cap. Fed.	2,26	0,8	1,57	0,9	0,71	0,94	0,85	1,02	0,6	0,4	0,7	0,6
Buenos Aires	2,74	2,39	2,31	0,18	0,15	1,19	1,04	1,08	0,77	0,68	0,65	0,71
Santa Fe	5,05	5,35	4,93	4,8	4,44	0,45	3,15	3,42	2,47	2,72	2,38	2,55
Formosa	10,1	8,6	10,8	13,39	10,16	12,88	16,66	13,16	9,8	8,8	10,2	6,8
Chaco	4,4	17,6	27,77	30,76	24,48	25,42	25,51	24,2	20,88	10,7	21,6	14,6
Entre Ríos	2,6	0,7	4,1	1,47	1,93	1,44	1,35	1,61	2,07	0,58	1,39	1,44
Misiones	4,3	2,3	2,13	2,43	2,4	2,63	2,44	2,8	1,9	1,3	1,7	2,00
Corrientes	2,1	3,1	2,6	3,99	1,27	1,33	4,12	2,03	2,6	0,75	2,17	1,86
Córdoba	3,96	3,84	5,59	3,52	3,05	3,25	2,8	2,92	2,13	1,33	2,13	1,11
Catamarca	24,3	14,3	11,43	5,8	5,3	5,93	7,56	9	7,8	6,5	4,6	2,6
Salta	11,8	7,7	14,62	2,43	11,11	11,72	12,57	9,95	8,3	4,6	7,7	2,2
Jujuy	14,6	7,4	9,94	6,58	8,96	7,24	10,46	6,54	5	5,2	4,7	4,2
Tucumán	7,8	6,2	6,78	5,17	4,57	3,48	3,58	3,57	2,6	1,6	1,7	1,3
Sgo. del Estero	23,7	23,7	14,22	17,83	26,42	22,14	32,06	22,62	24,2	14,8	15	7,6
La Rioja	6,21	9	9,2	6,16	7,45	12,59	14,58	12,23	9,8	8,8	6,8	9,8
La Pampa	10,65	5,6	7	6,24	6,1	4,45	5,02	4,24	2,3	2,2	3	2,1
Mendoza	5,29	3,2	6,49	4,7	5,31	5,12	5,87	4,59	4,2	1,8	4	1,4
San Juan	2,4	5,2	S/D	5,78	7,83	10	10,25	5,89	4,7	4,3	5,2	4,3
San Luis	17,3	15,4	13,09	9,96	10,7	10,05	10,78	5,64	8	7,1	7,6	4,7
Neuquén	3,02	S/D	2,48	1,56	2,31	0,43	0,24	0,93	0,3	0,6	0	0
Río Negro	5,31	2,64	2,14	2,21	2,16	2,99	0,61	1,01	0,7	1,6	0	0,7
Chubut	S/D	0,53	0,85	1,07	0,79	0,48	0,74	0,38	0,29	0,16	0,26	0,04
Santa Cruz	2,17	0	0,4	0,36	0,67	0,7	0	0,42	1,95	1,45	0,54	0,61
T. del Fuego	S/D	S/D	S/D	0,51	S/D	1,2	1,44	2,08	2	0	0	0,8
Total País	6,6	4,64	4,76	4,4	4,51	4,11	4,41	3,89	3,24	1,56	1,9	1,6
Estudiados	219.712	210.602	210.735	218.518	231.167	109.488	112.814	113.684	156.806	42.821	67.800	68.609

Fuente  
Instituto Nacional de Chagas "Dr. Mario Fatala Chabén".  
Dpto. Coordinación de Establecimientos Asistenciales, Secretaría de Salud. Ministerio de Salud y Acción Social.

Para poder efectuar un análisis más profundo del impacto de las acciones de control sobre la transmisión deberíamos reconocer que la transmisión vectorial y no vectorial de la infección por *T. cruzi* es constante (*i*) aceptándose que *i* está en función de la edad ( $nx = e^{-xi}$ ). Despejando *i* obtendríamos  $i = -\ln nx/x$ .

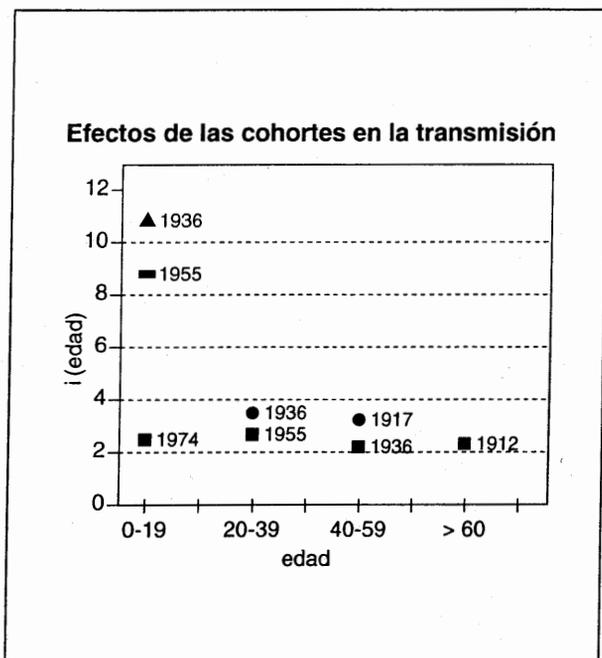
El mayor número de casos nuevos se produce antes de los 20 años de edad por lo cual el uso de esta fórmula permite observar el efecto que las acciones de control han tenido comparando las diferentes cohortes a una misma edad con posibilidades de exposición diferente\* (Tabla 2 y Gráfica 1).

**Tabla 2**  
Constante *i* para población expuesta a la misma edad (fecha de nacimiento)

Edad*	0-19	20-39	40-59	> 60
Cohort 1	2,7 (1974)	2,8 (1955)	2,1 (1936)	2,3 (1917)
Cohort 2	8,7 (1955)	3,5 (1936)	3,2 (1917)	
Cohort 3	11 (1936)	5,5 (1917)		

\* La fecha de nacimiento es considerada para el menor de la cohorte siendo el límite superior el de la cohorte siguiente.

**Gráfico 1**



En la tabla 2 se observa que *i* en las cohortes tiene diferentes valores. En los nacidos en 1936 es igual a 11, en los nacidos en 1955 es de 8,7, y en los nacidos en 1974 es de 2,7. Las diferencias observadas entre las cohortes de 1936 y 1955 pueden ser consideradas la variación normal producida por cambios en las condiciones generales de las poblaciones humanas expuestas. La observada entre 1955 y 1974 además de la variación normales el valor de  $i = 2,7$  es menor a lo esperado por un cambio general de las condiciones, debiéndose atribuir esta mayor diferencia a las acciones de control.

Si se pretende dar mayor cobertura, y que la misma sea efectiva protegiendo nuestras poblaciones de nuevas infecciones, se hace necesario producir cambios en la estrategia de control. La utilizada en el pasado dio lo suficiente, no mostrándose como la adecuada ante la realidad y los tiempos sociales actuales para producir un duradero y efectivo control de la Transmisión Vectorial de Chagas haciéndose necesario implementar una Estrategia de Participación Comunitaria que detecte y trate las viviendas.

Con la implementación de esta metodología de detección y tratamiento en manos de un agente de la comunidad de salud y comparándolo con las acciones desarrolladas por el programa de control en una etapa de vigilancia se obtuvieron los siguientes resultados\*:

- 1 - El Biosensor detectó mayor número de casas con vectores que el programa de control.
- 2 - La reducción del número de insectos capturados en el interior de la vivienda fue mayor cuando trabajó el agente sanitario/comunitario (16,6 veces) versus lo logrado por el programa de control (4,6 veces).
- 3 - Los costos de las acciones efectuadas por el agente sanitario/comunitario fueron 5 veces más bajas que las realizadas por el programa de control.

Se observó que de una infección inicial de los *T. infestans* por *T. cruzi* del 38% en las comunidades, luego de 3 años en las áreas que trabajó el agente sanitario/comunitario mostraron una infección de los vectores del 0% y las trabajadas por el programa de control (SNCh) fue del 10%.

Se puede concluir, que a menor costo, son posibles acciones que permiten dar una buena cobertura/protección a la población bajo riesgo, con acciones de alta calidad técnica que no sólo logran disminuir el número de los insectos en las viviendas, sino que también logran la reducción de la infección de los mismos por *T. cruzi*.

Debemos remarcar que el factor más importante es que con la utilización de tecnologías apropiadas es posible que el mismo habitante tenga elementos que permitan actuar cuando su familia esta bajo riesgo de infección.

Con esta filosofía se ha redimensionado el Programa Nacional de Chagas para lograr una mayor capacitación y utilización de los recursos disponibles en las localidades bajo riesgo. No es posible decir, con los conocimientos actuales, que una misma estrategia sirve por igual en todas las regiones Argentinas, ya que se diferencian no sólo por condiciones climáticas sino también por condiciones sociales.

Se debe remarcar que la Enfermedad de Chagas si bien tiene un costo de Atención Médica estimado en \$ 60.000.000 por año en la Argentina, los Años de Vida Ajustado a la Discapacidad (AVAD) le representan aproximadamente \$ 221.000.000 por año a la sociedad por los 2.300.000 infectados por *T. cruzi* y los más de 400.000 personas que presentan alteraciones en sus electrocardiogramas en la Argentina.

Actualmente los estados de Jujuy y Catamarca están siendo evaluados externamente por el Programa Nacional para corroborar que están en vigilancia, asegurando la instalación de la vigilancia entomológica con agentes de la comunidad para solicitar en un futuro cercano una evaluación internacional.

La participación comunitaria con utilización de tecnología apropiada se ve en estos momentos como la indicada y factible para proveer una solución duradera y autónoma para la población, logrando el objetivo de producir un control definitivo y permanente de la Transmisión Vectorial de Chagas.

## Referencias

1. Schmuniz, G.A.; Szarfman, A. Congenital Chagas Disease Medicina (Bs. As.) 37:42-53. 1977.
2. Farrar, W.; Gibbins, S.; Whitefield, S. Low prevalence of antibody to Trypanosoma Cruzi in Georgia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 21 (4):324-331. 1978.
3. UNDP/WORLD BANK/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). Tropical Diseases. Progress in Research, 1989-1990. Tenth Programme Report, Chagas Disease, 69. WHO, GENEVA.
4. Cerisola, J.A.; Rabinovich, A.; Alvarez, M.; Di Corletto, C.A. y Pruneda, J. Enfermedad de Chagas y la transfusión de sangre. Bol Of Sanit Panam 73 (3):203-221, 1972.
5. Chuit, R.; Singer, B. Datos no publicados.
6. Chuit, R.; Singer, B.; Evequoz, M.C.; Segura, E.L. En prensa.

## Controle da Transmissão Vetorial da Doença de Chagas no Brasil<sup>(1)</sup>

Antônio Carlos Silveira<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Apresentado no "Taller sobre Evaluación de Efecto Insecticida sobre Triatomíneos", Buenos Aires - Argentina, novembro de 1994. Publicado em parte em suplemento de la Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

<sup>(2)</sup> Coordenador de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores, Ministério da Saúde, Brasil.

A doença de Chagas, primitivamente um zoonose, passou a se constituir em problema de saúde humana, a partir da domiciliação dos vetores. A desagregação do ambiente natural, com o deslocamento de triatomíneos de seus ecótopos silvestres primitivos, é que determinou a transmissão domiciliar da doença.

Além dos determinantes "ecológicos", há aqueles de natureza econômica e social, expressos pelas más condições de habitação. É doença de espaços abertos, naturais ou decorrentes da ação antrópica<sup>(3)</sup>, e é doença produzida pela pobreza.

A transmissão vetorial, é o mecanismo primário de difusão da doença, e dele dependeram, ou dependem, outras formas de transmissão (transfusão, transplacentária).

O marco inicial do controle da doença de Chagas no Brasil foi a criação do Centro de Estudos da Fundação Oswaldo Cruz no ano de 1943 em Bambuí, Minas Gerais. Aí, foram desenvolvidas as bases para o controle químico dos vetores, com ensaio de um "novo inseticida" (Gamexane) em localidades infestadas na região do Triângulo Mineiro.

No ano de 1948, DIAS e PELLEGRINO confirmavam em provas de campo a ação tóxica do isômero gama do hexaclorocicloexano sobre populações domiciliadas de triatomíneos, com resultados próximos àqueles colhidos por ROMANA e ABALOS na Argentina, nesse mesmo ano. Esses resultados levaram à decisão de se delegar ao então Serviço Nacional de Malária (SNM), a direção das primeiras "campanhas de profilaxia" da doença de Chagas no país, ao longo do vale do Rio Grande, entre os estados de Minas Gerais e São Paulo (1950).

Apesar da magnitude do problema representado pela doença de Chagas e, de se dispor de tecnologia comprovadamente eficaz, isso não foi bastante para manter uma ação regular de controle da doença a partir de então. Entre 1950 e 1975 atividades apenas pontuais e descontínuas foram cumpridas, o que dependeu de um aporte insuficiente de recursos para dar atendimento a toda a extensa área com transmissão. Certamente muitos casos foram produzidos nesse período, e que contribuem em grande medida para a grande massa de chagásicos crônicos que hoje demandam atendimento.

A partir de 1975, com os avanços obtidos com a erradicação da malária e com os recursos daí excedentes, o controle da doença de Chagas no país passou a merecer algum nível de prioridade. A rigor, apenas em 1977/78 as ações foram sistematizadas e estruturadas na forma de programa com alcance nacional.

No sentido de atualizar a informação disponível sobre a distribuição dos vetores e a prevalência da infecção humana, entre 1975 e 1980 foram promovidos inquéritos entomológico e sorológico, por amostragem, em todo país<sup>(4)</sup>. Com base na informação colhida foi redenhada a área endêmica até então conhecida, identificadas, aquelas de maior risco e, a partir daí, priorizadas as ações de controle.

No ano de 1982, a partir de ensaios de campo<sup>(5,6)</sup>, promoveu-se a substituição do inseticida clorado até então utilizado (BHC a 30% de isômero gama) por piretróides de síntese.

Outro marco importante na história do controle da doença de Chagas no país foi o ano de 1983, quando se alcançou a totalidade da área com vetores domiciliados e quando o controle vetorial foi exercido em caráter pleno. Assim se manteve pelo menos até o ano de 1986, quando repetidas epidemias de dengue comprometeram em grande medida as atividades de controle da doença de Chagas.

O caráter crônico da doença, e a população afetada ou sob risco predominantemente rural, economicamente "pouco importante" e sem qualquer poder de reivindicação determinam que a prioridade conferida ao controle da endemia chagásica seja "instável e precária".

Ainda que as atividades tenham sido em parte perturbadas, desde o ingresso do dengue, os indicadores entomológicos de uso rotineiro apontam para a virtual eliminação da principal espécie vetora no país (*Triatoma infestans*). Inquéritos sorológicos, ainda limitados, demonstram importante redução na transmissão vetorial da doença de Chagas.

A área originalmente endêmica, ou com risco de transmissão, correspondia então (1983) a 36% do território do país, com triatomíneos domiciliados em 2.493 municípios, o equivalente a 50,1% do total (4.974) (Fig. 1). A população sob risco era de aproximadamente 60 milhões, com 4,2% da população rural infectada<sup>(1)</sup>.

Na avaliação das respostas colhidas com controle químico, há preliminarmente que distinguir as espécies de vetor envolvidas.

Das mais de cem (100) espécies conhecidas, quarenta e duas (42) foram já identificadas no país, das quais ao menos trinta (30) foram capturadas, em diferentes situações e circunstâncias, no ambiente domiciliar<sup>(4)</sup>.

Quando concluídos os levantamentos entomológicos iniciais, como parte da rotina de operações do programa (1983), não mais do que cinco<sup>(5)</sup> espécies se julgava importantes na transmissão ao homem (*Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida*).

Toda atividade de controle desenvolvida até aqui fez com que a importância relativa desses vetores, e de outros, fosse significativamente alterada e, de outra parte, que novos conhecimentos fossem produzidos, a serem agora incorporados à metodologia e operações do programa, no componente controle vetorial.

Propõe-se sejam as espécies agrupadas nas categorias seguintes, que determinam diferentes objetivos e expectativas sob o ponto de vista do controle:

### GRUPO 1

*Triatoma infestans* (Klug, 1834)

*Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773)

Tem em comum o fato de que são espécies introduzidas e estritamente domiciliares no Brasil. Como tal, podem ser eliminadas, sem possibilidade de reinfestação a partir de focos extradomiciliares.

A importância de uma e outra é bastante distinta.

*Triatoma infestans* é a espécie com maior antropofilia e mais adaptada ao domicílio e, por isso, o mais importante vetor da doença de Chagas no país.

*Triatoma rubrofasciata*, ainda que completamente domiciliado tem pouca ou nenhuma participação na transmissão ao homem, desde que tem como fontes alimentares preferenciais roedores domésticos.

### GRUPO 2

*Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835)

*Triatoma brasiliensis* (Neiva, 1911)

São espécies nativas de diferentes áreas do país.

Em função disso não são passíveis de eliminação pelo controle químico continuado e regular, como aquelas espécies do "grupo 1", uma vez que as casas tratadas podem ser reinfestadas a partir de focos silvestres. Pode-se manter apenas níveis de infestação incompatíveis com a transmissão.

*Panstrongylus megistus* é bastante domiciliado ao longo da porção mais litorânea da região nordeste (zona da mata) e, no interior, em áreas com matas galerias; ao contrário, na região sul, onde está presente em ecótopos silvestres, invade apenas esporadicamente a casa e constitui colônias no domicílio muito raramente.

*Triatoma brasiliensis* tem larga distribuição no semi-árido do nordeste, onde tem como ecótopos naturais locais de pedras e ocos de árvores, e de onde invadem e colonizam a habitação com muita frequência e regularidade.

As duas espécies têm em comum, além do fato de que são nativas e de que ocupam e colonizam a casa com muita constância, o fato de que invadem o domicílio mesmo quando esgotadas as fontes de alimentação no peridomicílio.

### GRUPO 3

*Triatoma pseudomaculata* (Correa e Espínola, 1964)

*Triatoma sordida* (Stål, 1859)

São também espécies nativas de diferentes regiões do país.

Não são "erradicáveis", podendo reinvidir a habitação desde seus ecótopos silvestres, assim como as espécies do "grupo 2". Estão aqui reunidas pelo fato de apresentarem marcada ornitofilia, o que as faz vetores, até aqui, menos importantes do que *P. megistus* e *T. brasiliensis*,

ainda que tanto *T. pseudomaculata* como *T. sordida* possam colonizar a casa, a partir de uma densidade crítica quando a oferta alimentar no peridomicílio é esgotada.

*T. pseudomaculata* tem distribuição aproximadamente equivalente a de *T. brasiliensis*, no semi-árido da região nordeste. Seus ecótopos preferenciais no ambiente extradomiciliar são ninhos de aves e copas de palmeiras.

*T. sordida* é espécie que pertence ao domínio dos cerrados, onde está presente com mais frequência em "paus secos" e em ninhos de aves.

#### GRUPO 4

*Rhodnius neglectus* (Lent, 1954)  
*Rhodnius nasutus* (Stål, 1859)  
*Rhodnius prolixus* (Stål, 1859)  
*Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843)  
*Triatoma vitticeps* (Stål, 1859)

Nesse grupo estão reunidas espécies potencialmente vetoras que, por razões e circunstâncias diversas, considera-se podem vir a desempenhar papel relevante na transmissão domiciliar da doença.

*R. neglectus* e *T. rubrovaria*, vem ocupando o espaço aberto pela eliminação de *Triatoma infestans* em algumas áreas. Em Goiás com *R. neglectus* e no Rio Grande do Sul com *T. rubrovaria*. Ambas as espécies tem sido encontradas naturalmente infectadas e, algumas vezes, colonizando o interior da casa.

*R. nasutus*, nos estados do Ceará e, particularmente do Rio Grande do Norte, tem importância em áreas localizadas, onde tem sido verificada a existência de colônias intradomiciliares. As taxas de infecção natural por *T. cruzi* são baixas.

*R. prolixus*, a mais importante espécie vetora em alguns outros países do continente, foi identificado em focos silvestres no estado do Tocantins<sup>(9)</sup>. Achado ainda sujeito à confirmação, e a ser mais amplamente estudado.

*T. vitticeps* tem distribuição limitada aos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Minas Gerais. Ainda que não constitua colônias intradomiciliares com muita frequência, é a espécie que apresenta as mais altas taxas de infecção natural por *T. cruzi*.

Esse grupo de espécies têm em comum a condição de representarem, potencialmente, risco para o estabelecimento ou incremento da transmissão em áreas localizadas (*R. nasutus*, *R. prolixus* e *T. vitticeps*), ou o reestabelecimento da transmissão em áreas agora livres de *T. infestans* (*R. neglectus* e *T. rubrovaria*).

#### GRUPO 5

*Triatoma melanocephala* (Neiva & Pinto, 1923)  
*Triatoma tibiamaculata* (Pinto, 1926)  
*Triatoma petrochii* (Pinto & Barreto, 1925)  
*Triatoma circummaculata* (Stål, 1859)  
*Triatoma lenti* (Sherlock e Serafim, 1967)  
*Triatoma matogrossensis* (Leite e Barbosa, 1953)  
*Triatoma williamsi* (Galvão, Souza e Lima, 1965)  
*Panstrongylus lutzi* (Neiva e Pinto, 1923)  
*Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811)  
*Panstrongylus diasi* (Pinto e Lent, 1946)  
*Panstrongylus tuppynambai* (Lent, 1942)  
*Panstrongylus lignarius* (Walker, 1873)  
*Rhodnius pictipes* (Stål, 1872)  
*Rhodnius domesticus* (Neiva e Pinto, 1923)  
*Rhodnius robustus* (Larrousse, 1927)  
*Rhodnius brethesi* (Matta, 1919)  
*Eratyrus mucronatus* (Stål, 1859)  
*Psammolestes tertius* (Lent e Jurberg, 1965)  
*Microtriatoma trinidadensis* (Lent, 1951)

Todas essas espécies são de hábitos estritamente silvestres, intervindo apenas na manutenção da enzootia chagásica.

Essa classificação corresponde à situação atual, no que se refere a participação das diferentes espécies de triatomíneos no ciclo domiciliar de transmissão da doença de Chagas no país. Está sujeita (e é desejável) a permanente revisão e atualização.

A classificação proposta deve implicar na prática na definição de objetivos, prioridades e da metodologia a seguir.

**Para espécies estritamente domiciliares (grupo 1) o objetivo com o controle químico "pode ser" a completa eliminação desses vetores e a interrupção da transmissão natural da infecção chagásica.**

No caso de *Triatoma infestans* esse objetivo "deve ser" perseguido em caráter absolutamente prioritário. Já se demonstrou possível em extensas áreas do país. É hoje proposta "sub-regional" a nível continental ("Iniciativa dos Países do Cone Sul para Eliminação do *Triatoma Infestans* e Controle da Transmissão Transfusional", Reunião de Ministros da Saúde dos Países do Cone Sul, Brasília, 1990).

Para *Triatoma rubrofasciata* mesmo que seja possível a eliminação, esse não é o objetivo pretendido. Não se confere à espécie prioridade para efeito de controle. Até o momento não se demonstrou participar, de forma que mereça atenção, na veiculação da doença.

**No caso de espécies de comportamento ubiqüista (grupos 2 e 3), o objetivo bu nível de controle possível é a manutenção das casas (intradomicílio) livres de colônias, o que inviabilizaria a transmissão.**

Essas espécies poderiam a rigor estar reunidas em um mesmo grupo. O objetivo é o mesmo. O que as distingue é o fato de que aquelas do grupo 2 (*Panstrongylus megistus* e *Triatoma brasiliensis*) apresentam maior taxa de infecção natural e domicílios mais facilmente. Em relação a *P. megistus* se está aqui considerando aquele prevalente no litoral úmido do nordeste e em outras regiões onde é, depois de *T. infestans*, a espécie com maior capacidade de domiciliação.

Com isso, em termos de prioridade para o controle *P. megistus* e *T. brasiliensis* antecedem *T. pseudomaculata* e *T. sordida*.

**O objetivo em relação às espécies do grupo 4 (*R. neglectus*, *R. nasutus*, *R. prolixus*, *T. rubrovaria* e *T. vitticeps*), deve ser o de prevenir o ingresso e colonização dos domicílios, mantendo para isso rigoroso monitoramento, através de vigilância entomológica de caráter permanente.**

O nível de prioridade conferido a essas espécies é o mesmo, ainda que sua importância seja determinada por condições distintas.

**Todas as demais espécies (grupo 5) são ainda exclusivamente silvestres, não demonstrando até aqui qualquer capacidade invasiva em ecótopos artificiais.**

A categorização das espécies brasileiras a partir dos resultados observados, deve ser incorporada à prática do programa, com adequação da metodologia a cada diferente situação.

Importa aqui fazer referência a alguns dados em particular, que evidenciam o controle da principal espécie vetora, *Triatoma infestans*. Nas tabelas 1 e 2 e Fig. 2, apresentada a seguir, de se destacar:

1. que o número de municípios com *T. infestans*, em relação ao total de pesquisados, foi reduzido de 30,4% em 1983 à 7,6% em 1993;
2. que, em termos absolutos, a redução da área com *T. infestans* foi ainda mais importante, de 711 municípios em 1983 para 83 em 1993 dados a que se pode atribuir confiança pela prioridade conferida ao controle da espécie, o que significa ser improvável a não inclusão de qualquer município com *T. infestans* entre aqueles pesquisados;
3. que a participação de *T. infestans* no total de triatomíneos capturados, incluídas todas as espécies, em 1983 era da ordem de 13,5% (84.334 / 622.822) e, em 1993 foi de apenas 0,9% (2.573 / 292.630).

Estes dados são bastantes para se avaliar o forte impacto do controle químico sobre populações de *Triatoma infestans*. A repercussão, sobre a morbidade e, até mesmo sobre a mortalidade por doença de Chagas, pode já ser evidenciada pelos dados constantes das tabelas 3 e 4 e Figs. 3 e 4.

Em relação à mortalidade, apesar do perfil de distribuição etária (Fig. 5), é notável que o coeficiente específico por doença de Chagas tenha experimentado uma queda de 5,2 / 100.000 habitantes em 1980 para 4,1 / 100.000 em 1990.

TABELA 1 - Municípios com *Triatoma Infestans* em Relação aos Pesquisados Brasil 1975/83, 1986 a 1993

ANO	PESQUISADOS	c/T. Infestans	%
75/83	2.342	711	30,4
86	1.549	187	12,1
87	1.202	166	13,8
88	1.207	164	13,6
89	1.234	181	14,7
90	1.327	163	12,3
91	1.360	127	9,3
92	1.049	98	9,3
93	1.098	83	7,6

Fonte: MS/FNS/GT-CHAGAS

**TABELA II**  
Número de Exemplares Triatomíneos capturados, número de Exemplares de T. Infestans capturados e Percentual de T. Infestans. Brasil 1983, 1986 a 1993

AÑO	N° EXEMPLARES CAPTURADOS		
	TODAS AS ESPECIES	T. INFESTANS	T. INFESTANS %
1983	2.342	711	30,4
1986	1.549	187	12,1
1987	1.202	166	13,8
1988	1.207	164	13,6
1989	1.234	181	14,7
1990	1.327	163	12,3
1991	1.360	127	9,3
1992	1.049	98	9,3
1993	1.098	83	7,6

Fonte: MS/FNS/GT-CHAGAS

**TABELA III**  
Casos de Internação Hospitalar por doença de Chagas. Brasil 1984 / 1993

AÑO	N° DE CASOS INTERNADOS
1984	1.750
1985	1.595
1986	1.462
1987	1.588
1988	2.163
1989	2.177
1990	1.862
1991	1.838
1992	1.557
1993	1.336

Fonte: CCDTV / DEOPE

**TABELA IV**  
Numero de obitos e coeficiente especifico de mortalidade por doença de Chagas por 100.000 Hab. Brasil 1980/1990

AÑO	N° OBITOS	COEF. MORTALIDADE
1980	6191	5,2
1981	6543	5,4
1982	6139	5,0
1983	6016	4,8
1984	6274	4,9
1985	6124	4,7
1986	6159	4,6
1987	5958	4,4
1988	6257	4,5
1989	6032	4,3
1990	5836	4,1

Fonte: CCDTV / DEOPE

**ÁREA ORIGINALMENTE ENDÊMICA (COM TRANSMISSÃO VETORIAL) DA DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL**

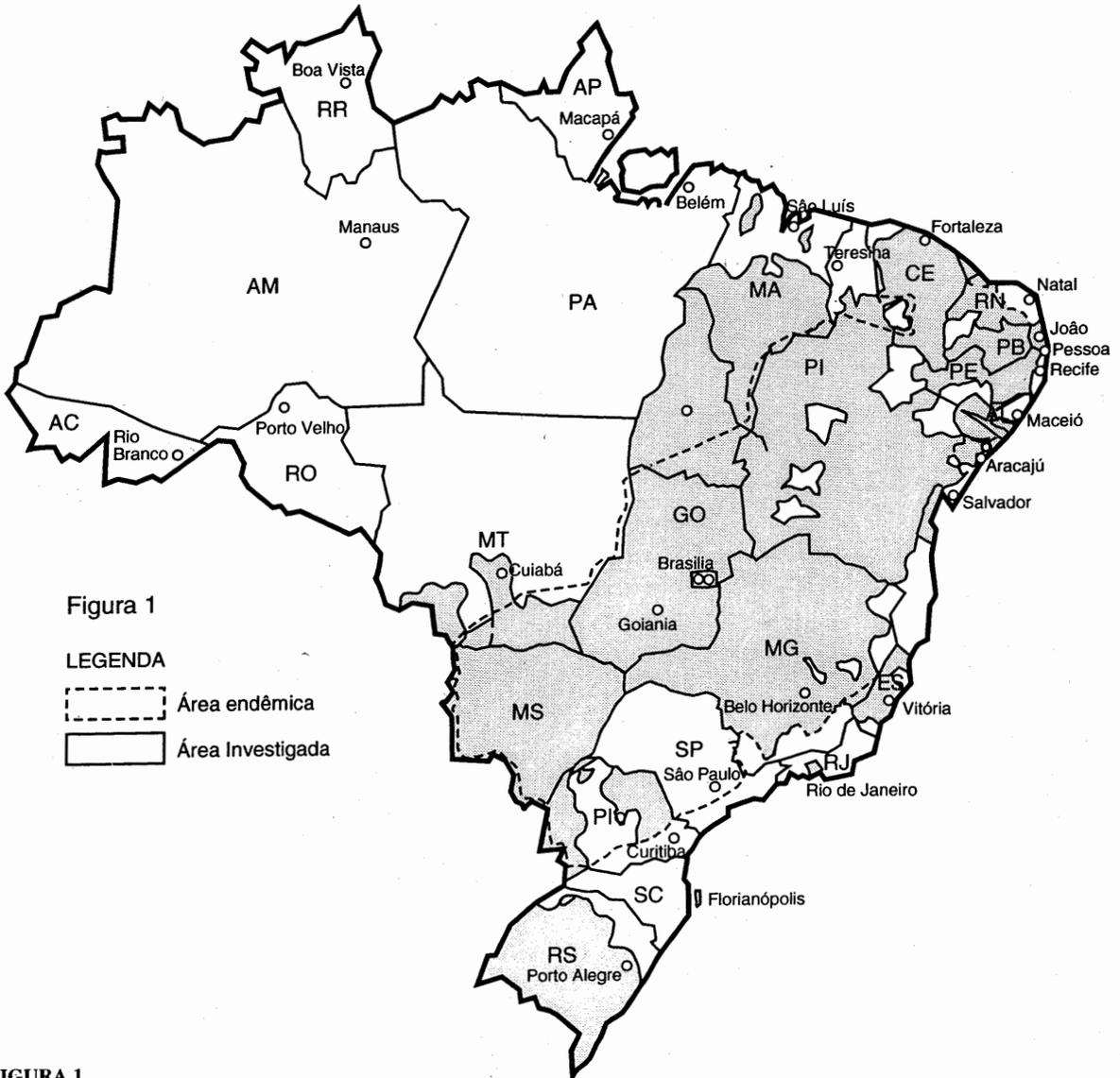
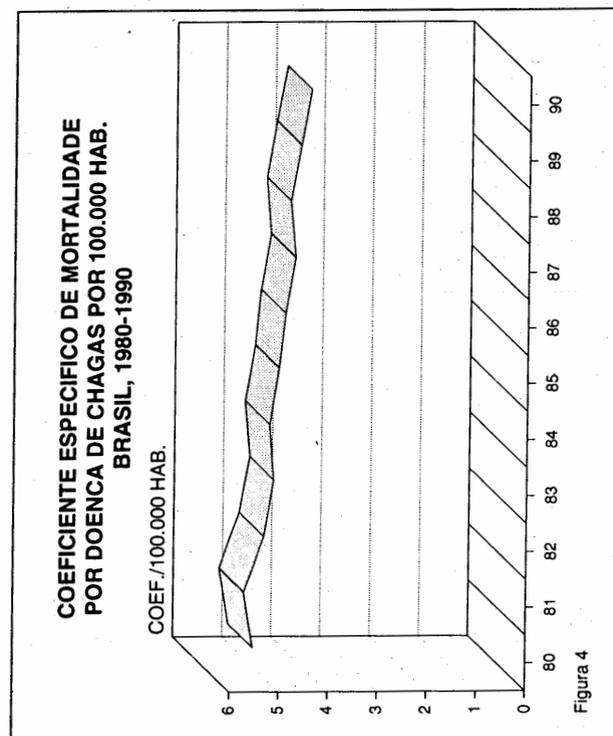
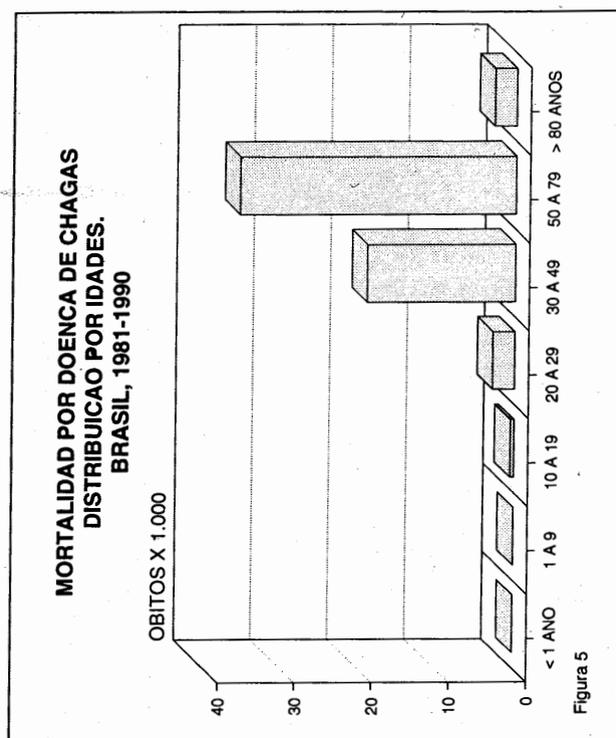
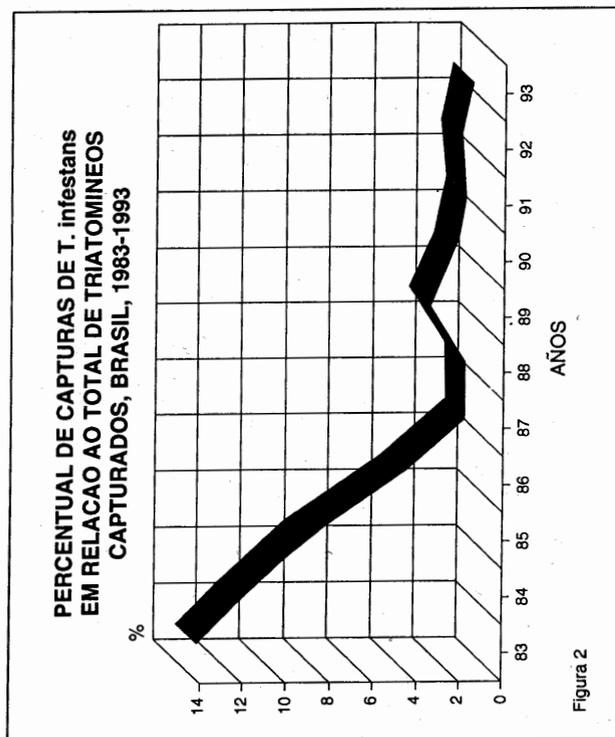
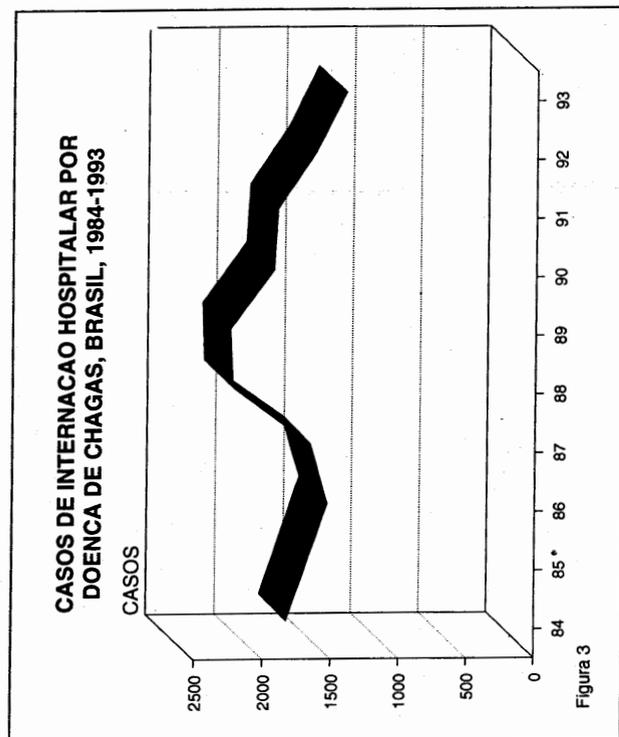


FIGURA 1



#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) CAMARGO, M. E. R., et alli. Inquérito Sorológico de Prevalência da Infecção Chagásica no Brasil, 1975 - 1980. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 26(4) : 179 - 236, 1984
- (2) FORATINI, O. P. Biogeografia, Origem e Distribuição da Domiciliação de Triatomíneos no Brasil. *Rev. Saúde Públ. S. Paulo* 14: 265 - 299, 1980
- (3) OLIVEIRA FILHO, A. M., et alli. Posse Large Scale Field Trial of Alternative Insecticides and Formulations for the Control of Chaga's Disease Vectors (Preliminary results). In: *Reunião Anual sobre Pesquisa Básica em*

*Doença de Chagas, Caxambu, 1985. Programa e Resumos. s.l. CNPQ/FINEP, pag. 144.*

- (4) SILVEIRA, A. C.; FEITOSA, V.R. e BORGES, R. Distribuição de Triatomíneos Capturados no Ambiente Domiciliar no Brasil, 1975 / 1983. *Rev. Brasil. Malariol. e D. Trop.* 36 : 15 - 312, 1984.
- (5) SILVEIRA, A. C. e DIOTAIUTI, L., Sobre o Encontro de *Rhodnius prolixus*, Stal, 1859, em Macaubeiras. *Rev. Brasil. Malariol. e D. Trop.* 36:11-14, 1984.
- (6) SILVEIRA, A. C. O Programa de Controle da Doença de Chagas no Brasil. *Ann. Soc. Belge. Med. Trop.* 65 : 137 - 148, 1985.

## Control de la Transmisión Vectorial en el Paraguay

Lic. Olga B. Woroniecki

### INTRODUCCION

El Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo (SENEPA), fue creado por Ley 458 del 12 de setiembre de 1957.

Su objetivo fundamental es la Lucha contra los Vectores, para la prevención y control del Paludismo, la enfermedad de Chagas, el Dengue, la Fiebre Amarilla, la Leishmaniasis y la Esquistosomiasis, así como también el tratamiento de los efectos por estas patologías.

La estructura organizacional del SENEPA, a nivel nacional, permite operacionalizar un Plan de Acción condicionado por la extensión e intensidad de los problemas para la salud pública y económicos que ocasionan estas Enfermedades.

### DESCRIPCION DEL PAIS

El Paraguay cuenta con una superficie de 406.742 Km<sup>2</sup>, con una densidad poblacional de 10,2 habitantes x Km<sup>2</sup>. En 1992, sin embargo, se advierte una distribución espacial desequilibrada.

En efecto, el Paraguay consta de dos Regiones naturales bien diferenciadas, separadas por el Río del mismo nombre. La Región Occidental o Chaco Paraguayo, a pesar de representar más del 60% del territorio nacional, sólo alberga al 2,5% de la población 0,5 habitantes x Km<sup>2</sup>, mientras que la Región Oriental concentra el 97,5% de la población, arrojando así, una densidad poblacional de 25,3 habitantes x Km<sup>2</sup>.

A nivel socio administrativo, el país está dividido en 17 Departamentos, más la Capital, Asunción.

Entre las divisiones territoriales altamente pobladas se puede mencionar a la ciudad de Asunción, con una densidad de 428,1 habitantes x Km<sup>2</sup>. Estas dos entidades geográficas representan el 33% de la población paraguaya.

La estructura por Edad es predominantemente joven, de cada diez personas, cuatro son menores de 15 años, con 46% en Area Rural y 37% en Area Urbana.

La participación de la población de 12 años y más de edad en la actividad económica por sexo, es marcadamente diferente, 78% hombre y 24% mujeres.

Las viviendas particulares clasificadas, por tipo, muestra que, a través del tiempo se mantiene el predominio de las Casas o Ranchos. En el período 1962-1992 su importancia relativa superó el 95%.

En el área rural casi la totalidad de las viviendas están incluidas dentro de la categoría Casa-Rancho (99,3%) siendo mínima la proporción de otro tipo de vivienda.

En el área urbana, si bien el porcentaje de Casa-Rancho es bastante alto, 92%, se puede destacar también la presencia del Inquilinato (5,1%). Existe una leve participación del tipo Departamento o Piso (1,8%) que se encuentra exclusivamente en áreas urbanas.

Las viviendas particulares ocupadas con personas presentes por tipo de vivienda, según área urbana-rural y materiales predominantes en las paredes exteriores, piso y techo son como sigue.

En las viviendas particulares ocupadas con personas presentes, se observa el N° promedio de ocupantes x pieza y dormitorio.

### CARACTERISTICA EPIDEMIOLÓGICA

El SENEPA realizó levantamiento Triatomínico desde 1981 a 1985 que incluyeron 14 Departamentos de la Región Oriental, evaluado un total de 2732 viviendas y 2795 ejemplares de Triatoma Infestans. El porcentaje de infestación para la Encuesta fue de 14%, y un índice de infección natural en Triatominos del 11%.

Los estudios sero-epidemiológicos emprendidos a partir de 1982 por la Lic. Antonieta de Arias y colaboradores, en dos localidades de la Región Oriental y Occidental, respectivamente, donde el Triatoma Infestans fue el único vector, los índices serológicos oscilaron entre el 20 y 30 %.

En 1986 en un informe publicado por el SCIENTIFIC TECHNICAL REVIEW COMMITTEE STRC/OMS, demostró datos relativos al Paraguay para el período de 1983-1984, con 59,5% de infestación triatomínica y una infección del 21,4 %.

Con el diseño del Programa Nacional de Chagas, en 1994 fueron inspeccionados las viviendas de 52 Distritos del Departamento de Cordillera y 46 del Departamento de Paraguari (Región Oriental), arrojando un resultado de 100 % positivas a la presencia de Triatominos con una parasitemia positiva del 18,4 %.

En la Región Occidental se trabajó en 60 localidades donde el 70 % fueron positivas a la presencia de Triatominos con densidades altísimas por casa. Se capturaron hasta 3.000 por viviendas, todas infestadas con Triatoma Cruzi.

Los datos obtenidos hasta la fecha han servido de apoyo para la elaboración y ejecución de proyectos que intentan seleccionar las formas de control más efectivas en zonas de alta endemia.

En 1994 se desarrollaron Encuestas sero epidemiológicas y entomológicas en la Región Occidental. En el primer semestre los datos obtenidos nos permitió realizar actividades más integrales en las poblaciones.

Así, dentro del marco de la Comisión Interrinstitucional del Programa de Chagas, el SENEPA y el I.I.C.S. (Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud), realizaron un estudio sero epidemiológico y rociado, en dos poblaciones Indígenas a 346 Km. de Asunción, en 45 viviendas, el 100 % estaban infestadas con Triatominos, También se realizó el estudio serológico de sero positividad para la infección de T. Cruzi de 85,7 % y 68,5 % y el 45 % de la población mayor de 15 años, resultó con alguna lesión a nivel cardíaco.

Se rociaron el 100 % de las casas con Deltametrina.

### DISTRIBUCION DEL VECTOR

El Triatoma Infestans está ampliamente distribuido en el Paraguay y la dispersión es tanto activa como pasiva. Los levantamientos triatomínicos recientes nos demostraron que la densidad es mayor en la Región Occidental que en la Oriental, y está en la Región Centro Sur, esto está ligado a la aplicación de Insecticida en las viviendas de la Región Este y Norte para el Control de la Malaria.

La densidad de Triatomino en las viviendas mantiene la endemia en nuestro país.

### RESUMEN

1. Ensayo de nuevas estrategias para el Control de Vectores de la Enfermedad de Chagas - SENEPA/TDR/OMS/1990.

El Proyecto se desarrolla en cuatro localidades del Departamento de Paraguari; distante a 48 Km. que presenta alta prevalencia de Infección Humana (20%) y de Infestación de Vivienda (25,8%), siendo la infección de triatominos por T.Cruzi del 22.0 % (Estudio de Prevalencia de la Enfermedad realizado por SENEPA Año 1995). Se trabajaron 1054 viviendas con diferentes tipos de intervención. 300 se trataron con Deltamitrina; 150 viviendas tratadas con Pintura Insecticida, ambos tratamientos peridomiciliarios.

El tratamiento intra domiciliario de 300 viviendas se distribuyó de la siguiente manera: 50% tratadas con Pintura Insecticida y 50% con Potes Fumígenos.

Los resultados de la evaluación nos permitió detectar la reinfestación a los 18 meses en todos los grupos, y el aumento del índice de infestación en el Grupo Control. A pesar de que la reinfestación es baja y de no hacerse metodológicamente el estudio de aceptabilidad social, fue muy rechazado por la población de Pintura Insecticida y notaron claramente la poca efectividad de los Potes Fumígenos y la eficacia del Insecticida, especialmente en el impacto de volteo.

Se analizaron las muestras de sangre extraídas, en papel de filtro. Por las técnicas de Elisa e inmuno fluorescencia los índices de seropositividad para la infección a T. Cruzi fueron menores de 10 % y en la primera evaluación resultó un niño con caso positivo. En las siguientes evaluaciones hubieron nuevos infectados.

2. Proyecto Piloto de Control de la Enfermedad de Chagas en Paraguari, Distrito de Quyuquyhó, con participación comunitaria - 1993.

El distrito de Quyuquyhó - Dos localidades: Cerro Guy con 183 viviendas, Yaguary con 130 viviendas, distante a 130 Km. de Asunción.

Se incorporó a las Comunidades a través de la educación, organización y participación comunitaria.

La Metodología básica es el Asesoramiento a los habitantes de la Vivienda y alguna cobertura con Insecticida.

El índice de Infestación inicial es de .....

El índice de Infección a T. Cruzi es de 4,7 % y 7,7 %.

La evaluación se efectuará en Noviembre y Diciembre de 1994.

## Control de Triatominos en el Paraguay

Antonietta Rojas de Arias

Licenciada en Ciencias Biológicas

En el Paraguay, el *Triatoma infestans* es reconocido como el vector principal del *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. Canese en 1976, estableció una prevalencia de infestación de 11 a 60% en la región oriental del país, mientras que encuestas seroepidemiológicas llevadas a cabo por el SENEPA (Servicio Nacional de Erradicación del Paludismo) y el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) arrojaron porcentajes de infestación de 14% y de 0-20.5% respectivamente. Al mismo tiempo una encuesta serológica para establecer la prevalencia serológica de la población arrojó 20% en los estudios del SENEPA y 22% para las zonas endémicas estudiadas por el IICS.

El control químico ha sido el método más usado para el control del vector en el Paraguay, a pesar de no contar con intervenciones sistemáticas a nivel nacional, a excepción de algunas zonas del país. Se reconoce que intervenciones más permanentes como el mejoramiento de la vivienda y la educación deberían acompañar las campañas de rociamiento con el fin de alcanzar efectos más duraderos.

Entre 1989 y 1991 acciones interventivas combinadas como rociamiento y mejoramiento de la vivienda fueron llevadas a cabo en tres comunidades rurales de la zona en démica del país.

Las comunicades y sus intervenciones fueron:

Ñandua: mejoramiento

Ypaú: rociamiento + mejoramiento

Cañada: rociamiento

La evaluación basal de triatominos en las viviendas se llevó a cabo por personal entrenado, tanto en el área doméstica como peridoméstica. Se tomó en cuenta la presencia de adultos, ninfas exuvias y huevos embrionados. Luego de la fumigación o el mejoramiento se realizaron encuestas entomológicas cada seis meses durante dos años. Además, calendarios y bolsas plásticas fueron colocadas dentro de las viviendas con el fin de detectar la presencia de triatominos por los rastros sobre los calendarios o con la colaboración de la población. La encuesta de post-intervención arrojó los siguientes resultados:

- Todas las intervenciones redujeron drásticamente la densidad de triatominos en las viviendas.

- Los porcentajes de infestación encontrados pertenecen a la localidad rociada solamente (4.5%) y mejorada solamente (2.4%).

- Tres casos de seroconversión en niños menores de 3 años se encontraron en la localidad mejorada solamente.

- El mejor método de detección de triatominos fue la bolsa plástica utilizada por la población.

- El método menos efectivo fue la captura manual por el personal del proyecto.

Se llevó a cabo la medición del efecto residual del insecticida Lambdacyhalotrina, al mes a los seis meses y al año de aplicación, exponiendo 10 ninfas de quinto estadio y primer estadio sobre las superficies tratadas. Los insectos se mantuvieron en contacto con el sustrato colocadas en conos plásticos de la OMS. Luego de 72 horas los insectos fueron transferidos a vasos plásticos y observados durante 7 días. El test fue realizado en tres viviendas y sobre diferentes materiales como madera, estaqueo y estaqueo con cal.

El promedio de aplicación del insecticida fue de 31.5 mg de compuesto activo por metro cuadrado.

Los resultados fueron los siguientes:

- Se observó una rápida caída del efecto residual del insecticida luego del primer mes post-rociado.
- La madera es el sustrato que más efecto residual presenta en nuestro ensayo.
- No se observó mortalidad en los insectos luego de retirados del sustrato.
- El efecto de derribo fue observado en este ensayo en las ninfas de 5to. estadio, las cuales se recuperaban (60%) una vez en los vasos plásticos de observación.
- La mortalidad en ninfas de primer estadio 12 meses luego del rociamiento, alcanzó en madera un 50% y 10% en estaqueo pintado a la cal, mientras que en estaqueo solo no se observó mortalidad.

## Experiencias en el Monitoreo de Niveles de Susceptibilidad de los Triatominos a los Insecticidas en las Américas

Michael J. Nelson

Organización Panamericana de Salud  
Brasilia, Brasil

### INTRODUCCION

Han habido pocos hallazgos de resistencia a insecticidas por triatominos hasta ahora. Este hecho es probablemente debido principalmente al largo tiempo entre generaciones de estos insectos, que presenta menos oportunidad de selección de resistencia. Es notable que el único especie que se ha encontrado con altos niveles de resistencia, *Rhodnius prolixus*, tiene una duración de generación relativamente corta comparado con los otros triatominos de importancia en la transmisión de la enfermedad de Chagas.

Otra razón por pocos hallazgos de resistencia puede ser las pocas pruebas que se han hecho con los métodos estandarizados de la OMS. Muchas pruebas, con papeles impregnados en diferentes laboratorios, o por aplicación tópica, son difíciles de interpretar porque no están hechas con los mismos métodos, dosis, etc., y no usan las mismas criterios para clasificar los insectos como "susceptibles" o "resistentes".

La ausencia de mortalidad de una especie de insecto a dosis de insecticida que matan a otros especies no significa resistencia; significa que el insecticida no es tóxico a poblaciones normales de esa especie. Como ejemplo, el insecticida DDT es bien reconocido como pobre insecticida contra Triatominos.

### RESULTADOS DE LOS PAISES

Pruebas con papeles impregnados con insecticida contra triatominos del campo para detectar resistencia se han hecho en varios países. Pruebas con aplicación tópica se han hecho principalmente para establecer líneas base solamente, y están presentados en la discusión sobre procedimientos para pruebas.

#### Venezuela

La única evidencia bien documentada hasta ahora de resistencia de un especie de triatominos a un insecticida es la resistencia de *Rhodnius prolixus* a dieldrin, y resistencia cruzada a lindano, en Venezuela.

Resistencia a dieldrin fue encontrado primero en *R. prolixus* en el estado de Trujillo, y reducción de susceptibilidad fue encontrado en los estados de Yaracuy, Tachira, Cojedes y Portuguesa (Busvine, 1970; Gonzales-Valdivieso et al., 1971; Cockburn, 1972; Nocerino, 1976). Resistencia cruzada a gamma BHC fue encontrado en Trujillo, y fue observada reducción de susceptibilidad a fenitrotión y propoxur. Durante 1976 a 1978 pruebas en 11 estados de Venezuela demostraron niveles altos de resistencia de *R. prolixus* a dieldrin solamente en el estado de Trujillo, en 9 de los 10 caseríos estudiados (0 - 60% knockdown después de 48 horas de exposición a 4%). Había una pequeña reducción de susceptibilidad de las cepas de Trujillo a fenitrotión y propoxur comparado con la cepa susceptible a dieldrin de Cojedes, pero no a fenitrotión. Ninguna cepa de *T. maculata* de 8 estados fue resistente a dieldrin (Nelson y Colmenares, 1979).

Selección en el laboratorio para resistencia a dieldrin fue hecho por Nocerino (1975) con la cepa de Santo Domingo. En el año 1969 esta cepa mostro 9% de mortalidad a papeles de 4% de dieldrin después de 48 horas y 47% después de 120 horas. En el año 1975 exposición de 600 horas (25 días) no producción ninguna mortalidad en esta cepa. Nelson y Colmenares (1979) seleccionaron la misma cepa con exposición a papeles de 4% dieldrin por 168 horas (7 días) con una reducción de mortalidad desde 15% hasta 3% en seis generaciones.

#### Colombia

Fox et al. (1966) expusieron instar V de una colonia de *R. prolixus* de Colombia a varios insecticidas en papeles impregnados de la OMS. No había mortalidad ninguna a 1,6% dieldrin con 24 horas de exposición, lo cual sería indicativa de resistencia según la OMS (1992). Tampoco había mortalidad con 12,8% malatión con 24 horas de exposición y solo 50% de mortalidad con 1,2% fenitrotión por 24 horas (menos que la dosis diagnóstica de la OMS). Comunicaciones recientes con varios investigadores no revelaron otras pruebas de susceptibilidad hechas con triatominos en Colombia.

#### Brasil

En el informe del Comité de Expertos (1992) se reporta resistencia

de *Triatoma infestans* a fenitrotión en Brasil y en el Perú, pero no se presentan referencias y no hemos logrado identificar los investigadores, localidades y otros detalles sobre estos hallazgos. Nuestros contactos en estos dos países nos informan que no han encontrado resistencia a fenitrotión.

Correa et al. (1968) demostraron 100% de mortalidad de *T. infestans* expuesto a papeles impregnados con lindano (2%, 48 horas). Cuando papeles OMS con 4% dieldrin fueron probados por 48 horas contra *T. infestans*, *P. megistus* y *T. sordida*, solo la última especie demostró 100% de mortalidad (Cuadro 1).

Oliveira et al. (1983, 1988) hicieron pruebas de susceptibilidad con papeles impregnados con gamma BHC y determinaron la línea base para *T. infestans*, *P. megistus*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* y *T. sordida* (Cuadro 1).

#### Peru

Segun G. Calderon (comunicación personal), entonces Entomólogo Nacional de Perú, *Triatoma infestans* en el sur del país demostró una alta sobrevivencia a dieldrin (papeles impregnados de la OMS, 48 horas). *P. rufotuberculatus*, también en el sur, fue susceptible a dieldrina y fenitrotión. *P. herreri* fue susceptible a dieldrin en el norte del país.

#### Ecuador

En un informe cerca 1985 se reporta que *T. dimidiata* es susceptible a papeles impregnados de malatión (5%) y propoxur (0,1%).

#### Argentina

Picollo et al. (1983) desarrollaron en laboratorio una colonia de *T. infestans* con factor de resisencia en la generación F<sub>4</sub> de 2,8 para malatión, 1,3 para fenitrotión y susceptible a lindano. En el campo no detectaron resistencia a malatión pero sí un leve grado de resistencia a lindano.

### PROCEDIMIENTOS PARA HACER PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD

Es difícil comparar pruebas de susceptibilidad hechas en diferentes países, porque frecuentemente los investigadores utilizan diferentes métodos de exposición (papeles impregnados vs aplicación tópica), diferentes métodos de impregnación de papeles y diferentes tiempos de exposición.

#### 1. Papeles impregnados

Los instructivos de la OMS para pruebas de susceptibilidad de insecticidas contra Reduviidae (WHO, 1975) contemplan solo los organoclorados, con exposición de ninfas de V estadio a papeles impregnados con dieldrin en solución de aceite por 48 horas para *R. prolixus* y *T. maculata*, 5 días para *T. infestans* y sin período de observación post-exposición. Para determinar la línea base de susceptibilidad, se usan papeles de diferentes concentraciones.

Los siguientes variables son importantes de considerar para pruebas de susceptibilidad con papeles impregnados:

#### 1. Variaciones en los papeles

Varios investigadores preparan sus propios papeles impregnados en el laboratorio, en vez de usar los papeles impregnados estandarizados de la OMS, porque,

- 1) Hay demoras largas en la llegada de los papeles impregnados pedidos a la OMS; algunas veces llegan después de la fecha de expiración.
- 2) No todos los insecticidas de uso para el control de vectores están disponibles en papeles impregnados de la OMS.
- 3) Es más barato. La desventaja es falta de estandarización entre laboratorios. Si no todos usan el mismo tipo y grueso de papel filtro, y si el peso de la solución en aceite por cm<sup>2</sup> no es lo mismo, el efecto sobre los triatominos es diferente.

#### 2. Concentración vs cantidad del insecticida por m<sup>2</sup>

Schofield y Williams (1985) utilizaron papeles impregnados de la

OMS para dieldrin, pero para los otros insecticidas aplicaron el ingrediente activo en acetona, sin aceite, al papel filtro. Expusieron las dosis en gramos por metro cuadrado ( $g/m^2$ ). Los papeles impregnados de la OMS están marcados con la concentración del ingrediente activo en aceite. La solución (insecticida + aceite) está aplicado a  $3.65 mg/cm^2$  ( $= 36.5 g/m^2$ ) en el papel de filtro. Entonces, la cantidad de ingrediente activo en los papeles impregnados es  $36.5 \times$  concentración/100. Por ejemplo, para dieldrin  $4\% = 36.5 \times 4/100 = 1.46 g/m^2$ . En el Cuadro 2 se han convertido todas las concentraciones de los otros investigadores a  $g/m^2$  para comparación con Schofield y Williams.

### 3. Duración de exposición

Duración de exposición utilizado por los diferentes investigadores es muy variable, generalmente entre 24 y 96 horas dependiendo de la especie de triatmino y el tipo y concentración de insecticida (Cuadros 1 y 2).

### 4. Instar

Los instructivos de la OMS especifican el uso de triatminos de Instar V, alimentados con sangre 5 días antes de comenzar la prueba, porque en esa condición están más tolerantes al efecto de los insecticidas. Desafortunadamente, no es siempre posible de encontrar suficientes ninfas de V estadio en el campo para hacer las pruebas. Para resolver este problema, Schofield y Williams (1985) establecieron líneas bases de susceptibilidad para todos los cinco estadios de I a V y los adultos de *R. prolixus* y *T. infestans*.

### 5. Exposición continua vs replicas separadas

Para determinar la línea base de susceptibilidad para organoclorados contra triatminos, los instructivos de la OMS indican uso de diferentes tubos para cada concentración de insecticida, a un solo tiempo de exposición. Para organofosforados, carbamatos y piretroides, que vienen de la OMS en papeles de una sola concentración, se puede usar diferentes tubos para diferentes tiempos de exposición, así como se destaca en los instructivos de la OMS para pruebas de susceptibilidad contra mosquitos (WHO/VBC/81.805). Dentro de ciertos límites, tiempo  $\times$  concentración = constante para cada insecticida contra cada cepa de insecto (WHO, 1981).

Debido a la dificultad de encontrar suficientes triatminos en el campo para tener diferentes tubos para cada concentración o para cada tiempo de exposición, algunos investigadores han hecho exposición *continua* de una sola concentración del insecticida contra los triatminos, haciendo repetidas observaciones del mismo tubo a varios diferentes tiempos de exposición (Nelson and Colmenares, 1979a). Este método también está recomendado en los instructivos de la OMS para pruebas de susceptibilidad contra cucarachas (WHO/VBC/75.593).

Las desventajas de este método de exposición continua son,

- 1) las observaciones no son sobre la *mortalidad* de los triatminos, sino del "knockdown". No hay periodo de recuperación para ver la mortalidad final, que puede ser menor que el knockdown, en el caso de los piretroides, o puede ser mayor que el knockdown, como es el caso de ciertos organofosforados.
- 2) las observaciones repetidas del mismo tubo de triatminos a diferentes tiempos no son independientes; por ejemplo, es poco probable que el knockdown de los triatminos en un tiempo va a ser menor que el knockdown en el mismo tubo en un tiempo menor.

### 2. Aplicación tóxica

Varios autores han establecido línea base de susceptibilidad por aplicación al insecto de una gota pequeña (ej. un microlitro) del insecticida grado técnico diluido en acetona u otro solvente. Generalmente, se hace aplicación tóxica con un microaplicador mecánico, pero también se puede utilizar un tubo capilar conectado a una manguera de boca, así como se utiliza en las pruebas de susceptibilidad de la OMS para moscas (WHO/VBC/81.813).

Picollo et al (1976) aplicaron 7 insecticidas diluidos en acetona al superficie ventral de *T. infestans*, a  $0,05 cm^3/g$  peso del triatmino ( $= 50$  microlitros por gramo). También expusieron ninfas a un "film" de insecticida dentro de frascos de vidrio. En general los valores de film no guardaron entre ellos la misma relación que los del tóxico.

En Venezuela, Nelson y Colmenares (1979) utilizaron un microaplicador de mano Arnold (Burkard, Inglaterra) para aplicar un microlitro de ingrediente activo de 22 insecticidas diluido en acetona al dorso del abdomen de *R. prolixus* de la cepa Santo Domingo (SD),

resistente a dieldrin y la cepa Cojedes (COJ), susceptible a dieldrina. Este método confirmó la resistencia en la cepa SD, la susceptibilidad de COJ a dieldrin y la resistencia cruzada de la cepa SD con gamma BHC y demostró una reducción de susceptibilidad de la cepa SD a los organofosforados y carbamatos comparado con cepa CD y mayor susceptibilidad en la cepa SD a los piretroides.

En Brasil, Oliveira et al. (1980, 1981) aplicaron tópicamente 23 insecticidas en acetona a *P. megistus*. En Perú, Maquera Lupaca (1980) aplicó DDT, lindano, propoxur y malatión tópicamente a *T. infestans* y determinó DL<sub>50</sub>. En Bolivia, (Ministerio de Desarrollo Humano, Bolivia, 1994) se aplicaron dos piretroides a *T. infestans*. Aunque la mortalidad a las concentraciones utilizadas fue solo 50 a 60 por ciento en 28 días, la mortalidad más el "knockdown" estuvo cerca de 100 por ciento. La recuperación durante este periodo fue más rápida con deltametrina que con lambda-cihalotrina. En Argentina, Casabé et al. (1988) determinaron la línea base de susceptibilidad con 12 piretroides por aplicación tóxica.

Donde las pruebas de susceptibilidad contra triatminos se hacen en el laboratorio, aplicación tóxica es más fácil que exposición a papeles impregnados. Para aplicación tóxica, se preparan diluciones del insecticida, pero no es necesario aplicar las soluciones en aceite a papel filtro. Aplicación de las microgotas con el microaplicador es fácil y rápido. Después de la aplicación, se colocan los triatminos en cualquier tipo de recipiente para observación de knockdown/mortalidad.

Para hacer las pruebas en el campo, se pueden llevar los viales de soluciones de insecticidas y un microaplicador tipo tubo capilar con manguera de boca. Este método es menos rápido que el microaplicador mecánico, pero fácil de aprender.

En países o áreas donde no hay capacidad de preparar las soluciones de insecticidas, es preferible hacer las pruebas con los papeles impregnados de la OMS.

Desafortunadamente, los resultados de las pruebas con papeles impregnados no son directamente comparables con las pruebas de aplicación tóxica. Es necesario estandarizar el método de aplicación tóxica y su relación con exposición a papeles impregnados.

### 3. Dosis diagnóstico

Según las Criterias de la OMS, la dosis diagnóstica es la combinación de concentración de insecticida y tiempo de exposición que mata 99,9% de los insectos susceptibles, determinado por análisis de regresión de dosis versus mortalidad (WHO, 1981). Sin embargo, las recomendaciones del Comité de Expertos sobre Resistencia a Plaguicidas (WHO, 1992) para dosis diagnóstico fue basado en la dosis más baja que resultó en 100% de mortalidad. Según el Comité la dosis diagnóstica para *R. prolixus* con dieldrin es 0,8% por 24 horas', con fenitión es 2,5% por 24 horas, y para *T. maculata* con dieldrin es 0,4% por 24 horas.

### 4. Pruebas de susceptibilidad vs pruebas biológicas de pared

En muchos programas de control de vectores se observa una confusión entre "pruebas de susceptibilidad" y "pruebas biológicas de pared". Se hacen pruebas de susceptibilidad con insecticidas *grado técnico, no formulados*, diluidos en un solvente no-tóxico al insecto (acetona, alcohol, aceite). Se hacen pruebas con insecticidas conocidas contra insectos del campo para detectar nivel de susceptibilidad o resistencia comparado con poblaciones susceptibles ya probadas.

Las pruebas biológicas de pared se hacen con insecticidas *formuladas*. No son pruebas de susceptibilidad. Generalmente, el propósito de las pruebas biológicas de pared es de determinar el nivel y duración del efecto del rociado. Idealmente, se hacen estas pruebas con insectos susceptibles al insecticida, criados en el laboratorio. La formulación (polvo humectable, concentrado emulsificable, etc.) puede influir la respuesta del triatmino al insecticida, así como el método de aplicación, la dosis por metro cuadrado aplicado, la habilidad del rociador, el tipo de superficie rociado (porosidad, pH), el comportamiento de los moradores de la casa (lavar la pared), temperatura, humedad, etc. Si los insectos no se mueren después de exposición a la pared, no podemos concluir que son "resistentes", porque la falta de mortalidad puede ser causada por una de los otros factores mencionados.

Pruebas de laboratorio con insecticidas formuladas tampoco son pruebas de susceptibilidad, pero si los variables mencionados son controlados, pueden ser útiles para comparar diferencias de diferentes cepas de insectos del campo al insecticida formulada, aplicada a un superficie estandar, por ejemplo madera.

## CUADRO I

## Resultados de pruebas de susceptibilidad hechos en las Américas con ninfas de instar V de triatomos

Especie	País	Insecticida	Métodos	Susceptibilidad de Exposición	Referencias
Rhodnius prolixus	Venezuela	dieldrin	P	R	Cockburn, 1972; González-Valdivieso et al., 1971; Nelson & Colmenares, 1979
	Colombia	dieldrin	OMS	0%M 1.6%C 24H	Fox & Bayona, 1966
		malatión	OMS	0%M 12.8%C 24H	Fox & Bayona, 1966
		fentión	OMS	50% M 1,2%C 24 H	Fox & Bayona, 1966
Triatoma infestans	Brasil	fentrotión	P	R	WHO, 1992
		dieldrin	OMS	0-30%M 4%C 48H	Correa et al 1968
		lindano	P	S 2%C 48H	Correa et al 1968
	Perú	fentrotión	P	R	WHO, 1992
Panstrongylus megistus	Brasil	dieldrin	OMS	77- 85%M 4%C 48H	Correa et al 1968
Triatoma sordida	Brasil	dieldrin	OMS	S4%C	Correa et al 1968
Triatoma dimidiata	Ecuador	malatión	P	S5%	Informe de Ecuador
		propoxur	P	S 0,1	Informe de Ecuador

\*P = Papeles impregnados hechos en el laboratorio del investigador u origen no conocido.

OMS=Papeles impregnados utilizando estuche de la OMS.

bR=Resistente, de acuerdo con los criterios de la OMS.

S=Susceptible, de acuerdo con los criterios de la OMS

M=% mortalidad

C=% concentración

H=horas de exposición

**CUADRO II**  
**Recomendaciones para métodos, concentraciones y tiempo de exposición**  
**para pruebas de susceptibilidad con Triatominos (instar V) expuestos a papeles impregnados con insecticida.**

Insecticida	Especie	Método de Exposición	g/m <sup>2</sup>	Conc. %	Duración de Exposición (horas)	Criteria (% mort.)	Referencias
Dieldrin	Rhodnius prolixus	con aceite	1,46	4,0	48	99	Cockburn, 1972
		OMS	0,29	0,8	24	100	WHO, 1992
		con aceite	1,46	4,0	30	95	Nocerino, 1985
	Triatoma maculata	OMS	1,46	4,0	48	99,9	Schofield, 1985
		con aceite	1,46	4,0	48	99	Cockburn, 1972
		OMS	0,15	0,4	24	100	WHO, 1992
Triatoma infestans	con aceite	1,46	4,0	96	99	Cockburn, 1972	
	OMS	1,46	4,0	48	99,9	Schofield, 1985	
Gamma-BHC	Rhodnius prolixus	con aceite	0,07	0,2	48	99	Cockburn, 1972
		con aceite	0,15	0,4	41,5	95	Nocerino, 1985
		sin aceite	2,00	-	24	99,9	Schofield, 1985
	Triatoma maculata	con aceite	0,07	0,2	48	99	Cockburn, 1972
		con aceite	0,11	0,3	48	99	Cockburn, 1972
	Triatoma infestans	sin aceite	2,00	-	24	99,9	Schofield, 1985
		con aceite	0,11	0,3	96	95	Oliveira et al, 1988
		con aceite	0,33	0,9	?	95	Oliveira et al, 1983
		con aceite	0,33	0,9	?	95	Oliveira et al, 1983
Gamma-BHC	Panstrongylus megistus	con aceite	0,47	1,3	96	95	Oliveira et al, 1988
		con aceite	0,58	1,6	?	95	Oliveira et al, 1983
	Triatoma brasiliensis	con aceite	0,29	0,8	?	95	Oliveira et al, 1983
	Triatoma pseudomaculata	con aceite	0,11	0,3	?	95	Oliveira et al, 1983
	Triatoma sordida	con aceite	0,29	0,8	?	95	Oliveira et al, 1983
Propoxur	Rhodnius prolixus	con aceite	0,07	0,2	48	99	Cockburn, 1972
		con aceite	0,15	0,4	6,5	95	Nocerino, 1985
		sin aceite	0,20	-	24	99,9	Schofield, 1985
	Triatoma infestans	sin aceite	0,20	-	48	99,9	Schofield, 1985
Fentión	Rhodnius prolixus	con aceite	1,17	3,2	48	99	Cockburn, 1972
		OMS	0,91	2,5	24	100	WHO, 1992
		con aceite	0,36	1,0	10	95	Nocerino, 1985
	Triatoma maculata	con aceite	1,17	3,2	48	99	Cockburn, 1972
		con aceite	1,17	3,2	48	99	Cockburn, 1972
Malatión	Rhodnius prolixus	con aceite	5,48	15	48	99	Cockburn, 1972
	Triatoma infestans	con aceite	0,36	1,0	48	99	Cockburn, 1972
		con aceite	1,82	5,0	14	95	Nocerino, 1985
Dursban	Rhodnius prolixus	con aceite	1,64	4,5	48	99	Cockburn, 1972
	Triatoma infestans	con aceite	0,36	1,0	48	99	Cockburn, 1972
Fenitrotión	Rhodnius prolixus	con aceite	0,36	1,0	2,5	95	Nocerino, 1985
		sin aceite	1,00	-	48	99,9	Schofield, 1985
	Triatoma infestans	sin aceite	1,00	-	96	99,9	Schofield, 1985
Bromofos	Rhodnius prolixus	con aceite	1,82	5,0	12	95	Nocerino, 1985
Yodfenfos	Rhodnius prolixus	con aceite	0,91	2,5	22	95	Nocerino, 1985
Metil-pirimifos	Rhodnius prolixus	con aceite	0,36	1,0	11	95	Nocerino, 1985
Bendiocarb	Rhodnius prolixus	con aceite	0,73	2,0	16	95	Nocerino, 1985
Permetrina	Rhodnius prolixus	sin aceite	1,00	-	72	99,9	Schofield, 1985
	Triatoma infestans	sin aceite	1,00	-	72	99,9	Schofield, 1985
Deltametrina	Rhodnius prolixus	sin aceite	0,5	-	48	99,9	Schofield, 1985
	Triatoma infestans	sin aceite	0,5	-	48	99,9	Schofield, 1985

OMS=Papeles impregnados con aceite utilizando estuche de la OMS.  
con aceite ó sin aceite = papeles preparados en el laboratorio del investigador

## REFERENCIAS

- Casabé, N. F. Melgar, E.J. Wood & N. Zerba. 1988. Insecticidal activity of pyrethroids against *Triatoma infestans*. Insect Sci. Applic. 9(2): 233-236.
- Cockburn, J.M. 1972. Laboratory investigations bearing on possible insecticide resistance in *Triatomid* bugs. WHO/72.359.
- Correa, R.R., A.R. de Lima y E.O. da Rocha e Silva. 1968. Resistencia e susceptibilidade do *Triatoma infestans* e de outros Triatomíneos transmissores da doença de Chagas, ao dieldrin e ao lindane. Anais XVII Congresso Brasileiro de Higiene, Salvador, Bahia: 45-46.
- Fox, Irving and Ileana G. Bayona. 1966. Toxicity of DDT, dieldrin, malathion and fenthion to *Rhodnius prolixus* in the laboratory. Bull. Wld Hlth Org. 35:974-976.
- Gonzalez-Valdivieso, F.E., B. Sanchez Diaz and F. Nocerino. 1971. Susceptibility of *R. prolixus* to chlorinated hydrocarbon insecticides in Venezuela. WHO/VBC/71.264.
- Maquera Lupaca, D.A. 1980. Susceptibilidad de machos y hembras de *Triatoma infestans* (Hemiptera: Triatominae) hacia el DDT, lindano, propoxur y malatión. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Peru.
- Ministerio de Desarrollo Humano, Bolivia. 1994. Chagas en Bolivia. El trabajo del Programa Piloto de Control de Chagas SNS/CCH.
- Nelson, M.J. and P. Colmenares. 1979a. Insecticide susceptibility of vectors of Chagas' disease in Venezuela. WHO/VBC/79.736.
- Nelson, M.J. and P. Colmenares. 1979b. Topical application of insecticides to *Rhodnius prolixus* (Reduviidae: Triatominae) a Chagas' disease vector. WHO/VBC/79.737.
- Nocerino, F. & A. Hernandez. 1985. Nueva línea básica de susceptibilidad a insecticidas de *Rhodnius prolixus*. Bol. Of. Sanit. Panam. 98(3):261-267.
- Nocerino, F. 1972. Selección de una cepa de *Rhodnius prolixus* resistente al dieldrin. Bol. Inf. Malar. Saneam. Amb. Venezuela 12: 210-216.
- Nocerino, F. 1975. Insecticide susceptibility of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma maculata* in Venezuela. WHO/VBC/75.565.
- Nocerino, F. 1976. Susceptibilidad de *Rhodnius prolixus* y *Triatoma maculata* a los insecticidas en Venezuela. Bol. Inf. Malar. Saneam. Amb. Venezuela 16: 276-283.
- Nocerino, F. 1980. Determination of Lethal Time 90-100 in strains of *Rhodnius prolixus* and *Triatoma maculata* susceptible to insecticides. VBC/EC/80.40.
- Oliveira Filho, A.M., C.E. Santos, M.J. Figueredo, 1988. Ensaio preliminares de susceptibilidade a BHC de Triatomíneos Brasileiros a través da técnica de papeis impregnados. Ciências da Via, Genética e Evolução, Ciência e Cultura, supl: 728.
- Oliveira Filho, A.M., R. Pinchin, M.T.V. Melo, W.S. Silva, C.E. Santos, M.A. Henny & M.J. Figueredo. 1981. Laboratory screening of 23 insecticides for triatomine control - Determination of LD5 and LC95 for *Panstrongylus megistus*. Ciência e Cultura 33 (supl).
- Oliveira Filho, A.M., R. Pinchin, W.S. Silva, M.T.V. Melo, C.E. Santos, M.A. Henny & M.M. Antunes. 1980. Toxicidade de inseticidas aos vetores da doença de chagas. Ciência e Cultura 32 (supl)
- Oliveira Filo, A. M., M.T.V. Melso, C.E. Santos, M.J Figueredo & A.C Silveira. 1983. Determinação da linhas básicas de susceptibilidade dos principais vetores da doença de chagas no Brasil ao isomero gama do BHC. Pesquisa Básica em Doença de Chagas. X Reuniao Anual, Caxambu, MG, Brasil.
- Organización Mundial de Salud. 1991. Control de la enfermedad de Chagas. Informe de un Comité de Expertos de la OMS. OMS Serie de Informes Técnicos No. 811.
- Piccolo, M., E. Wood, S. Licastro & E. Zerba. 1983. Posibles factores de resistencia a mercaptotión en *Triatoma infestans*. VI Reunión Nacional de Investigadores de la Enfermedad de Chagas 4-6 octubre 1983, Buenos Aires, Argentina. E16.
- Piccolo, M.I., E.J. Wood, E.N. Zerba, S.A. de Licastro & M.A. Rúveda. 1976. Métodos de laboratorio para medir la toxicidad de insecticidas en *Triatoma infestans*, Klug. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 10(1): 67-70.
- Schofield, C.J. and N.G. Williams. 1985. Baseline data for determining the resistance or susceptibility of Triatomine bugs to insecticides. Informe no-publicado a la OMS.
- World Health Organization. 1975. Instructions for determining the susceptibility or resistance of Reduviid bugs to organochlorine insecticides. WHO/WBC/75.587.
- World Health Organization. 1981. Criteria and meaning of tests for determining the susceptibility or resistance of insects to insecticides. VBC/81.6
- World Health Organization. 1992. Vector Resistance to pesticides. Fifteenth report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. WHO Technical Report Series No. 818.

<sup>1</sup> La Tabla A3 del Comité indica exposición de una hora, lo cual parece ser un error porque está basada en datos de Nocerino (1975) y de Nelson y Colmenares (1979) donde DL<sub>95</sub> fue siempre mayor que un día.

## Perspectivas Biológicas y Ecológicas para el Desarrollo de Resistencia en Triatomíneos

David E. Gorla

Centro de Investigaciones Entomológicas. Fac. Cs. Ex. Fis. y Naturales.  
Univ. Nac. de Córdoba. V. Sársfield 299 - 5000 Córdoba.

El número de especies de insectos plaga resistentes a la acción de plaguicidas se incrementó en forma explosiva en la última parte de este siglo. Al mismo tiempo, la tasa de introducción de nuevos insecticidas disminuyó debido a que las medidas reguladoras para limitar daños ambientales incrementaron los costos de desarrollo.

Antes de la Segunda Guerra Mundial, los insecticidas eran frecuentemente inorgánicos, y casi tan peligrosos para los humanos como las plagas que se pretendían controlar. La multiplicidad de modos de acción (por la cantidad de 'target sites') de tales sustancias químicas pueden haber disminuido la posibilidad de evolución de la resistencia: sólo 12 casos habían sido informados antes de 1946. Los nuevos insecticidas orgánicos lipofílicos (especialmente organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides sintéticos) aparecieron como sustancias más seguras y más selectivas debido a que cada una afecta bioquí-

micamente sólo un 'target site'. Sin embargo, esta especificidad puede haber permitido una rápida evolución de la resistencia. Los insectos han explotado virtualmente todo medio concebible (uno o más de los que se listan a continuación) para hacer frente a la acción de los insecticidas (Mallet, 1989).

La evolución del comportamiento para detectar y evitar los insecticidas parece una vía apropiada para que aparezca la resistencia, especialmente con aquellos insecticidas (como los piretroides) que actúan también como irritantes o repelentes. Existen evidencias de que ello ocurre, por ejemplo entre algunas especies de *Anopheles* que muestran un comportamiento exofílico mayor después del rociado de viviendas, o cambios en el comportamiento de reposo y preferencia por hospedadores en *An. atroparvus* en Europa, debido a cambios progresivos en el ambiente doméstico y acortamiento del ciclo de vida y aumento de la

tasa reproductiva en cepas de *Aedes aegypti* en Tanzania (Schofield, 1991).

Diferencias en la velocidad de transporte de tóxicos a través de la cutícula fueron demostradas en moscas domésticas y algunos lepidópteros.

La resistencia metabólica es otro mecanismo mostrado en algunas especies (por ejemplo áfidos y mosquitos). El proceso involucra enzimas no específicas que normalmente detoxifican sustancias químicas lipofílicas extrañas. Se conoce que muchas de estas enzimas son inducibles, y que pueden proveer resistencia temporal a los plaguicidas.

Algunos insecticidas potencian la sensibilidad de células nerviosas a la presencia de ciertos iones. El gen *kdr* ('knockdown resistance') de la mosca doméstica reduce la sensibilidad en ciertos canales para iones particulares de las células nerviosas. El mecanismo es conocido como resistencia del 'target site'.

Un alelo recesivo para resistencia se incrementará hasta la fijación si la mortalidad de los susceptibles por la acción de los insecticidas fuera del 100%. Como esto no ocurre bajo condiciones de campo, es necesario asumir que existe un reservorio de insectos no tratados. Tales reservorios pueden ocurrir por dos motivos. Primero, porque es imposible cubrir homogéneamente los sitios a ser tratados. Segundo, porque puede existir una población fuera del área tratada, aunque parcialmente mezclada con la población tratada a través de migración. La resistencia no se incrementará si el reservorio es infinitamente grande y existe migración entre reservorio y población tratada.

Otro factor que afecta la evolución de la resistencia es la regulación poblacional densodependiente por enemigos naturales o competencia interespecífica. Los clásicos modelos de Lotka-Volterra (aún con sus limitaciones) permiten explicar las causas por las cuales una misma presión de mortalidad actuando sobre la población de enemigos naturales (o competidores) y la población plaga, reduce la tasa de crecimiento poblacional de los primeros y aumenta la de los segundos.

*Triatoma infestans*, el principal vector de la enfermedad de Chagas en el Cono Sur de América es una especie con tasa de crecimiento baja (comparada con otros insectos), tiempo generacional prolongado y marcadas características de estrategia K. Muestra una amplitud de nicho especialmente estrecha, evidenciada por su fuerte antropofilia. Estudios recientes indican que sus poblaciones tienen baja heterogeneidad genética (García et al., 1994a,b) sugiriendo que los mecanismos de selección natural produjeron un fenotipo especialmente ajustado para explotar el nicho que actualmente ocupa.

Los estudios poblacionales muestran que la regulación de la densidad está mediada por la irritabilidad del hospedador, dentro del rango de densidades posibles para las limitaciones que impone la temperatura ambiente sobre las tasas de desarrollo y fecundidad (Schofield, 1982; Gorla y Schofield, 1989).

Estudios experimentales de campo realizados en ambientes templados estacionales, mostraron que las poblaciones de *T. infestans* están afectadas por factores de mortalidad densodependientes y densoindependientes. La tasa de crecimiento poblacional es positiva dentro de una estrecha 'ventana', cuando la temperatura media es superior a 10°C y la densidad poblacional (en las unidades experimentales estudiadas) es menor a 300 individuos (Gorla, 1992).

Un conjunto de 7 especies de microhimenópteros parasitan huevos de *Triatominae* en el centro de Argentina (Brewer et al., 1984). De ellas, *Telenomus fariai* mostró en laboratorio las características más promisorias para constituirse en un eventual enemigo natural en un programa de control biológico. Liberaciones experimentales de las avispas en campo (en un diseño que combinó el efecto exclusivo de las avispas y su combinación con la acción de un insecticida) mostraron que ellas no tienen capacidad de regular la densidad (ni solas ni en combinación con insecticidas), aunque en cortos períodos son capaces de parasitar hasta el 60% de los huevos de *T. infestans* presentes (Brewer et al., datos no publicados). Hasta el momento no se estudió la capacidad que predadores tienen de regular la densidad poblacional de especies de *Triatominae*, pero considerando la elevada tasa de mortalidad preadulta de las especies estudiadas de *Triatoma* y *Rhodnius* y la competencia intraespecífica por alimento que promueve mortalidad y fecundidad densodependiente, se podría predecir que tampoco ellos constituirían factores reguladores de la densidad de *Triatominae*.

Poblaciones experimentales de *T. infestans* desarrolladas bajo condiciones climáticas naturales mostraron que su abundancia varía estacionalmente (especialmente por efecto de las temperaturas mínimas) y que la probabilidad de que una población se extinga depende de la abundancia de la población inicial y de la estación climática desde la que esa población comienza a crecer. Poblaciones iniciales muy pequeñas (<10 individuos de clases etarias superiores, resultado de la aplica-

ción experimental de insecticidas y/o del efecto de la mortalidad por bajas temperaturas) fueron capaces de restablecer en la siguiente estación cálida las densidades observadas en la estación cálida anterior (Gorla, 1992).

La capacidad de dispersión pasiva de *T. infestans* fue demostrada en el clásico trabajo de Soler (1977), en tanto que estudios experimentales de laboratorio y campo mostraron que el proceso de dispersión activa se dispara cuando ocurre una combinación adecuada de estado nutricional de los individuos y temperatura ambiente (Lehane y Schofield, 1982). Mediciones en terreno evidenciaron en *T. infestans* una capacidad de dispersión activa mayor que la supuesta previamente, aunque menor que la medida en *T. sordida* (Schofield et al., 1991; 1992).

Las evidencias existentes hasta el presente sugieren que es improbable el surgimiento de poblaciones de *Triatominae* (y particularmente de *T. infestans*) resistentes a la acción de plaguicidas. Sintéticamente, esas evidencias involucran: la regulación de la densidad poblacional por factores densodependientes intrínsecos a la población y no al efecto de enemigos naturales u otras especies competidoras, el prolongado tiempo generacional bajo condiciones de campo, la capacidad de dispersión tanto activa como pasiva, la aplicación de insecticidas en áreas focalizadas (comparada con el área de distribución de las especies) y la baja frecuencia de aplicaciones de insecticidas sobre sus poblaciones (en relación a su tiempo de desarrollo). A ello se suma la falta de evidencia sobre aparición de poblaciones de campo resistentes a pesar de que el uso masivo de insecticidas para el control de vectores se iniciara hace más de 40 años (excepto por una pequeña área donde *Rhodnius prolixus* es resistente a organoclorados en un foco limitado en Venezuela).

#### Bibliografía

- Brewer, M.; D. Gorla; R. Favot y F. Murúa. 1984. Zoogeografía de microhimenópteros oófagos de *Triatoma infestans* Klug, 1834. (Hem.: Reduviidae) en Córdoba, Argentina. *Chagas* 1(2): 27-31.
- Brewer, M.; D. Gorla; F. Murúa y R. Favot. 1984. Sobre la biología en laboratorio de cuatro especies de parasitoides oófagos de *Triatoma infestans* Klug, 1834. (Hem.: Reduviidae). *Anais Soc. Ent. do Brasil*. 13(2): 339-355.
- García, B.A.; Soares Barata, J.M. & Blanco, A. 1994a. Enzyme polymorphism among *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies. *Journal of Medical Entomology*. (en prensa)
- García, B.A.; Canale, D.M. & Blanco, A. 1994b. Genetic structure of four species of *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina. *Journal of Medical Entomology* (en prensa)
- Gorla, D.E. 1991. Recovery of *Triatoma infestans* populations after insecticide application: an experimental field study. *Medical and Veterinary Entomology*. 5(3): 311-324.
- Gorla, D.E. 1992. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. *Medical and Veterinary Entomology*. 6(2): 91-97.
- Gorla, D.E. y C.J. Schofield. 1985. Analysis of egg mortality in experimental populations of *Triatoma infestans* under natural climatic conditions. *Bull. Soc. Vector Ecol.* 10(2): 107-117.
- Gorla, D.E. & C.J. Schofield. 1989. Population dynamics of *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in the Argentine chaco. *Medical and Veterinary Entomology* 3(2): 179-194.
- Mallet, J. 1989. The evolution of insecticide resistance: have the insects won?. *Trends in ecology and evolution* 4: 336-340
- Schofield, C.J. 1982. The role of blood intake in density regulation of populations of *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae). *Bulletin of Entomological Research*. 72: 617-629.
- Schofield, C.J. 1991. Vector population responses to control interventions. *Ann. Soc. Bel. Méd. Trop.* 71 (Suppl.1): 201-217.
- Schofield, C.J.; Lehane, M.; Mc Ewen, P.; Catalá, S. & Gorla, D. 1991. Dispersal flight by *Triatoma sordida*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 85: 676-678.
- Schofield, C.J.; Lehane, M.; Mc Ewen, P.; Catalá, S.S. & Gorla, D. 1992. Dispersive flight by *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in Argentina. *Medical and Veterinary Entomology*. 6: 51-56.

## Evaluación Biológica en el Laboratorio de la Actividad Triatómica

Eduardo Zerba

Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas  
CIPEIN (CITEFA-CONICET)

La Enfermedad de Chagas se extiende en el continente americano en el área comprendida entre 42° de latitud norte y 45° de latitud sur. En términos geopolíticos esta zona se superpone con la de los países latinoamericanos subdesarrollados, cuya pobreza rural ha sido un caldo de cultivo para la extensión de la endemia. Lamentablemente, el atraso tecnológico latinoamericano no ha permitido alcanzar el control pleno de la enfermedad en el continente. Si tenemos en cuenta que en la actualidad no hay cura ni protección inmunológica contra *Tripanosoma cruzi*, parásito causante de la enfermedad, la única acción práctica inmediata para reducir su incidencia es el control químico de los insectos vectores, pertenecientes a los géneros *Triatoma*, *Pastronylus* y *Rhodnius*<sup>(1)</sup>. La primera dificultad histórica en el control de triatóminos fue el fracaso del DDT, resultado inesperado ya que en las décadas del '40 y el '50 este insecticida parecía ser la panacea que resolvía todos los problemas de plagas sanitarias. Actualmente se sabe que el DDT tiene bajo efecto triatómico a causa de una vía metabólica degradativa mediada por glutatión<sup>(2)</sup> y de una dificultosa penetración cuticular asociada al estado nutricional del insecto<sup>(3)</sup>. Descartado el DDT como herramienta triatómica, las acciones de control se inician con insecticidas clorados en la década del '40, en Argentina y Brasil con el HCH y en Venezuela con el dieldrin. Los cuestionamientos ecotoxicológicos hacia los insecticidas clorados y la evolución tecnológica y comercial en materia de insecticidas condujo, durante la década del '60, al reemplazo de clorados por compuestos anticolinesterásicos como el carbamato propoxur y los fosforados malatión y fenitrotión. En la década del '70 irrumpen como alternativa segura y efectiva los insecticidas piretroides, con los primeros ensayos realizados con deltametrina por el CIPEIN en la Argentina<sup>(4)</sup>.

Durante muchos años los principios activos y sus formulaciones, utilizadas en el control de vectores de la enfermedad de Chagas, fueron seleccionados teniendo en cuenta las recomendaciones técnicas de los fabricantes internacionales, cuyos especialistas y laboratorios siempre estuvieron fuera de Latinoamérica. Estas recomendaciones llevaban sistemáticamente a costosos y prolongados ensayos de campo, cuyos resultados sellaban el destino de los productos insecticidas como herramientas antichagas.

Nuestro Centro de Investigaciones (CIPEIN), ha sostenido que la selección de insecticidas para el control de triatóminos vectores no debe ser sólo avalada por la información y el conocimiento de las empresas internacionales, sino que Latinoamérica debe involucrarse técnicamente en la selección, búsqueda y desarrollo de nuevos compuestos triatómicos a través de sus laboratorios de investigación<sup>(1)</sup>. El CIPEIN en 1975 desarrolló la capacidad de evaluar el efecto triatómico a nivel de laboratorio<sup>(5)</sup>. Casi todos los compuestos insecticidas comerciales utilizados posteriormente en campañas gubernamentales de control de vectores fueron evaluados previamente con esta metodología. Con el tiempo, los avances realizados en el conocimiento de la bioquímica y fisiología de los triatóminos, como asimismo de las variables que afectan al ensayo biológico, (para una revisión ver referencias<sup>(6,7)</sup>) le permitieron al CIPEIN disponer de técnicas de evaluación más completas y apropiadas a distintas situaciones. Estas técnicas contemplan la influencia de variables abióticas como la temperatura ambiente<sup>(8)</sup> y bióticas como la diferencia de susceptibilidad a insecticidas entre estadios y entre ninfas de distinta edad<sup>(9)</sup> o el estado nutricional del insecto<sup>(3)</sup>.

Sin duda, los laboratorios latinoamericanos están actualmente en inmejorables condiciones para normalizar ensayos biológicos de efecto triatómico.

En primer lugar, es imprescindible adoptar un protocolo para la determinación de la Dosis Letal 50% (DL 50) del principio activo. Este parámetro determina la toxicidad intrínseca del insecticida sobre triatóminos, permite establecer si un insecticida es realmente activo como triatómico y posicionarlo respecto a productos establecidos, cuya efectividad de control de vectores de la enfermedad de Chagas es bien conocida. A modo de ejemplo, en la **Tabla 1** se resumen datos de DL 50 de insecticidas piretroides y fosforados donde se aprecian las notables diferencias de acción triatómica entre ambos grupos y entre miembros del mismo grupo<sup>(1,10)</sup>. En efecto, la deltametrina es notablemente más activa que el malatión y significativamente más activa que el fenvalerato. Estos resultados justifican, al menos en parte, los hechos:

**Tabla 1** - Efecto insecticida en ninfas V de *Triatoma infestans*.

Insecticida*	Familia Química	Potencia Insecticida*
Tetrametrina	Piretroide	< 0,1
Malatión	Fosforado	0,6
Pirimifos metilo	Fosforado	2,3
Fenitrotión	Fosforado	5,4
Fenvalerato	Piretroide	7,5
Deltametrina	Piretroide	100

\* Potencia Insecticida: DL 50 Deltametrina x100  
DL 50 insecticida

- 1 - La sustitución de los fosforados por piretroides
- 2 - La falta de intentos de desarrollo como triatómicas de piretroides de amplio uso y reconocida eficacia como el fenvalerato, cuyo efecto sobre *Triatoma infestans* es similar al del fosforado fenitrotión, el cual es de menor costo.

Respecto al posicionamiento de productos en base a la medición del efecto triatómico, otro ejemplo interesante es el de piretroides de similar estructura pero diferente composición isomérica. En la **Tabla 2** se resumen datos de efectividad de diferentes productos piretroides los cuales son variantes de la cipermetrina con distinta composición isomérica y se los compara con la deltametrina. Sorprende la notable efectividad de la β-cipermetrina (anteriormente llamada asimetrina), cuyo alto contenido en isómero *trans*- podría haber hecho suponer una efectividad menor al de la alfametrina. Estos resultados permitieron el desarrollo de la β-cipermetrina como producto triatómico<sup>(11,12)</sup>.

**Tabla 2** - DL 50 de derivados de cipermetrina y deltametrina en ninfas V de *Triatoma infestans*.

Piretroide*	Número de Isómeros		DL50 (µg/insecto)
	Cis	Trans.	
β-Cipermetrina	2	2	0,29 (0,13 - 0,65)**
Alfametrina	2	0	1,25 (0,64 - 2,45)
Cipermetrina	4	4	2,51 (1,38 - 4,55)
Deltametrina	1	0	0,55 (0,13 - 0,99)

\* Disueltos en acetona y aplicados por tóxico.

\*\* Intervalo de confianza del 95%.

Establecida la toxicidad intrínseca del activo sobre triatóminos a través de la DL50, el segundo paso es medir la efectividad de las formulaciones. Es indudable que la formulación puede beneficiar o perjudicar la efectividad intrínseca del activo. Por lo tanto es necesario evaluar las formulaciones. Para tal fin una metodología adecuada es determinar la Concentración Letal 50% (CL50) exponiendo insectos a films de distinta concentración de activo sobre soportes *ad hoc*. El soporte es una variable de gran influencia sobre el valor de la CL50, especialmente en relación a su porosidad. La deltametrina floable es 2 veces más activa que el concentrado emulsionable sobre vidrio, pero sobre madera es aproximadamente 30 veces más activa<sup>(10)</sup>.

A modo de ejemplo en la **Tabla 3** se recopilan los valores de CL 50 de las formulaciones usuales de los piretroides actualmente establecidos para el control de vectores de la Enfermedad de Chagas.

**Tabla 3** - CL50 en ninfas V de *Triatoma infestans* de formulaciones de piretroides usadas para el control de vectores de la Enfermedad de Chagas, determinadas sobre diferentes soportes.

Insecticida	Formulado	CL 50 (µg/cm <sup>2</sup> )	
		Vidrio	Cerámica
Deltametrina	Floable 2,5 %	0,17	0,05
b - Cipermetrina	Floable 5 %	0,21	0,20
b - Ciflutrina	Floable 12,5 %	0,14	0,38
Cipermetrina	Concentrado		
	Emulsionable 20 %	0,14	17,10
Lambdacihalotrina	Polvo Mojable 10 %	0,26	1,60

Como complemento, es conveniente medir a nivel de laboratorio el efecto residual de un formulado. Para tal fin, una técnica utilizada en el CIPEIN es exponer periódicamente ninfas V de *T. infestans* a films de formulados sobre un soporte adecuado en la concentración de activo recomendada para uso en campo<sup>(13)</sup>. La residualidad es medida como porcentaje de mortalidad en función del tiempo de envejecimiento de los films.

En las Figuras 1 y 2 se grafican estas mediciones para formulaciones de piretroides actualmente en uso para el control de los vectores de la Enfermedad de Chagas. Los soportes utilizados son vidrio y cerámica respectivamente, y los resultados de las figuras indican claramente la diferencia que introduce la porosidad del soporte sobre la residualidad de los formulados. En efecto, los resultados sobre cerámica, modelo de soporte poroso, indican que los formulados particulados, como son los floables, manifiestan mayor residualidad, probablemente por la mayor biodisponibilidad de las partículas de activo no "secuestradas" por los poros del soporte.

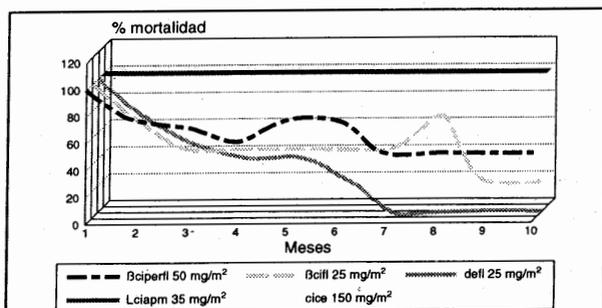


Figura 1. Efecto residual de formulados en vidrio evaluados en *Triatoma infestans*. Tiempo de exposición: 15 min. - Superficie de 95 cm<sup>2</sup> impregnado con 2,7 ml. de solución.

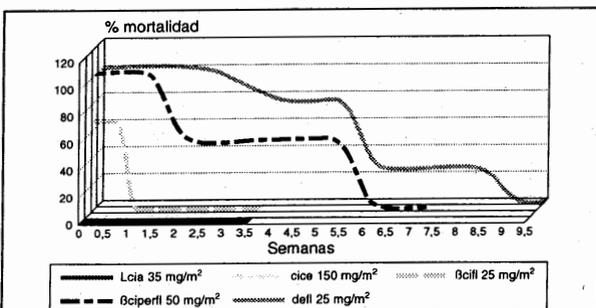


Figura 2. Efecto residual de formulados en cerámica evaluados sobre ninfas V de *Triatoma infestans*. Tiempo de exposición: 15 min. - Superficie de 74 cm<sup>2</sup> impregnado con 2 ml. de solución.

Además de la efectividad insecticida de activos (DL 50) y formulados (CL 50) y residualidad sobre formulados, existe otro tipo de efectos toxicológicos cuya evaluación permitiría obtener un mejor perfil de la utilidad de un compuesto que se usa o se propone para el control de vectores de la Enfermedad de Chagas. En esta categoría podemos incluir el efecto de compuestos reguladores de crecimiento, cuya efectividad en el caso de juvenoides como el fenoxicarb y metoprene se mide por las anomalías producidas especialmente en la muda de ninfas V a adultos. Una metodología de este tipo fue publicada para obtener la Dosis Efectiva 50% (DE 50) del fenoxicarb en *T. infestans*<sup>(14)</sup>. Pero dada la índole del efecto de estos compuestos, es de interés que se establezca para los mismos su posibilidad de controlar poblaciones de insectos en el mediano y largo plazo. Esta necesidad es aplicable también a otro tipo de insecticidas, como por ejemplo los compuestos antialimentarios. En estudios realizados en el CIPEIN acerca del efecto antialimentario de la N-etilmaleimida, se evaluó a nivel de laboratorio el control poblacional que este compuesto efectúa a mediano plazo<sup>(15)</sup>.

La actividad ovicida es un efecto importante para definir la performance de control de un insecticida. El continuo desarrollo del huevo en general, y del embrión en particular, produce una permanente variación del efecto ovicida en función de la embriogénesis, como demostramos en *T. infestans*<sup>(16,17)</sup>. No obstante, una cuidadosa estandarización de variables ha permitido obtener valores reproducibles de DL 50 por tóxico y de CL 50 por exposición a films<sup>(6,18)</sup>.

Otro efecto toxicológico de interés para el control químico y que es producido especialmente por los insecticidas piretroides es el expurgue

o *flushing out*. Este efecto sobre el sistema nervioso resulta en una movilización del insecto, vulgarmente adjudicada a una irritación y que es producto de un brusco y aleatorio incremento de la actividad locomotora. Este efecto produce una salida de los triatominos de sus refugios y facilita su control o su conteo a los fines de evaluación poblacional o de infestación. Si bien este efecto ha sido medido y estudiado<sup>(19,20)</sup>, no es fácil estandarizar una metodología reproducible y confiable para su evaluación.

En resumen y en nuestra opinión como primer paso a la disponibilidad de protocolos estandarizados para evaluar el efecto triatomicida, sería conveniente elaborar metodologías basadas en las ya existentes para medir:

- 1 - DL 50 de principios activos en alguna/s especie/s de triatominos, basada en la topicación del insecto.
- 2 - CL 50 de formulados en alguna/s especie/s de triatominos basada en la exposición de insectos a films sobre soporte/s adecuado/s.
- 3 - Residualidad de formulados en dosis sugeridas para aplicación en campo basada en la exposición de alguna/s especie/s de triatominos a films de insecticidas sobre soporte/s adecuado/s.

La estandarización de estos métodos permitiría a los países latinoamericanos aunar criterios de selección de nuevos compuestos triatomicidas, y podría servir de punto de partida para la búsqueda de estrategias comunes de control en la región.

## Referencias

- 1 ZERBA, E., 1989. Chemical control of Chagas Disease vectors. *Biom. and Environ. Sci.*, 2:24-29.
- 2 AGOSIN, M.; Morello, A. and Scaramelli, N., 1964. Partial characterization of the *in vivo* metabolites of <sup>14</sup>C-DDT in *Triatoma infestans*. *J. Econ. Entomol.*, 57:974-977.
- 3 FONTAN, A. and Zerba, E., 1992. Influence of the nutritional state of *Triatoma infestans* over the insecticidal activity of DDT. *Comp. Biochem. and Physiol.*, 101c(3):589-591.
- 4 CIPEIN, 1978. Evaluación del efecto insecticida y ovicida de la decametrina en *Triatoma infestans*. Informe inédito (parcialmente publicado en: K-othrine, Roussel-Uclaf Pyrethroid Insecticides. Roussel-Uclaf, Paris, Francia, Septiembre de 1979).
- 5 PICOLLO, M. I.; Wood, E.; Zerba, E.; de Licastro, S. y Rúveda, M., 1976. Métodos de laboratorio para medir la actividad de insecticidas en *Triatoma infestans* (Klug). *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.*, 10:67-71.
- 6 ZERBA, E., 1988. Conventional insecticides: mechanisms of action, resistance and bioassay in Chagas Disease vectors. Review presentado en la Reunión de OMS-OPS, Panamá, 28-9 al 2-10 de 1987. *Rev. Arg. Microbiol.*, 20:32-38.
- 7 ZERBA, E.; de LICASTRO, S.; WOOD, E. and PICOLLO de VILLAR, M.I.; 1989. Insecticides: mechanism of action. Chapter 5 of Chagas Disease Vectors, vol III (Biochemical aspects and control) R.Brenner and A. Stoka Ed. CRC Press.
- 8 ALZOGARAY, R. and ZERBA, E.; 1993. Temperature effect on the insecticidal activity of pyrethroid on *Triatoma infestans*. *Comp. Biochem. and Physiol.*, 104C(3):485-488.
- 9 WOOD, E.; PICOLLO de VILLAR, M.I. y ZERBA, E.; 1993. Comparación entre la variación de la capacidad detoxificante y la diferente susceptibilidad al insecticida malatión entre ninfas V de distinta edad de *Triatoma infestans*. *An. Asoc. Quím. Arg.* 81(2-3):153-162.
- 10 CASABE, N.; MELGAR, F.; WOOD, E. y ZERBA, E.; 1988. Insecticide action of pyrethroids in *Triatoma infestans*. *Insect Sci. Appl.* 9:233-236.
- 11 ZERBA, E.; PICOLLO, M.I.; de LICASTRO, S.; WOOD, E.; FONTAN, A. y CASABE, N.; 1990. Efecto triatomicida de la asimetrina, un nuevo insecticida piretroide. Presentado en el III Congreso Argentino de Protozoología y Reunión sobre Enfermedad de Chagas. Buenos Aires (Argentina). Noviembre de 1990.
- 12 WALLACE, G.; ZERBA, E.; WOOD, E.; CASABE, N.; MARTINEZ, A.; HURVITZ, A.; ANDRES, A.; VAEZ, R. y VIGIL, E.; 1993. Ensayo de campo de asimetrina, un nuevo piretroide de alto efecto triatomicida. *Medicina*, 53 Supl. 1, CN13 pg.74.
- 13 SECCACINI, E.; MARTINEZ, A.; PICOLLO, M.I. y ZERBA, E.; 1994. Efecto residual de insecticidas piretroides formulados en el control de vectores de Chagas. Presentado en el IX Congreso Argentino de Toxicología. Santa Fé, Argentina, Septiembre de 1994.
- 14 PICOLLO de VILLAR, M.I.; SECCACINI, E.; FONTAN, A. y ZERBA, E.; 1987. Activity of insect growth regulator Fenoxycarb (RO-B-5223) on *Triatoma infestans*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87c:367-373.
- 15 PICOLLO, M.I.; SECCACINI, E.; VASSENNA, C. and ZERBA, E.; 1993. Feeding and mating deterrence by sulphydryl reagents in *Triatoma infestans*. *Acta Tropica* 52:297-307.
- 16 PICOLLO de VILLAR, E.; ZERBA, E.; WOOD, E. and de LICASTRO, S.; 1980. Neurogenesis and occurrence of cholinesterase in eggs of *Triatoma infestans*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 65C:65-69.
- 17 ZERBA, E. and PICOLLO de VILLAR, M.I.; 1989. Embriogénesis and ovicida action. Chapter 6 of Chagas Disease Vectors, vol III, R. Brenner and A. Stoka. CRC Press.
- 18 PICOLLO, M.I.; WOOD, E.; de LICASTRO, S. y ZERBA, E.; 1976. Acción ovicida de insecticidas organofosforados en *Triatoma infestans* (vinchuca). *Acta Bioquím. Clín. Latinoamericana*, 10:309-314.
- 19 PINCHIN, R.; OLIVEIRA FILHO, A. and PEREIRA, A.C.; 1980. The flushing out activity of pyrethrum and synthetic pyrethroids on *Pastoroglyus megistus*, a vector of Chagas Disease. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 74:801-803.
- 20 WOOD, E.; de LICASTRO, S.A.; CASABE, N.; SIVORI, J. and ZERBA, E.; 1993. Evaluation of the flushing out activity of pyrethroids on *Triatoma infestans*. *Insect Sci. Applic.* 14 (5).

## Techniques for the Entomological Evaluation of the Control of Chagas Disease Vectors

Alfredo M. Oliveira Filho

Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais - Universidade Federal do Rio de Janeiro  
CCS, Bloco H, 21941-590 - Rio de Janeiro, Brasil

### Introduction

Looking at the literature in the area of triatomine control it is easy to see the confusion caused by many methods of assesment of dosages of insecticides and of their persistence on different substrates against insects of different instars, physiological conditions, etc. The picture becomes worse when dealing with field trials where it is difficult to compare results obtained by different investigators or by governmental agencies responsible for control campaigns. So there is evidently an urgent need for standardization of methods for laboratory and field work when talking about Chagas' disease experiments in vector control. That will also provide means for the understanding of the limitations of comparisons frequently made among control campaigns data obtained in different conditions.

### Preliminary Laboratory Assays

Dosage determination starts in the laboratory, by treating the bugs topically with the technical grade insecticide diluted in an organic solvent, normally acetone, using a microsyringe (WHO, 1988). This technique allows the determination of the LD<sub>50</sub> (lethal dose) which is an important parameter to compare products. There are also other techniques such as exposure to impregnated papers and determination of the LC<sub>50</sub> (lethal concentration) or the LT<sub>50</sub> (lethal time) which may not be as reliable as the LD, due to variations like vapour pressure of compounds, opportunity of contact between insect and insecticide, etc. With these data in hand one can have an idea of the intrinsic activity of the insecticide and choose a set of dosages to evaluate the persistence on different substrates that, in the case of triatomines, should reproduce as much as possible the physical and chemical characteristics of the surfaces to be treated in real conditions. Usually groups of 10 insects are exposed to the surface for a fixed time. The bugs must be synchronized chronologically and physiologically to assure replication of results during the tests. It is better to use 5th instar nymphs because they are less susceptible to insecticides, i.e., the dose that kills those nymphs will kill adults and all the other nymphal instars. We usually collect the nymphs that moulted to 5th instar one week previously, give them the opportunity to feed in the next week and do the test the week after that, using only those nymphs that have reached the required weight. For *T. infestans* from the NPPN colony, we have chosen between 130-150 mg/nymph. Regarding the period of exposure, it is best to observe the insects at intervals taking note of intoxicated, moribund or dead insects (moribund can be considered dead at the time of reading if recuperation is not observed by the end of the experiment). The time interval to be taken into consideration should not be too short, in order to reproduce with more fidelity what will happen in the field where the insects are frequently in contact with the treated surfaces. We usually observe the insects after 1, 2, 3, 7, 14 and 21 days of permanent exposure to the treated surfaces. However for comparison between, products and to support decisions taken about field doses, we consider the 21 days mortality reading. For the evaluation of persistence of the active ingredients should be already formulated and, where possible, it is important to test the various kinds of existing formulations. After pre-programmed intervals, usually every 3 months, new batches of treated surfaces (mainly unbaked mud bricks), aged indoors in contact with air, humidity and light, are tested and the persistence is evaluated. When the 5th instar nymphs are no longer killed, 1st instar nymphs can be used to allow comparisons between products and to make an estimate of their capacity of keeping the houses bug free. The tests are usually made after 1, 3, 6, 9, and 12 months after the bricks have been treated and proceed, if necessary, at 3 months intervals until the activity drops to an unacceptable level of control, generally, set at 70%.

### Field Assays - General Remarks

It is important to have in mind that laboratory results are good indicators, sometimes essential, for the field assays but will never substitute them. It is common to see dosages that induce only partial mortality of 5th instar nymphs in laboratory conditions, presenting good performance when applied in the field. This is due to the presence of other instars more sensitive to lower doses, and to the constant presence of

the toxicant inducing chronic intoxication thus avoiding recolonization of the treated places. What is really important is to find under field conditions is the dose that gives a high initial mortality associated with a reasonable persistence, at least enough to kill the nymphs that will emerge from the embryonated eggs, which generally are not reached by the insecticides. To avoid frequent reapplications the use of higher doses than the minimum acceptable are sometimes justified.

To be reliable, tests must comply with a series of parameters related mainly with infestation, i.e., all the houses should be infested preferentially by nymphs of the same species and having similar bug densities. The houses should be distributed among the groups giving special attention to the walls and roof and also to the presence of outside infested buildings outdoors. The house samples should be big enough to have at the end of the experiment comparable numbers making possible statistical evaluations even after some of them had been demolished, abandoned or improved (e.g. by plastering adobe houses or painting). Prior to application all foodstuffs, drinking water, kitchen utensils and domestic animals must be removed from the houses and the heavy furniture moved away out from the walls. The spraying should reach all the inside wall surfaces, the underside of the roof, bed frames and the backs of furniture. Hudson-X-Pert or similar back pack manual constant pressure pumps, equipped with a manometer able to measure up to 60 psi, fitted with Teejet 8002 or similar nozzles are generally used, giving between 750 and 800 ml/minute of flow rate at around 50 psi. The spraying is made keeping 45 cm distance from the target surface, resulting in a 70-75 cm wide swath, which is normally overlapped 5-10 cm each side.

The speed of application should be around 0,4 to 0,5 linear m/sec. In the ideal conditions we should expect a spray rate of around 35-45 ml/m<sup>2</sup> of diluted formulation, generally considered as 40 ml for calculation of amount of formulation to be used by pump charge (usually 8-10 liters). Consequently a 10 liter pump charge will be enough to treat 250 m<sup>2</sup>. Taking into account the percentage of active ingredient (usually a percentage of weigh/weight or weigh/volume expressed as grams of a.i./kg or liter), it is easy to calculate the amount of formulation (F) necessary for a pump charge:

$$F \text{ (g or ml)} = \frac{\text{target dose (g of a.i.)} \times 250 \text{ (estimated m}^2\text{/pump)} \times 100}{\text{formulation concentration (\%)}}$$

### Dose Determination

It is essential to evaluate the real dose applied, otherwise it will be hardly difficult to compare the performance of different products, formulations or dosages. The most common method of dosage control relies upon the calibration of pump output (ml/min) and training the sprayers to apply at a constant rate (ml/m<sup>2</sup> or m<sup>2</sup>/min). The result inevitably depends upon the reliability and skill of the sprayers: An excessive dose will result from a too slow sweep action or from standing too close to the wall so that the swath width is narrower than should be. Pump nozzle erosion also results on dosage errors. Quite often sprayers apply the insecticide until, or almost until, the run-off point, which, for water-based formulations, is normally between 40 and 100 ml/m<sup>2</sup>. Thus the amount of insecticide remaining on the wall surface will vary according to substrate absorptivity. To determine the real dose (g or mg/m<sup>2</sup>) it is necessary to calculate the relation between the volume applied and the treated area of the house giving the application rate (ml/m<sup>2</sup>). Measuring each house is a time consuming activity because it is necessary to make a plan showing the room distribution with length and height of each wall, the roofing and the external eaves area. Because it difficult to calculate the area of outside buildings such as chicken houses, or furniture, it is necessary to stop spraying after the application over the internal wall, roof and eaves to allow calculation of the spraying rate. When possible is convenient to measure each sprayed house should be measured, permitting exclusion of those under or overdosed from the experimental sample. If it is not possible, due to a large number of houses treated, then it is enough to measure a sample of houses treated.

When dealing with houses that are nearly uniform in relation to internal division and height it is possible to establish an easier way of estimating the treated area by measuring only the external length and

width. This method was used in the past in tests performed by our team in some villages in the surroundings of Barreiras, BA, Brazil. The houses were assumed to be around 2m high and having one internal wall of length L and another of length W and that all the roof could be treated. The amount of insecticide applied in the experimental groups were measured by the number of pump charges (10 liters) used. The approximate surface area sprayed (A) for each house was calculated from the formula  $A = 8(L + W) + LW$  for a house with sides of length L and width W. Thus, the average dose applied was calculated from the total number of pump charges used and the sum of the values of A.

Another method of dose measurement involves the chemical analysis of the insecticide deposited onto the walls. Samples can be collected by the physical removal of the surface particles from a measured area. Alternatively, test cards can be placed on the wall prior to spraying. However, the fraction of the insecticide originally applied which is removed is unknown. Furthermore, the more time elapsed between spraying and sampling, the greater the chance of insecticide loss by absorption into the substrate, decomposition, evaporation, or surface erosion. Also the recovery of the active ingredient after extraction into a solvent prior to chromatographic or spectrophotometric analysis it is not always 100%. The use of test cards invites yet another problem: the card attracts the sprayman's attention and he will ensure that it is thoroughly sprayed, which will probably result in an overdose.

### Sampling Insects

Usually the purpose of sampling insect vectors is related to: surveillance against importation; determination of vector distribution; vector incrimination; monitoring of entomological and related risk factors and/or evaluation of control (Nelson, 1994). An essential part of a triatomine field trial for the evaluation of insecticide performance is the sampling of the bug population in the houses before and after treatment.

The basic method of live bug capture is a search by one, or usually two, men equipped with flashlights and forceps. The time spent in each house varies from 10 minutes to 1 hour. This method is usually chosen for insecticide trials because it is practical, even for large groups of houses, although a quantitative evaluation of the size of the bug population sampled is not very reliable.

The sensitivity of this sampling method is increased when experienced personnel are employed, a pyrethrum or pyrethroid based flushing-out spray is used, and when either longer searches or more repetitions are performed. A consequence of increased sampling efficiency is that larger number of insects are captured or killed by the flushing-out agent. In some cases this might markedly reduce the bug population and may produce an undesirable influence on the control results. Then the search should be terminated as soon as the set criterium for infestation has been met or when the time allotted for the search has elapsed.

The use of perforated cardboard boxes attached to the house walls has been suggested for determining infestation, especially for low bug population densities. These devices, called Gómez-Núñez boxes or their variations (sensors Serena, María, etc) are intended to be used as shelters by the triatomine bugs. This method has the advantage of being less dependent on the ability of the field personnel than the capture method. Investigations in which the sensitivity of the Gómez-Núñez box and capture of live bug techniques for determining infestation rates have been compared have given apparently conflicting results. Our research group performed rigorous studies comparing techniques for detection of domestic infestations with *Triatoma infestans* in Brazil (Pinchin & col., 1981; 1982), showing that the most practical and reliable method was a systematic search for live bugs, using a tetramethrin-based flushing-out spray, for 20 man-minutes per house. This has been found to be a more consistent and reliable method of sampling the population, and far exceeds the Gómez-Núñez box technique in sensitivity, even for low bug populations after insecticide application. The use of both methods simultaneously, if practical, would probably result in more accurate data. The capture of living bugs by the house owners can also be a complimentary technique. The inhabitants must be instructed and given a plastic bag to keep the bugs. Attention must be paid to differences in education levels and motivation which can cause serious bias in the obtained results. Although this method is limited as an experimental tool, the data can be valuable when monitoring results of a public health campaign, helping to determine when a new intervention becomes necessary.

### Sampling Houses

A small-scale trial is useful for experimentation with new insecticides and formulations. More time and attention can be spent in sampling the bug populations to give a reasonably accurate evaluation of insecticide performance. The houses chosen should be of typical con-

struction and preferably carry relatively large initial bug populations in order to present a challenging pest control situation.

Subsequently larger scale trials are necessary in which a wide variety of conditions, especially house construction materials, infestation levels and standard of hygiene of the inhabitants are contemplated. Furthermore, many of the precarious and poorly constructed dwellings so often associated with Chagas' disease transmission do not survive a long-term trial. As well as the gradual loss of houses from the experimental groups because of demolition or major constructional alterations, several houses are usually unavailable at each sampling because they are closed or entry is denied. Consequently, in order to maintain a sufficiently large sample size for meaningful evaluation throughout a trial which may last for a year or more, groups of 30 to 50 houses should be used per treatment, in order to assure that at least 20 previously infested houses reaches the end of the evaluation. When it is not possible to have a previous house by house search to identify each one as infested or possibly uninfested, it is recommendable to have an estimate of the percentage of houses infested in the assay area. In this case it is necessary to consider larger groups of houses per treatment in order to assure reliable results. In a meeting of experts invited by WHO to write a standard protocol for a multinational field assay of new tools to control Chagas' disease vectors in Latin America (WHO, 1989), 150 houses were suggested for each treatment group and 300 for the control (treated with a conventional insecticide formulation). Recommendation was also made to choose areas where 30 to 40% of the houses were infested with the main triatomine species. It is also important to take into account if the infestation is intra or peridomiciliary to assure similar infested groups for each treatment.

The distribution of houses in a trial area between two or more insecticide treatments can follow a separate village or block pattern, or merely a random distribution. The latter has the advantage of forming treatment groups with houses taken from various areas and minimizing any bias that might arise from different infestation levels, types of construction, and standards of hygiene. On the other hand it also requires more exact planning and supervision of the spray operation and a very clear identification of each house for subsequent readings. Whenever it is possible to associate high triatomine density to a particular kind of construction or a much more hostile surface that induces faster degradation of certain insecticides to a particular type of house structure, then stratified random distribution should be used. This will provide that equal numbers of houses are selected for each treatment for the various parameters mentioned. Also the use of villages or blocks of houses for different treatments needs some care in the selection of the group of houses based on pre-treatment data to assure comparison. The performance of the treatments is better demonstrated by use of blocks or villages because inter-group interference, notably reinfestation from houses in which treatment has failed, is eliminated. If the scale of the trial permits, then several blocks can be used for each treatment and these can be distributed throughout the trial area in order to minimize influences from local peculiarities.

### Evaluation

An appropriate method for evaluating the efficiency of any control method would be the measure of the incidence of the disease both before and after insecticide use. However apart from the practical and operational difficulties involved in the serological screening of the human population of the trial area, several years are required before any significant difference in the number of new cases becomes apparent. Consequently insecticides for triatomine control are usually evaluated from the entomological, rather than epidemiological, point of view.

The entomological indicators recommended by a PAHO/WHO Study Group Chagas' disease control strategies (WHO, 1991) are as follows:

- Infestation index =  $\frac{\text{number of houses infested by triatomines} \times 100}{\text{number of houses examined}}$
- Density index =  $\frac{\text{number of triatomines captured}}{\text{number of infested houses}}$
- Crowding index =  $\frac{\text{number of triatomines captured} \times 100}{\text{number of houses with triatomines}}$
- Dispersion index =  $\frac{\text{number of localities infested} \times 100}{\text{number of localities examined}}$
- Colonization index =  $\frac{\text{number of houses with nymphs} \times 100}{\text{number of houses with triatomines}}$
- Natural infection index =  $\frac{\text{number of triatomines with } T. \text{ cruzi} \times 100}{\text{number of triatomines examined}}$

Except for the "infestation index", which is in fact the percentage of infested dwellings in relation to those observed and, to some extent, the "colonization index"- the percentage of houses infested with nymphs in relation to the infested houses, those indices have not much use in the interpretation of experimental results. On the other hand they can find some utility in decision making in governmental campaigns.

One parameter frequently quoted in field trial results is the number of bugs captured. To be comparable between groups it has to be expressed as the average per house or per unit of time (man-hours) used in the searches. Although not giving a quantitative measure of bug population densities, i.e., not allowing to evaluate insecticide performance, if the samples are taken consistently the number of bugs captured can be interpreted as an indication of large or small populations. Eradication of a domestic population of Triatominae is the standard currently adopted for acceptable insecticide performance, and residual bug population, no matter how small, can still be considered as potential source of infection. Thus the criterium most frequently used to evaluate insecticide performance is the percentage of houses observed as infested with triatomines at each reading, i.e., the "infestation index". In most field trials the capture of at least one live bug has been sufficient to classify a house as infested. However, it has been noted that the failure to capture any insects does not unequivocally mean the house is uninfested. As mentioned, the sensitivity of the capture method can be increased in order to minimize this uncertainty, by the use of flushing-out agents and increasing the length of time allowed for the search of each house. The association with Gómez - Núñez boxes and untimed capture by the house inhabitants in plastic bags can also give a significant improvement.

#### Timing of Readings

Despite the practical difficulties in conducting a long-term field trial, the post-treatment evaluations should be continued for as long as necessary to determine the relative frequency of reapplication for each insecticide. As the cost of the spray operation usually exceeds that of the insecticide used, it is important to determine how frequently it should be applied. Thus the sequence of samplings should be planned to measure both relative degree of vector control afforded by insecticides and the duration of their effects. It is worth noting that the life cycle of *T. infestans*, for example is relatively long and the intrinsic population growth rate low. Thus, a period of more than 9 months is expected before a drastically reduced bug population (eg. by 95%) can, in theory, return to 90% of its original size, and field trials should be planned with this in mind (Schofield, 1985). For practical use of the information in Chagas' campaigns we usually recommended evaluations taken after 3, 6, 9, and 12 months post-treatment. If necessary, due to the long residual effect of some insecticides in some formulations (like slow-release) 18 and 24 months readings should also be taken (Oliveira Filho, 1984, 1988).

#### Bioassays

The persistency of a residual deposit of insecticide can be directly measured by performing regular bioassays. Groups of 10 or more laboratory-bred bugs are held in a container so that they are forced to stay in contact with the treated surface. Exposure time of 1 to 72 h, with subsequent holding times of up to 21 days, have been used. The percentage mortality is corrected, using Abbot's formula, with respect to a control group held in contact with an untreated surface. Control mortality should not exceed 20%. Measurements are made at intervals following insecticides spraying. Obviously it is necessary to have an even application of insecticide at a known dosage.

Our research group has normally been using 10 5th instar *T. infestans* laboratory reared nymphs exposed during 72 hours under WHO cones to the treated mud or adobe walls, inside houses. At least two houses are bioassayed for each treatment group. After this period the insects are transferred to test tubes containing clean filter papers and kept during 21 days for periodical observations (usually 1, 3, 7, 14 and 21 days after been taken from the cones). Dead insects and, if there is no recovery until the 21 days reading, moribund insects are summed up to calculate the percentage of mortality at the 3 days reading after the period of exposition to the treated walls.

Bioassays results should be taken only on the comparison of different insecticides or formulations on one substrate or the same insecticide on different substrates, rather than taken as absolute values. Care should also be taken to distinguish between residual activity of the insecticide, as measured by bioassays, and the time elapsed before reinfestation, or population recovery to detectable levels, which may occur long after strong reduction or cessation of insecticide activity.

#### Cost effectiveness analysis

A cost-effectiveness analysis is done to find the best way of achieving an objective by the comparison of effects with cost (Mills & Bradley, 1986). For Chagas' disease the objective can be stated in terms of reduction of number of cases (positive serology) among young children born after the intervention (e.g. insecticide application). The end-point of the control programme can also be stated in entomological terms; e.g. the reduction of infestation by triatomines to a certain percentage of houses, considering also, if possible, the reduction in the vector population in the houses still infested. Generally the epidemiological, rather than entomological, end-point is recommended, because the ultimate goal is the reduction of prevalence, incidence or severity of the disease transmitted by the vectors to the human population. However for Chagas' disease this is a difficult evaluation taking a long time to be representative of the situation of a given area.

Cost-effectiveness has to be distinguished from cost benefit analysis. The latter is much more complex and broader, consisting in a process where one tries to find out whether the benefits of a programme exceed its costs, placing values on health effects such as improvements in productivity. The cost-effectiveness analysis is performed usually to answer two kinds of questions - a) Which among various interventions will achieve a desired health objective for the lower cost? - b) Given a limited budget which intervention will result in the maximum achievement towards the health objective? (Klarman, 1982; Mills & Bradley, 1986).

To be complete a cost-effectiveness analysis in a Chagas' disease control programme should consider the cost of the various kinds of interventions possible, like application of insecticides, house construction or improvement, health education and blood transfusion care. Much better would be to consider the possibility of combining all these interventions in a unique programme, selecting among the possible kinds of interventions to maximise the achievement of the health objectives (Ault, 1986; Bos & Milles, 1986; Mitchell, 1986).

Insecticide application continues to be the favoured method of control of Chagas' disease transmission. This happens for many reasons, mainly due to the quick response obtained as a consequence of the great impact on the vector population, to the relatively simple operation when compared with house construction or improvement and health education and, of course, due to an existing governmental structure already trained and directed to do it (Oliveira Filho, 1984; Piesman et al., 1985).

Apart from the entomological evaluation of insecticide performance, it is of great interest and importance, especially to the vector control campaign administration, to compare the cost - effectiveness of different treatments. The cost - effectiveness analysis combines the expense of the spray operation, the cost of insecticide and the degree and duration of the insecticide's effect.

We describe here one of the first concrete attempts, to determine the cost-effectiveness of insecticide application against Chagas' disease vectors as a means of control of Chagas' disease transmission. It was based on a large scale field trial performed under strict supervision from the early beginning until the very end, 19 months after treatment of the houses and annexes (Oliveira Filho, 1988). The scientific, economic and operational data were carefully collected, although simulating a real campaign done by governmental people involved in public health (Oliveira Filho, 1989).

For the cost-effectiveness analysis of the insecticide treatments, the parameters considered to determine the operational costs are the cost of staff and transport of personnel during the field operations, as follows:

#### Basic data for determination of operational costs of triatomine control in Brazil

##### 1. STAFF

##### 1a. FIELD TEAM (100% OF TIME)

		INCOME / WORKER
3 GUARDS	SALARY	US\$ 96.00
1 CHIEF GUARD	BENEFITS	US\$ 40.30
1 DRIVER	PERDIEM	US\$ 11.85 x 20
	<b>TOTAL</b>	<b>US\$ 373.40 X 5 (TEAM) = US\$ 1.867.00</b>

##### 1b. SUPERVISION & TECHNICAL SERVICES TEAM (25% OF TIME)

1 INSPECTOR		
1 DRIVER	US\$ 373.4 x 3 x 25 =	280.0 OR* 373.40
1 TECHNICIAN	100	
2 FOR SURVEILLANCE*		

**2. TRANSPORT**

2a. FUEL FOR 100 KM /DAY (3KM/LITER AT APPROX. US\$ 0.5/LITER)  
20 DAYS /MONTH (1.25 VEHICLES) - US\$ 416.00/MONTH

2b. MAINTENANCE AND DEVALUATION OF THE VEHICLES  
CORRESPONDING TO 100% OF 2a - US\$ 416.00/MONTH

Taking this data into account it was possible to calculate the operational costs for each house treated, for the various activities performed during the campaigns, according to SUCAM's methodology, i.e., mapping, surveillance, spraying, post-treatment evaluation and selective treatments :

**Operational Costs-House****1. MAPPING**

8 HOUSES/MAN/DAY DURING 20 DAYS/MONTH = 480 HOUSES/MONTH

FIELD TEAM SALARIES	US\$ 1,867.00
SUPERVISION & TECHNICAL	US\$ 280.00
TRANSPORT	US\$ 832.00
TOTAL	US\$ 2,979.00: US\$6.2/HOUSE

**2. SURVEILLANCE**

6 HOUSES/MAN/DAY = 360 HOUSES/MONTH

FIELD TEAM SALARIES	US\$ 1,867.00
SUPERVISION & TECHNICAL	US\$ 73.00
TRANSPORT	US\$ 832.00
TOTAL	US\$ 3,072.00: US\$8.5/HOUSE

**3. SPRAYING**

4 HOUSES/MAN/DAY = 240 HOUSES/MONTH

FIELD TEAM SALARIES	US\$ 1,867.00
SUPERVISION & TECHNICAL	US\$ 280.00
TRANSPORT	US\$ 832.00
TOTAL	US\$ 2,979.00 : US\$6.2/HOUSE

**4. POST-TREATMENT EVALUATION + SELECTIVE TREATMENT  
(X% OF THE HOUSES)**

COST OF SURVEILLANCE + X% OF THE COST SPRAYING + X% OF THE COST OF INSECTICIDE/HOUSE (GENERALLY CHEAPER THAN THE SPRAYING OF ALL HOUSES WITHOUT SURVEILLANCE)

To calculate the mean cost of the insecticide sprayed in each house, for each treatment group, the following formula and parameters were considered:

**Cost of Insecticide/house**

$$\text{COST INSECTICIDE/HOUSE} = \frac{\text{DOSE X TREATED AREA X PRICE FORMULATION}}{\text{CONCENTRATION X 10}}$$

DOSE: g.a.i/m<sup>2</sup>

TREATED AREA: AVERAGE TREATED AREA OF DOMICILIARY UNITS  
(250 m<sup>2</sup> IN THIS ASSAY-POSSE-GO)

PRICE: IN US\$ / KG OR L OF FORMULATION

CONCENTRATION: OF THE FORMULATION BEFORE DILUTION

EG: BHC DOSE: 0.8g  
AREA: 250 m<sup>2</sup>  
PRICE: US\$ 4.00  
CONC.: 30%  
COST:  $\frac{0.8 \times 250 \times 4.0}{30 \times 10} = \text{US\$ } 2.7 / \text{HOUSE}$

Finally the formula for the total cost for each house to be maintained free of infestation during a one year period could be developed :

**Total Cost/House/Year Protection**

$$\text{COST /HOUSE / YEAR} = \frac{\text{MA} + \text{SU} + \text{SP} + \text{IN} + (\text{SU} + \text{x\%SP} + \text{x\%IN}) \text{n} \times 12}{\text{MO}}$$

WHERE

MA = MAPPING = 6.2 (US\$ /HOUSE)  
SU = SURVEILLANCE = 8.5 (US\$ / HOUSE)  
SP = SPRAYING = 12.8 (US\$ /HOUSE)  
IN = COST OF INSECTICIDE / HOUSE  
x = PERCENTAGE OF HOUSES TO BE TREATED  
IN THE SELECTIVE TREATMENTS.  
n = NUMBER OF SELECTIVE TREATMENTS NECESSARY TO  
KEEP AROUND ≥ 90% CONTROL AT LEAST ONE YEAR  
MO = MONTHS WITH AROUND 90% CONTROL  
EG = HCH

$$\text{COST/HOUSE} = \frac{6.2 + 8.5 + 12.8 + 2.7 + (8.5 + 0.38 \times 12.8 + 0.38 \times 2.7) \times 3 \times 12}{12} = \text{US\$ } 73.4$$

Of course, in a massive campaign other factors should also be taken into consideration when choosing the appropriate formulation like acceptance of the product by the inhabitants and spraymen, availability in the market, ease of operation, transport, necessity of special devices for spraying, etc., (WHO, 1989). The concept of "survival analysis" was also introduced in the same document for the first time in the cost-effectiveness analysis on Chagas' disease control interventions. The post-treatment infested houses are re-treated and considered as "dead" and each reading (3 months intervals) results has different weight on the final calculations.

**Safety aspects**

As in any insecticide campaign, the safety of insecticide handlers, spraymen, and local inhabitants is a first priority. Adequate protection (at least long sleeves, gloves, hat and face shield) must be provided for all who come into contact with the insecticide. Cholinesterase levels should be routinely monitored when organophosphorus or carbamate are used, and poison antidotes, eyewash solutions, and medical assistance be readily available. The recommendations on the safe use of pesticides published by WHO should be followed.

**Acknowledgements**

This investigation received financial support from WHO/World Bank/United Nations Development Programme for Research And Training in Tropical Diseases, CNPq, CEPEG-UFRJ and Fundação Nacional de Saúde. The author is indebted to NPPN staff: Marli T. V. Melo, Celso E. Santos, Elza L. Silva, Elizabete G. Costa, Orbino C. Damião e Joaquim J. Souza for their contribution to this work. The author also thanks Dr. M. Nelson for revision and CIPEIN staff from Buenos Aires, for helping in the edition of this document.

**Bibliography**

- AULT, S.K., 1986. The cost-effectiveness of environmental management for vector control when integrated with other environmental approaches towards health promotion and other disease management practices. Sixth Annual Meeting of the WHO-FAO-UNEP Panel of Experts on Environmental Management for Vector Control. PMO/PE/WP/86.6.17p.
- BOS, R. and MILLS, A., 1987. Financial and Economic Aspects of environmental management for vector control. Parasitol. Today, 3:160-163.
- KLARMAN, H.E., 1982. The road to cost-effectiveness analysis. Milbank Memorial Fund Quarterly / Health and Society, 60:585-603.
- MILLS, A.J. and BRADLEY, D.J., 1986. Methods to assess and evaluate cost-effectiveness in vector control programmes. Sixth Annual Meeting of the WHO/FAO/UNEP Panel of Expert on Environmental Management for Vector Control. PMO/PE/WP86.8.11 p.
- MITCHELL, C.J., 1986. The cost-effectiveness of environmental management as a vector control measure. Sixth annual meeting of the WHO/FAO/UNEP Panel of Expert on Environmental Management for Vector Control. PMO/PE/WP86.5.17 p.
- NELSON, M.J., 1994. The role of sampling in vector control. Am. Journal Trop. Med. (in press).
- OLIVEIRA FILHO, A.M., 1984. New alternatives for Chagas' disease control. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 79:117-123.
- OLIVEIRA FILHO, A.M., 1988a. New perspectives in the fight against triatomines - results of a large scale field trial of insecticides and formulations. Proceedings V Reunião Pesq. Apl. Doença Chagas, Araxá, MG. p. 30-35.
- OLIVEIRA FILHO, A.M., 1988b. Development of insecticide formulations and determination of dosages and application schedules to fit specific situation. Rev. Arq. Microbiol., 20:39-48.
- OLIVEIRA FILHO, A.M., 1989. Cost-effectiveness analysis in Chagas' disease vectors control interventions. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 84 (supl. IV): 409-417.
- PIESMAN, J.; SHERLOCK, I.A.; MOTA, E.; TOOD, C.W.; HOFF, R. and WELLER, T.H., 1985. Association between household triatomine density and incidence of *Trypanosoma cruzi* infection during a nine - year study in Castro Alves, Bahia, Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg., 34:866-869.
- PINCHIN, R.; FANARA, D.M.; CASTLETON, C.W. and OLIVEIRA FILHO, A.M., 1982. A comparative study of domestic survey techniques for the Chagas' disease vector *Triatoma infestans*. Insect. Scy. Application, 3 (1): 79-84.
- PINCHIN, R.; FANARA, D.M.; CASTLETON, C.W. and OLIVEIRA FILHO, A.M., 1981. Comparison of techniques for detection of domestic infestations with *Triatoma infestans* in Brazil. Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hygiene, 75 (5): 691-694.
- SCHOFIELD, C.J., 1985. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. Ann. Coc. Belge Méd. Trop., 65, Suppl.1, 149-164.
- WHO, 1988. Meeting of directors of WHO Collaborating centres on the evaluation and testing of new pesticides. WHO/VBC/88.957 and WHO/UBX/88.957 CORR.1, Geneva, 42 pág.
- WHO, 1989. Protocolo estándar para el ensayo de nuevas estrategias de control de vectores de la Enfermedad de Chagas. TDR/CHA/URU/89.3, Montevideo, 34 pág.
- WHO, 1991. Control of Chagas disease. Technical Report Series, 811, Geneva, 95 pp.

## Métodos de Detección y Monitoreo de Resistencia en Triatominos

María Inés Picollo

Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas  
CIPEIN (CITEFA-CONICET)

Actualmente sabemos que el uso intensivo e indiscriminado de insecticidas para combatir una plaga trae aparejado el problema de desarrollo de resistencia.

La resistencia a un insecticida, y en términos generales a cualquier producto tóxico natural o sintético (insecticida, fungicida, antibiótico u otro medicamento), se traduce en una disminución de la mortalidad observada en una población sometida a un tratamiento constante. Este fenómeno, que se manifiesta con la aparición de individuos que toleran dosis letales para los individuos llamados sensibles en las primeras utilizaciones del producto, se basa en una evolución genética de las poblaciones.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la resistencia es la habilidad adquirida por una población de insectos para tolerar dosis del tóxico que serían letales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie (Anónimo, 1957). Esta definición ha sido criticada por falta de referencia al campo y la ambigüedad en definir una población "normal". Sawicki (1987) propuso la siguiente definición: "resistencia es un cambio genético inducido por la selección por tóxicos que produce un control desaparejo en el campo".

### Detección y monitoreo de resistencia

La detección temprana de resistencia es importante para reorganizar las campañas de control de plagas y facilitar la transición a un insecticida alternativo o la inclusión de medidas suplementarias.

Un gran número de programas de control de plagas a gran escala han dedicado esfuerzos a detectar y monitorear el desarrollo de resistencia. Entre los más importantes está el programa de la OMS para detectar y documentar casos de resistencia en insectos de importancia médica, con énfasis en mosquitos Anofelinos (WHO, 1976; 1980). La FAO subvencionó en 1972-73 un monitoreo de resistencia en plagas de grano almacenado, evaluando 1684 cepas de 85 países (Champ and Dyte, 1976).

La resistencia de triatominos a insecticidas ha sido documentada a nivel de campo en ciertas áreas de Venezuela, donde se registró alta resistencia a dieldrin (WHO, 1975).

Dentro de estas actividades de detección de resistencia es de suma importancia el desarrollo de metodologías estandarizadas para distintas plagas. Las metodologías tradicionales de evaluación de resistencia se desarrollan en laboratorio, exponiendo los insectos al insecticida. Las técnicas más modernas se basan en determinaciones bioquímicas de actividad enzimática o determinaciones genéticas sobre la cantidad o naturaleza de ADN que codifica genes de resistencia.

### Métodos de detección de resistencia

#### 1) Ensayos toxicológicos

##### 1.a. Cálculo de Concentraciones de 50% de mortalidad

Se basan en la comparación de las curvas dosis-respuesta para insectos de laboratorio e insectos de campo. Es necesario contar con una población susceptible de laboratorio o una población de campo recolectada antes de la aplicación del compuesto. Sobre esta población susceptible se calcula la línea de base de susceptibilidad y los parámetros estadísticos DL 50 (dosis letal para el 50% de los insectos) o CL 50 (concentración letal para el 50% de los insectos), que servirán para comparar los cambios en la susceptibilidad de la población tratada.

Esta metodología fue utilizada por el CIPEIN para realizar, a principios de la década del '80, un monitoreo de resistencia a campo en *Triatoma infestans* (Picollo y col., 1983). En esa época las campañas de control del Servicio Nacional de Chagas usaban principalmente el insecticida fosforado mercaptotión que había reemplazado a su antecesor, el insecticida clorado lindane. En ese trabajo de monitoreo, el CIPEIN recolectó vinchucas en distintas zonas de Santiago del Estero, Córdoba y Catamarca, tres de las provincias más afectadas por la epidemia chagásica. Los insectos recolectados a campo fueron mantenidos en laboratorio para evaluar la susceptibilidad a insecticidas en la siguiente generación (F1). Esto asegura el origen genético de la resistencia. Se calcularon los valores de CL 50 exponiendo ninfas I (de la F1) a papeles de filtro impregnados con mercaptotión o con lindane,

y se calculó el grado de resistencia (GR) como cociente entre la CL 50 de la cepa salvaje y la CL 50 de una cepa susceptible de laboratorio (Picollo y col., 1985).

No se detectó resistencia al mercaptotión en ninguna de las cepas estudiadas, pero sí pequeñas diferencias significativas respecto al lindane en material biológico procedente de las localidades de Los Ralos y Villa Jiménez (Santiago del Estero)

Tabla 1  
Monitoreo de resistencia en *Triatoma infestans*

Muestra	Fecha	GR Malatión	GR Lindane	Tratamientos previos
San Francisco (Córdoba)	2/12/81	1.1	-	HCH/Malatión Decametrina
Los Ralos Sgo. del Estero	2/12/81	-	1.7	HCH
Cdad. Catamarca (Catamarca)	17/02/82	1.3	1.2	HCH Malatión
Villa Jiménez (Sgo. del Estero)				
Casa A	2/05/83	1	-	HCH
Casa B	2/05/83	0.8	1.4	HCH
Casa C	2/05/83	0.9	-	HCH
Casa D	2/05/83	0.8	1.3	HCH

Evaluado en ninfas I (F1) según metodología de exposición a papel.

#### 1.b. Cálculo de dosis discriminante

Los parámetros estadísticos DL<sub>50</sub> y CL<sub>50</sub> demostraron ser muy exactos y confiables para revelar resistencia a nivel de laboratorio y a altas frecuencias de insectos resistentes. Pero resultan poco prácticos a nivel de campo, cuando el tamaño de la muestra es pequeño o cuando la resistencia empieza a manifestarse en la población (Roush and Miller, 1986). En estos casos se encontró que los ensayos diagnósticos resultan ser más eficientes porque todos los individuos son expuestos a una dosis letal adecuada y ninguno a bajas dosis, donde el porcentaje de mortalidad no es informativo.

Estos ensayos utilizan dosis que discriminan entre individuos resistentes y susceptibles, y son ideales cuando permiten eliminar más del 99.9% de los susceptibles y menos del 0.1 % de los resistentes (como la dosis 2 en la Figura 1A).

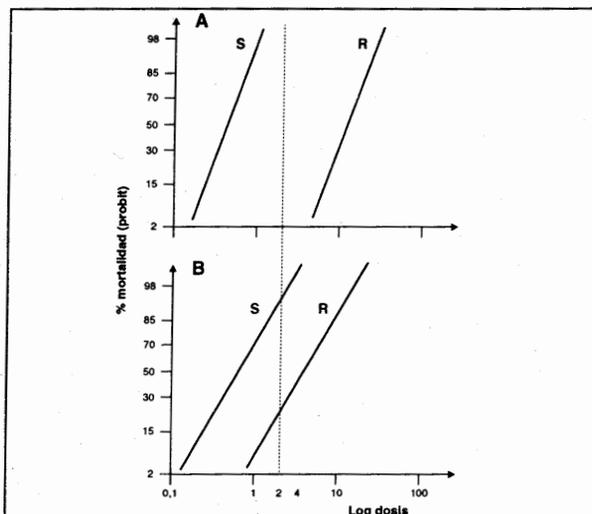


Figura 1: Esquema Teórico Dosis-Mortalidad

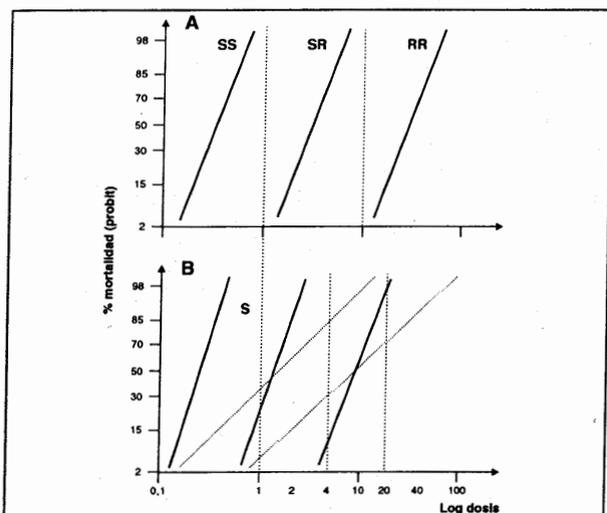
A: Dosis discriminante entre S y R. B: Dosis óptima para monitorear resistencia.

Cuando las curvas dosis-respuesta entre susceptibles y resistentes se superponen (Figura 1B) no hay una dosis perfectamente discriminante. En el ejemplo, la dosis que elimina el 99% de los susceptibles produce 30% de mortalidad entre los resistentes; esto disminuye la eficiencia del monitoreo ya que algunos individuos resistentes son eliminados más que detectados.

Una elección arbitraria de 2 DL 99 (dosis 4) elimina más del 50% de resistentes y disminuye aún más la eficiencia. Una elección de dosis que permita la supervivencia de muchos susceptibles (por ej. dosis 1) aumenta el tamaño de muestra necesario para distinguir entre los supervivientes susceptibles (falsos positivos) y los resistentes.

En la mayoría de las situaciones prácticas una dosis perfectamente discriminante es desconocida, porque la resistencia ha sido poco documentada, o porque su aparición todavía no fue bien examinada. En estos casos el mejor método de monitoreo para detectar resistencia es el uso de una dosis que mate al 99% de los susceptibles, que es un compromiso entre la baja supervivencia de susceptibles y la baja mortalidad de resistentes. El aumento de la dosis discriminante a 2 DL 99 ó 3 DL 99 trae aparejado el riesgo de alta mortalidad de resistentes, como sucedió con los bioensayos de dicofol en ácaros por el método de inmersión, que llevó a una mortalidad mayor del 98% (Dennehy et al, 1983).

Otra alternativa para determinar el nivel de resistencia es el uso de más de una dosis diagnóstico, que es especialmente recomendada cuando la resistencia parece ser poligénica y las curvas dosis-respuesta se superponen (Figura 2B).



De todos modos, si bien la dosis diagnóstico es la manera más eficiente de detectar resistencia a campo, no da información precisa de la magnitud del problema. Esta información es suministrada por el cálculo del grado de resistencia.

## 2) Ensayos bioquímicos

Los ensayos bioquímicos disponibles para detectar resistencia son:

- Determinación de actividad enzimática en homogenatos de insecto sin procesar usando sustratos modelos.
- Uso de antiseros específicos para aislar las actividades enzimáticas que confieren resistencia.
- Detección de secuencias de ADN específicas para identificar genotipos de resistencia.

De estas tres categorías, la primera ha sido la más estudiada y utilizada. Buenos ejemplos de ella son los estudios de alta actividad de carboxiesterasas informada en más de 15 especies de insectos y ácaros (Pasteur and Georgiou, 1989) y de acetilcolinesterasas insensibles encontradas en gran número de insectos (Devonshire and Moores, 1984a).

El uso de estas metodologías requiere un conocimiento detallado de la bioquímica del insecto en cuestión y de los mecanismos de resistencia que la especie puede desarrollar (Picollo y Zerba, 1984).

Para estos estudios puede ser de gran utilidad el desarrollo de resistencia inducido en laboratorio por presión de una cepa susceptible. La resistencia desarrollada en laboratorio puede adelantar información sobre la resistencia de campo.

El CIPEIN indujo en laboratorio una cepa de *Triatoma infestans* resistente al mercaptotión (CIPEIN RM) a partir de una cepa susceptible de laboratorio (CIPEIN).

La metodología empleada fue la exposición de ninfas I y ninfas V a papeles de filtro impregnados con mercaptotión en concentraciones equivalentes a las CL<sub>75</sub> para cada estadio, calculadas en base a las curvas dosis-mortalidad en cada generación. El esquema realizado se resume en la Tabla 2, y demuestra que la cepa de *Triatoma infestans* presionada desarrolló una resistencia de 2,8 veces al mercaptotión en cuatro generaciones. Ninfas I de esta generación fueron utilizadas para estudiar las causas bioquímicas y fisiológicas que originaron la resistencia. Estos estudios se realizaron en forma comparativa con otro importante vector de la Enfermedad de Chagas, *Rhodnius prolixus*, ya que este último demostró tener una susceptibilidad natural al mercaptotión 8 veces menor que *T. infestans* (Picollo et al, 1990; Picollo y Zerba, 1984).

Tabla 2

### Inducción de resistencia a malatión en *Triatoma infestans*

Estadio	Generación	Fecha	CL <sub>50</sub> (mg/cm <sup>2</sup> )		F.R.
			CIPEIN**	CIPEIN RM	
Ninfas I	F0	10/02/82	0.181	-	-
Ninfas I	F1	15/02/82	0.163	0.176	1.08
Ninfas I	F2	14/10/82	0.172	0.367	2.13
Ninfas I	F3	02/03/83	0.190	0.370	1.95
Ninfas I	F4	01/06/83	0.182	0.512	2.8
Ninfas V	P	22/09/81	2.60	-	-
Ninfas V	F1	14/09/82	4.14	4.88	1.18
Ninfas V	F2	06/04/83	3.14	4.99	1.20
Ninfas V	F3	13/07/83	4.20	5.84	1.40
Ninfas V	F4	15/03/84	4.10	7.75	1.90

\* Cepa de laboratorio resistente a malatión

\*\* Cepa susceptible de laboratorio

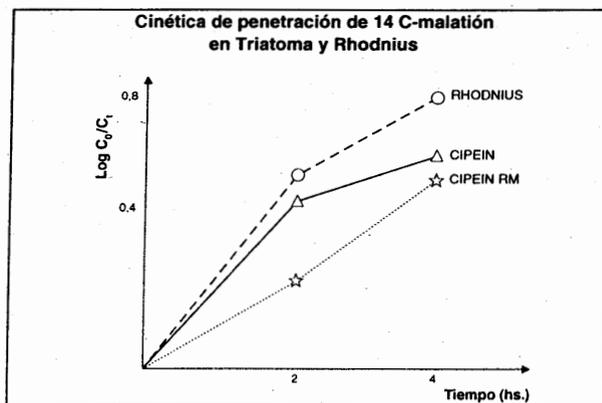
La presión de selección se realizó sometiendo ninfas I y V de cada generación a papeles impregnados con las correspondientes CL<sub>75</sub>.

En estos estudios en *T. infestans* y tolerancia en *R. prolixus* se analizaron comparativamente las posibles causas de resistencia:

- Penetración demorada: se midió la cinética de penetración de <sup>14</sup>C-mercaptotión en función del tiempo (Figura 3). Si bien se insinuó una penetración inicial más lenta a través de cutícula de la cepa CIPEIN RM de *T. infestans*, a las cuatro horas las diferencias observadas no fueron significativas.

Figura 3

### Cinética de penetración de <sup>14</sup>C-malatión en *Triatoma* y *Rhodnius*



b) Sensibilidad a la acetilcolinesterasa (AChE): se evaluó la sensibilidad al malaoxón de las respectivas acetilcolinesterasas de cabeza en las tres cepas sobre homogenatos de ninfas I (Tabla 3). Se obtuvieron valores de  $ki$  sin diferencias significativas entre las dos cepas de *T. infestans*. En cuanto a los valores para *Rhodnius* la  $ki$  obtenida mostró que la enzima era 4 veces más sensible al inhibidor, lo que descarta esta vía como causa de tolerancia.

Tabla 3

Velocidad de inhibición por malaoxón de AChE de ca de vinchucas

Especie	Cepa	$ki^*$ ( $M^{-1} \text{ min}^{-1}$ )
<i>T. infestans</i>	CIPEIN	$5.0 \times 10^5$
<i>T. infestans</i>	CIPEIN RM	$4.6 \times 10^5$
<i>R. prolixus</i>	Ojos Rojos	$11.5 \times 10^5$

\* Determinada a 30°C y usando ATC como sustrato

c) Mayor metabolismo degradativo:

c.1) mayor actividad de glutatión-S-transferasa (GSH-S-T): se midió con clorodinitrobenzoceno como sustrato sobre ninfas I enteras y se encontró que la actividad disminuye en las cepas susceptible y resistente.

Tabla 4

Actividad de transferasas glutatión dependientes en homogenatos de ninfas I

Especie	Cepa	Actividad enzimática
<i>T. infestans</i>	CIPEIN	2.66
<i>T. infestans</i>	CIPEIN RM	1.66
<i>R. prolixus</i>	Ojos Rojos	1.66

\* En  $\mu$ moles de S-DNB glutatión formado/insecto por minuto

c.2) mayor actividad enzimática del mercaptotión: se midió el metalismo *in vivo* de  $^{14}C$ -mercaptotión y se encontraron diferencias significativas en los metabolitos polares, producto de fosforotriesterasas.

Tabla 5

Porcentaje radiactividad recuperada\* por la degradación *in vivo* de  $^{14}C$ -malatión

Metabolito	Control	CIPEIN	CIPEIN RM	Ojos Rojos
Producto de fosforotriesterasas	2,5	7,4	9,0	6,2
Producto de carboxiesterasas	1,2	1,6	1,4	2,2
Malatión remanente	92,8	87,9	86,3	88,7
Desconocido	3,5	3,0	3,3	3,0

\* Determinado después de separar por TLC

\*\* Resultados significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )

En resumen, de los estudios bioquímicos realizados entre las cepas CIPEIN y CIPEIN RM, se encontró que la posible causa de resistencia era el metabolismo vía fosforotriesterasas. De este modo el nivel de estas enzimas puede representar un trazador bioquímico útil para la detección de resistencia a campo.

### Conclusiones

Para implementar un programa de manejo exitoso es imprescindible detectar la resistencia a bajas frecuencias para poder demorar cuanto antes su desarrollo. Según la experiencia acumulada, el método más práctico y eficiente de monitoreo es el uso de dosis discriminante o dosis diagnóstico, que permite detectar apariciones tempranas de resistencia. En cambio la verdadera "magnitud" de la gravedad del

problema la determina, sin duda, el cálculo del grado de resistencia determinado como cociente entre los parámetros estadísticos DE 50 resistente / DE 50 susceptible.

En todos los casos es necesario establecer la línea de base de susceptibilidad de cada especie plaga, mediante una serie de metodologías estandarizadas de bioensayo. Estas metodologías han sido ya establecidas para un gran número de especies y de esta manera y con un monitoreo regular, se ha podido detectar resistencia antes de detectar fallas de control.

En cuanto a los métodos bioquímicos de detección de resistencia, el creciente conocimiento de los mecanismos involucrados, demostró la universalidad de los mismos en distintas especies y permitió la detección temprana en una plaga basado en investigaciones realizadas en otras. El problema principal es la predicción del mecanismo que desarrollará la plaga. Esto puede ser resuelto en parte por la simulación en laboratorio de la presión de selección ejercida a campo.

### Referencias

- CHAMP, B. R. and Dyte, C. E., 1976. Report of the FAO global survey of pesticides susceptibility of stored grain pests. FAO Plant Production Protects. Paper No. 5. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- DENNEHY, T. J., Granett, J., and Leigh, T. F., 1983. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *J. Econ. Entomol.*, 76:1225-1230.
- DEVONSHIRE, A. L., and Moores, G. D., 1984. Characterization of the insecticide-insensitive acetilcolinesterase: microcomputer-based analysis of enzyme inhibition in homogenates of individual houses-fly (*Musca domestica*) heads. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 21:341-348.
- PASTEUR, N., and Georghiou, G. P., 1989. Improved filter paper test for detecting and quantifying increased esterase activity in organophosphate-resistance mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.*, 82:347-353.
- PICOLLO, M. I., 1992. Mecanismos bioquímicos y fisiológicos de resistencia. Resúmenes del Taller Resistencia a Insecticidas, un problema ecotoxicológico, 7-20.
- PICOLLO, M. I., Seccacini, E. y Zerba, E., 1985. Resistencia a malatión en insectos plaga de grano almacenado. IDIA, 59-61.
- PICOLLO, M. I., Wood, E., Licastro, S. y Zerba, E., 1983. Posibles factores de resistencia a mercaptotión en *Triatoma infestans*. VI Reunión Nacional de Investigadores de la Enfermedad de Chagas, SUBCYT, Buenos Aires, Argentina.
- PICOLLO, M. I., y Zerba, E., 1984. Importancia del metabolismo de malatión en fenómenos de resistencia en *Triatoma infestans* y tolerancia en *Rhodnius prolixus*. Resúmenes del III Congreso de la Asociación Toxicológica Argentina, Buenos Aires.
- ROUSH, R. T. and Miller, G. L., 1986. Considerations for design of insecticide resistance monitoring programs. *J. Econ. Entomol.*, 79:293-298.
- SAWICKI, R. M., 1987. Definition, detection and documentation of insecticide resistance, pp 105-117. In: M. G. Ford, D. W. Holloman, B. P. S. Khambay, and R. M. Sawicki (eds.), *Combating resistance to xenobiotics; biological and chemical approaches*. Ellis Horwood, Chichester, England.
- WHO, 1975. Instrucciones para determinar resistencia a organoclorados. Who, Ginebra, Suiza.
- WHO, 1976. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides, Twenty-second Report of the WHO Experts Committee on Insecticides. WHO Tech. Rept. Ser., Nro. 585, 88 pp.
- WHO, 1980. Resistance of vectors of disease to pesticides, Fifth Report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. WHO Tech. Rept. Ser., No. 655, 82 pp.

## Resumen del Criterio de Salud Ambiental N° 167 Acetaldehído

### Summary of Environmental Health Criteria N° 167 Acetaldehyde

#### 1 - Identidad, propiedades físicas y químicas y métodos analíticos

El acetaldehído es un líquido incoloro, volátil y de olor acre y sofocante. El umbral señalado para el olor es de 0,09 mg/m<sup>3</sup>. El acetaldehído es un compuesto muy inflamable y reactivo, soluble en agua y en la mayoría de los disolventes comunes.

Existen métodos de análisis para la detección del acetaldehído en el aire (incluso en el aliento) y en el agua. El principal de ellos se basa en la reacción del producto con 2,4-dinitrofenilhidracina y ulterior análisis de los derivados de la hidrazona por cromatografía de líquidos a alta presión o cromatografía de gases.

#### 2 - Fuentes de exposición humana y ambiental

El acetaldehído es un producto intermedio del metabolismo en los hombres y en las plantas superiores, y también proviene de la fermentación alcohólica. Ha sido identificado en los alimentos, las bebidas y el humo de los cigarrillos. También se encuentra en los gases de escape de los vehículos y en ciertos desechos industriales. La degradación de los hidrocarburos, las aguas residuales y los desechos biológicos sólidos produce acetaldehído, como también lo hacen la combustión al aire libre y la incineración de gas, fuel oil y carbón.

Más del 80% del acetaldehído usado comercialmente proviene de la oxidación en fase líquida de etileno con una solución catalítica de paladio y cloruros de cobre. En 1981, la producción japonesa fue de 323.000 toneladas. En los Estados Unidos de América fue de 281 000 toneladas en 1982 y en Europa occidental de 706 000 toneladas en 1983. La mayoría del acetaldehído producido comercialmente se destina a la fabricación de ácido acético. También se utiliza en sustancias aromáticas y en alimentos.

En los Estados Unidos, la emisión anual de acetaldehído de todo origen se calcula en 12,2 millones de kilogramos.

#### 3 - Transporte, distribución y transformación en el medio ambiente

Debido a su alta reactividad, el transporte intercompartimental de acetaldehído debe ser limitado.

Es de suponer que hay cierta transferencia de la sustancia al aire desde el agua y el suelo, como consecuencia de la fuerte presión del vapor y el bajo coeficiente de sorción.

Es posible que la eliminación fotoinducida del acetaldehído en la atmósfera tenga lugar principalmente por formación de un radical. La fotosíntesis puede también contribuir bastante al proceso de eliminación. La pérdida resultante de acetaldehído proveniente de emisiones

en la atmósfera es de alrededor del 80%. La vida media de la sustancia en el agua y en el aire es de 1,9 h y 10-60 h, respectivamente.

El acetaldehído es muy biodegradable.

#### 4 - Niveles medioambientales y exposición humana

Los niveles de acetaldehído en el aire ambiente suelen ser por término medio de 5 µg/m<sup>3</sup>. Las concentraciones en el agua no llegan en general a 0,1 µg/litro. El análisis de diversos alimentos en los Países Bajos demostró que las concentraciones, normalmente inferiores a 1 mg/kg, a veces llegaban a 100 mg/kg, particularmente en algunos zumos de frutas y en el vinagre.

La principal fuente, con mucho, de exposición al acetaldehído para la mayoría de la población es el metabolismo del alcohol. El humo del cigarrillo es también una fuente significativa. Aparte de eso pueden mencionarse en segundo lugar los alimentos y bebidas y, en menor grado, el aire. La contribución del agua de beber es insignificante.

No existen datos suficientes para determinar la importancia de la exposición al acetaldehído en el lugar de trabajo. El personal puede estar expuesto en algunas industrias manufactureras y donde hay fermentación con producción de alcohol, siendo la principal vía la inhalación y posiblemente el contacto con la piel.

#### 5 - Cinética y metabolismo

##### 5.1. Absorción, distribución y eliminación

Los estudios existentes sobre toxicidad indican que el acetaldehído se absorbe por los pulmones y el conducto gastrointestinal; sin embargo, no parecen existir análisis cuantitativos adecuados. Es probable la absorción por la piel.

En las ratas, el acetaldehído inhalado se distribuye por la sangre, pasando al hígado, el riñón, el bazo, el corazón y otros tejidos musculares. Se han detectado bajos niveles en embriones de ratón tras inyectar la sustancia a la madre por vía intraperitoneal o tras exposición de ratas o ratones hembra a etanol. La producción potencial de acetaldehído in vitro se ha observado en fetos de rata y en la placenta humana.

Tras inyección intraperitoneal de etanol se ha demostrado la distribución de acetaldehído en el líquido intersticial pero no en las células del cerebro. Una alta afinidad y escaso Km ALD-HI pueden ser importantes para mantener bajos niveles de acetaldehído en el cerebro durante el metabolismo del etanol.

El acetaldehído es absorbido por los eritrocitos y, tras consumo de etanol, los niveles intracelulares en

hombres y babuinos pueden ser in vivo 10 veces más altos que los del plasma.

Después de la administración por vía oral, la excreción de acetaldehído por la orina prácticamente no cambia.

## 5.2. Metabolismo

Un medio importante en el metabolismo del acetaldehído es la oxidación para pasar a acetato bajo la influencia de una ALDH dependiente de NAD2. El acetato pasa al ciclo de ácido cítrico como acetil-CoA. Hay varios isoenzimas de ALDH con distintos parámetros cinéticos y de ligazón que influyen en la rapidez de la oxidación del acetaldehído.

Se ha detectado actividad de la ALDH en el epitelio del tracto respiratorio (excluido el de las vías olfativas) de ratas, en el cortex renal y los túbulos del perro, la rata, el cobayo y el babuino, y también en los testículos del ratón.

El acetaldehído es metabolizado in vitro por el tejido embrionario del ratón y la rata. La sustancia atraviesa la placenta del ratón, pese al metabolismo placentario.

Aunque hay algún metabolismo en los túbulos renales humanos, el principal órgano metabolizador es el hígado.

En el hígado y otros tejidos humanos se han detectado varias formas isoenzimáticas de ALDH. En las mitocondrias la ALDH presenta polimorfismo. Los sujetos que son homocigóticos o heterocigóticos por una mutación singular del gen correspondiente a la ALDH de las mitocondrias presentan poca actividad de esta enzima, metabolizan el acetaldehído lentamente y no toleran el etanol.

El metabolismo del acetaldehído puede ser inhibido por el crotonaldehído, el dimetilmaleato, el forón, el disulfiram y la carbamida de calcio.

## 5.3. Reacción con otros compuestos

El acetaldehído puede formar aductores estables e inestables con las proteínas. Eso menoscaba la función proteínica, como lo demuestra la inhibición de la actividad enzimática, la menor ligazón histona-ADN y la polimerización inhibida de la tubulina.

Los aductores inestables, de importancia indeterminada, se producen in vitro con ácidos nucleicos. El acetaldehído puede reaccionar con diversas macromoléculas en el organismo humano, de preferencia las que contienen residuos de lisina, lo que puede conducir a notables alteraciones de la función biológica de dichas moléculas.

## 6 - Efectos sobre los organismos presentes en el medioambiente

### 6.1. Organismos acuáticos

La CL50 para los peces va de 35 (*Lebistes reticulatus*) a 140 mg/litro (especies no especificadas). Se

ha señalado una CE5 de 82 mg/litro y una CE50 de 42 mg/litro para las algas y para *Daphnia magna*, respectivamente.

### 6.2. Organismos terrestres

El acetaldehído atmosférico a concentraciones relativamente bajas parece ser tóxico para algunos microorganismos.

Los ofidios mueren cuando son expuestos a concentraciones de 0,36 µg/m<sup>3</sup> durante tres o cuatro horas. Para las especies de babosa *Arion hortensis* y *Agriolimax reticulatus* se han registrado valores letales medios de 8,91 mg/litro y 7,69 mg/litro por hora, respectivamente.

La inhibición de la germinación para la semilla de cebolla, zanahoria y tomate tratada con acetaldehído (hasta 1,52 mg/litro) es reversible, mientras que la de *Amaranthus palmeri* expuesta del mismo modo es irreversible. El acetaldehído a 0,54 µg/m<sup>3</sup> es perjudicial para la lechuga.

## 7. Efectos en animales experimentales y sistemas de prueba in vitro

### 7.1. Exposición única

El acetaldehído tiene una toxicidad aguda baja, con una DL50 en ratas y ratones y una CL50 en ratas y hámsters sirios. No se han encontrado estudios de toxicidad dérmica aguda.

### 7.2. Exposición a corto y a largo plazo

En estudios reiterados del efecto tóxico de dosis por vía oral y por inhalación, los efectos tóxicos de concentraciones relativamente bajas se limitaron más bien a los puntos de contacto inicial. En un estudio de 28 días en el que se administró a ratas con el agua de beber acetaldehído a razón de 675 mg/kg de peso corporal (nivel sin efecto observado (NOEL)=125mg/kg de peso corporal) los efectos se limitaron a una ligera hiperqueratosis focal en la parte anterior del estómago. En un estudio bioquímico, tras la administración a ratas de dosis singulares (0,05% en el agua de beber) durante seis meses (equivalente según el Grupo Especial a alrededor de un 40 mg/kg de peso corporal), el acetaldehído indujo la síntesis de colágeno hepático, observación corroborada mediante pruebas in vitro.

El nivel sin efecto respiratorio observado (NOEL) fue de 275 mg/m<sup>3</sup> para ratas expuestas a acetaldehído por inhalación durante cuatro semanas y 700 mg/m<sup>3</sup> en hámsters expuestos durante 13 semanas. A los niveles más bajos de efecto observado se produjeron cambios degenerativos del epitelio olfativo en ratas (437 mg/m<sup>3</sup>) y de la tráquea (2400 mg/m<sup>3</sup>) en hámsters. A concentraciones superiores se produjeron cambios degenerativos del epitelio respiratorio y de la laringe. No se han identificado estudios dérmicos con dosis repetidas.

### 7.3. Reproducción, embriotoxicidad y teratogenicidad

En varios estudios, la exposición parenteral de ratas y ratones gestantes a acetaldehído produjo malformaciones fetales. En la mayoría de esos estudios no se evaluó la toxicidad materna. Tampoco se dispone de datos sobre la toxicidad reproductiva.

### 7.4. Mutagenicidad y otros efectos finales afines

El acetaldehído es genotóxico *in vitro* e induce mutación de los genes, con efectos clastogénicos e intercambios de cromátidos hermanos (SCE) en las células de mamíferos, en ausencia de activación metabólica exógena. Sin embargo se han registrado resultados negativos en pruebas adecuadas con *Salmonella*. Tras inyección intraperitoneal, el acetaldehído indujo SCE en la médula ósea de hámsters chinos y ratones pero, en cambio, no hizo aumentar la frecuencia de los micronúcleos en las espermátides precoces de ratón. Indirectamente, ciertos estudios *in vitro* e *in vivo* parecen indicar que el acetaldehído puede inducir enlaces cruzados proteína-ADN y ADN-ADN.

### 7.5. Carcinogenicidad

Se ha observado una mayor incidencia de tumores en ratas y hámsters expuestos a acetaldehído por inhalación. En las ratas, los adenocarcinomas nasales aumentaron según la dosis pero los carcinomas de células escamosas fueron significativos independientemente de la dosis. Por el contrario, en los hámsters, el aumento de los carcinomas nasales y laríngeos fue insignificante. A todas las concentraciones, el acetaldehído administrado en los estudios produjo daños irreversibles del tejido respiratorio.

### 7.6. Estudios especiales

No se conocen estudios adecuados sobre la neurotoxicidad y la inmunotoxicidad potencial del acetaldehído.

## 8. Efectos en el ser humano

En estudios limitados con voluntarios, el acetaldehído produjo irritación moderada de los ojos y de las vías respiratorias superiores tras exposición por muy breves periodos a concentraciones que excedían algo de 90 y 240 mg/m<sup>3</sup>, respectivamente. Las pruebas de parche efectuadas con acetaldehído produjeron eritema cutáneo en 12 sujetos de «ascendencia oriental».

Se ha tenido conocimiento de una investigación limitada sobre la incidencia del cáncer entre trabajadores expuestos a acetaldehído y otras sustancias.

Según pruebas indirectas, el acetaldehído participa como metabolito potencialmente tóxico en la inducción de las afecciones hepáticas, la congestión facial y las alteraciones del desarrollo asociadas con el alcohol.

## 9. Evaluación de los riesgos para la salud humana y los efectos en el medio ambiente

Los estudios efectuados con animales indican que la to-

xicidad aguda del acetaldehído por inhalación o por vía oral es baja. Según las investigaciones con sujetos humanos y con animales, esa sustancia es algo irritante para los ojos y las vías respiratorias superiores. Esos mismos efectos se han apreciado en voluntarios a los que se administró acetaldehído (sección 1.8). Se ha observado eritema cutáneo consiguiente a las pruebas de parche en sujetos humanos. Aunque se ha identificado un posible mecanismo, los datos de que se dispone son insuficientes para calcular el potencial del acetaldehído como inductor de sensibilización.

Existe poca información sobre los efectos del acetaldehído ingerido. Tras administrar diariamente a ratas por vía oral 675 mg/kg de peso corporal (NOEL = 125 mg/kg de peso corporal) se observó un aumento liminar de la hiperqueratosis en la parte anterior del estómago. En las ratas que ingirieron durante seis meses con el agua de beber dosis aproximadas de 40 mg/kg de peso corporal hubo un aumento de la síntesis de colágeno en el hígado, cuya significación está por dilucidar.

Los estudios de inhalación con ratas y hámsters permiten afirmar que el tejido sensible es el de las vías respiratorias superiores. La concentración más baja a la que se observaron efectos fue 437 mg/m<sup>3</sup> durante cinco semanas. El NOEL identificado del tracto respiratorio fue 275 mg/m<sup>3</sup> en ratas expuestas durante cuatro semanas y 700 mg/m<sup>3</sup> en hámsters expuestos durante 13 semanas.

A las concentraciones que producen daños en los tejidos del tracto respiratorio se observaron aumentos de la incidencia del adenocarcinoma nasal y del carcinoma de células escamosas en la rata, y de los carcinomas laríngeos y nasales en el hámster.

Hay indicios de que el acetaldehído produce *in vivo* alteraciones genéticas en las células somáticas.

No se dispone de datos suficientes para determinar si el acetaldehído tiene efectos en la reproducción y el desarrollo o en el estado neurológico o inmunológico de la población general o de la que está particularmente expuesta por razón de su trabajo.

A partir de datos sobre la acción irritante en sujetos humanos se ha considerado que la concentración tolerable es de 2 mg/m<sup>3</sup>. El mecanismo de inducción de tumores por el acetaldehído no está bien estudiado. En consecuencia, se han adoptado dos criterios orientativos a ese respecto; a saber, la determinación de una concentración tolerable obtenida dividiendo un nivel de efecto irritante en el tracto respiratorio de los roedores por un factor de incertidumbre, y la estimación del riesgo de cáncer mediante extrapolación lineal. La concentración tolerable resulta ser de 0,3 mg/m<sup>3</sup>. Las concentraciones asociadas con un aumento del riesgo permanente de 10-5 son de 11-65 µg/m<sup>3</sup>.

La escasez de datos impide llegar a conclusiones definitivas sobre los riesgos potenciales del acetaldehído para la biota en el medio ambiente. Sin embargo, basándose en la breve vida media del acetaldehído en el aire y en el agua, así como en el hecho de que es fácilmente biodegradable, cabe afirmar que los efectos de esa sustancia en los organismos terrestres y acuáticos son escasos, excepto posiblemente con ocasión de descargas industriales o vertidos.

- 1 ALDH = acetaldehído dehidrogenasa.
- 2 NAD = dinucleótido de nicotinamida adenina

## Sistema Nacional de Farmacovigilancia *National System of Post Marketing Surveillance*

### Significado del Sistema Nacional de Farmacovigilancia

La creación de un Sistema de Farmacovigilancia en el país brinda aportes científicos respecto a la mejor aplicación de los medicamentos y permite a las Autoridades, entre otras cosas, implementar medidas administrativas tales como cambio de dosis, adecuación de prospecto y de condiciones de venta o bien restricciones de uso hasta, en caso necesario, el retiro del mercado. Se destaca que en estos casos, las decisiones generadas deben contar con sólidos fundamentos científicos basados en criterios de responsabilidad compartida entre la Administración Central y las Empresas elaboradoras.

A tales efectos se constituye el Sistema Nacional de Farmacovigilancia que reúne en un efector central que recibe las notificaciones generadas en efectores periféricos, las evalúa y jerarquiza para, finalmente, formular recomendaciones a los diversos sectores involucrados en los sistemas de salud sobre los riesgos y/o beneficios detectados de un medicamento dado y de toda aquella información farmacológica, terapéutica y toxicológica que el efector central haya evaluado y considere adecuado emitir (output).

### La Farmacovigilancia en la República Argentina

Entre los años 1970-75 se formularon algunos programas específicos de pesquisa espontánea de efectos adversos y esto se facilitó merced a la labor conjunta entre el Centro de Intoxicaciones del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez y el entonces Instituto de Farmacología y Bromatología.

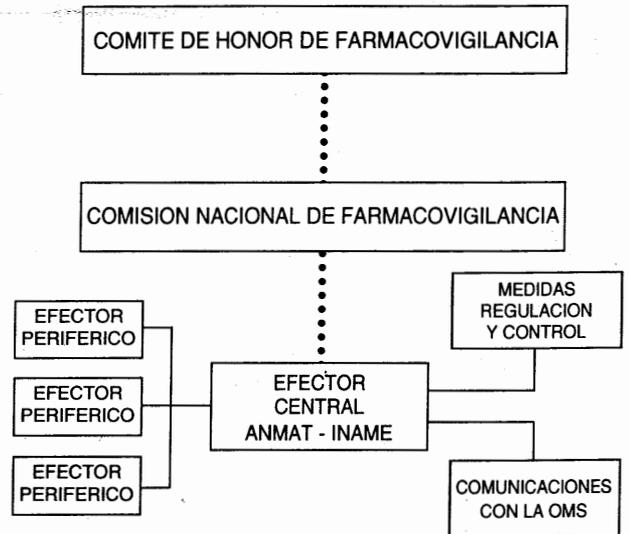
Estas y otras experiencias de reconocimiento de efectos adversos estuvieron a cargo de grupos y no se sistematizó a nivel Nacional dada la falta de concreción de un Sistema de Farmacovigilancia.

Sin embargo las experiencias aisladas se sucedieron motivadas por el entusiasmo de personas y/o grupos y por la extensión de los conocimientos y de las experiencias, actuando en algunos períodos de tiempo a nivel de la Secretaría de Salud algunas Comisiones con el propósito de llevar a cabo tan ansiado proyecto.

### Modalidad de trabajo de la Red de Farmacovigilancia

Se define un Efector central INAME-ANMAT y Efectores Periféricos que pueden llegar a constituirse en Efectores Regionales. Los Efectores Periféricos se constituyeron en base a equipos con experiencia en el tema pero no involucrados en un Sistema, que es la única forma de centralizar, difundir y aplicar la información generada.

### Sistema Nacional de Farmacovigilancia



#### ACTIVIDADES

Detección	Metaanálisis
Análisis	Ordenamiento de la Información
Notificación	Publicaciones
Información	Medidas de Regulación y Control

### Modalidad de trabajo del Efector Central

#### ¿Qué hace el Efector Central?

- Recibe las notificaciones de los efectores periféricos por los distintos medios de comunicación antes enunciados.
- Analiza la información mediante métodos Farmacoepidemiológicos.
- Envía los resultados a las Autoridades de la ANMAT y a los efectores periféricos con grado de imputabilidad del fármaco en su relación con el efecto adverso.
- Genera los datos para la edición del Boletín de Farmacovigilancia que será enviada a los efectores periféricos y a los Profesionales de la Salud, garantizando la confidencialidad de los datos del enfermo y del notificador.
- Realiza los contactos para la conexión de la Red Nacional de Farmacovigilancia con la Red de Farmacovigilancia de la OMS.
- Genera actividades de capacitación y docencia sobre Farmacovigilancia.
- Informa y concientiza a las Organizaciones profesionales y académicas para la difusión de Farmacovigilancia.
- Propone medidas regulatorias y de fiscalización adecuadas a los problemas detectados.
- Además del Sistema de Farmacovigilancia el ANMAT contará con una Red de Información en Medicamentos, en actual etapa de diseño de proyecto.

## Funcionamiento del los Efectores Periféricos del Sistema Nacional de Farmacovigilancia

### ¿Qué realiza el Efector Periférico?

- Promover la notificación de efectos adversos mediante conferencias, seminarios, cursos, talleres, destacando la importancia de la Farmacovigilancia como herramienta imprescindible para una correcta Vigilancia Sanitaria.
- Asesorar en la forma de completar la hoja de notificación de efectos adversos.
- Enviar la notificación de efectos adversos diariamente a la Red de Farmacovigilancia mediante el correo electrónico.
- Archivar en medios electrónicos y en papel las notificaciones enviadas a la Red de Farmacovigilancia. El Software automáticamente guarda una copia electrónica de cada notificación y genera la posibilidad de la copia en papel.
- Homologar los datos de efectos adversos de acuerdo a la Clasificación de síntomas y signos de la Organización Mundial de la Salud. El Software brindado por el ANMAT provee de un programa para la búsqueda del término más conveniente.
- Generar comentarios y opiniones sobre efectos adversos reportados por cualquier efector y enviarlos a la Red de farmacovigilancia por correo electrónico, de manera que estos comentarios generen aportes valiosos para el buen funcionamiento de la Farmacovigilancia.  
En el caso de efectos adversos graves y/o repetidos para una misma Especialidad Medicinal comunicar de inmediato al Efector Central el o los casos sucedidos, dando así la posibilidad de una respuesta rápida del ANMAT (Alerta Sanitaria). En estos casos se aconseja utilizar la vía telefónica o fax.
- Es competencia exclusiva del Efector Central difundir por cualquier medio el Alerta Sanitaria y toda información a la Población cuando medie la aparición de un efecto adverso peligroso para la Salud Pública.

### Innovaciones aplicadas al Sistema de Farmacovigilancia Argentino en relación a otros países del mundo

- En el Sistema de Farmacovigilancia Argentino se ha incorporado el correo electrónico, herramienta que brinda la informática para la comunicación entre computadoras remotas para el intercambio de archivos con total seguridad y confidencialidad.
- Se han incorporado como motivo de notificación la falta de eficacia de un medicamento y los eventos adversos como elementos tecnológicos biomédicos (medical device).
- A pesar de estas diferencias, la ficha de notificación de efectos adversos está diseñada para tener relación con la Red Mundial de Farmacovigilancia de la Organización Mundial de la Salud.

## Sistema Nacional de Farmacovigilancia

### Efector Central

Avenida de Mayo 869. 10º Piso. Capital Federal.  
Avenida Caseros 2161. Capital Federal.  
Tel./Fax: 343-5686 - Tel.: 27-0566  
Correo Electrónico: fvg@anmat.sld.arinamel@anmat.sld.ar

### Efectores Periféricos

Los datos de los mismos al inicio de este Sistema son los siguientes:

Unidad de Toxicología,  
Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez.  
Sánchez de Bustamante 1399. Cap. Fed.  
Responsable de la actividad Dr. Mauricio Plager.  
Fax: 962-2247  
(Centro de Intoxicaciones) Tel.: 962-6666/3347.  
Correo electrónico: toxi@guti.sld.ar

Centro de Información de Medicamentos  
Facultad de Farmacia y Bioquímica, U.B.A. Junín 956  
(1113) Buenos Aires.  
Responsable de la actividad: Farm. Esther Filinger.  
Fax: 962-5341. Tel.: 961-6133/ 963-3414/19 Int. 325.  
Correo electrónico: POSTMASTER@CENIME.EDU.AR

Centro Nacional de Intoxicaciones,  
Hospital Dr. Alejandro Posadas.  
Presidente Illía y Marconi. Haedo Norte Pcia. Bs. As.  
Res-ponsable de la actividad: Dra. María Rosa Llorens.  
Fax: 654-0817 (Dirección).  
Tel.: 658-7777 (Centro de Intoxicaciones).  
Correo electrónico: toxpos@anmat.sld.ar

Cátedra de Farmacología,  
Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.L.P.  
Calle 60 y 120. La Plata. Pcia. de Bs. As.  
Responsable de la actividad: Dra. Perla de Buschiazzo.  
Fax: 25-8989. Tel.: (021) 40-117.  
Correo electrónico: farmip@guti.sld.ar

Departamento de Farmacología,  
Facultad de Medicina de la U.B.A.  
Paraguay 2100. Cap. Fed.  
Responsable de la actividad: Dr. Luis Zieher.  
Tel./Fax: 962-9422.  
Correo electrónico: farmuba@anmat.sld.ar

Servicio de Farmacia,  
Hospital Dr. Juan Garrahan.  
Combate de los Pozos y Brasil. Cap. Fed.  
Responsable de la actividad: Farm. Marta Saldivia.  
Fax: 941-8532. Tel.: 941-6191/6012.  
Correo electrónico: setoga@guti.sld.ar; naped@guti.sld.ar

Cátedra de Farmacología,  
Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario. Santa Fe 3100. (2000) Rosario. Pcia. de Santa Fe.  
Responsable de la actividad: Dr. Juan Manuel Berman.  
Fax: (041) 242727. Tel.: (041) 60077.  
Correo electrónico: tas@pccp.com.ar

Sub-Secretaría de Programación Sanitaria,  
Ministerio de Salud de la Pcia. de Córdoba. Chacabuco  
1300. Pcia. de Córdoba. Responsables de la actividad:  
Dr. Jorge Aguirre; Dr. Jorge Pérez Cortez.  
Fax: (051) 890265/604351. Tel.: (051) 604351

**INDICES - INDEXES****Volumen 1 (1993)****Indice de autores - Index of authors**

	Número Number	Página Page
Albiano, N.F. ....	2	3
Bergoc, R.M. ....	2	8
Catoggio, J.E. ....	1	4
De la Torre, F.R. ....	2	12
Ferrari, L. ....	2	12
Froldi, R. ....	1	22
Gambaro, V. ....	1	14
Gauna, L.E. ....	2	8
Kaczan, E.C.K. de ....	2	7
Mastandrea, C.R. ....	2	7
Pechen de D'Angelo, A.M. ....	2	8
Ríos, P. ....	2	7
Roses, O.E. ....	1	3
Salibian, A. ....	2	12
Toledo, M.C.F. ....	1	19
Tragen, I.G. ....	1	25
Venturino, A. ....	2	8

**Indice Temático/Index of Themes**

- Desechos y actividades productivas (Wastes and productive activities) .....	1	4
- Editorial .....	1	3
- Editorial .....	2	3
- Droga en Italia (Drugs in Italy) .....	1	14
- Edulcorantes - Toxicidad (Sweeteners - Toxicity) .....	1	19
- Drogas de abuso - Legislación Italia (Drugs of abuse - Italian legislation) .....	1	22
- Drogas de abuso - Encuentro latinoamericano (Drugs of abuse - Latinoamerican Meeting) .....	1	25
- Productos químicos potencialmente peligrosos (RIPQPT) (International Register of Potentially Toxic Chemicals - IRPTC) .....	1	28
- Alcohol y accidentes (Alcohol and accidents) .....	2	4
- Malation y poliaminas (Malathion and polyaminas) .....	2	8
- Poliaminas y malation (Polyaminas and malathion) .....	2	8
- Cadmio - Efecto protector del EDTA (Cadmium - Protective effect of EDTA) .....	2	12
- EDTA - Efecto protector para la toxicidad del Cd (EDTA - Protective effect for Cd Toxicity) .....	2	12
- Resúmenes. XIII Jornada Interdisciplinaria de Toxicología (Abstracts. XIII Interdisciplinary Meeting of Toxicology) .....	2	14
- Residuos Peligrosos - Ley 24.051, Argentina (Dangerous Refuses - Law 24,051, Argentine) .....	2	16

## Acta Toxicológica Argentina

Instrucciones para los autores de contribuciones para la revista

**Acta Toxicológica Argentina** (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 03279286) es el órgano oficial de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Tiene por objetivo básico la publicación de trabajos originales, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, temas de divulgación, comentarios bibliográficos, notas técnicas y cartas al editor. Asimismo se publicarán noticias relacionadas con los diferentes campos de la Toxicología.

**Acta Toxicológica Argentina** publicará contribuciones en español, portugués e inglés. Todas serán evaluadas por dos revisores; la selección de los mismos será atributo exclusivo del Comité Editorial. Este proceso determinará que el mencionado Comité opte por rechazar, aceptar con cambios o aceptar para su publicación el trabajo sometido a su consideración. En todos los casos los autores recibirán copia sin firma de la opinión de los evaluadores.

Las contribuciones científicas originales enviadas a consideración de ATA deberán ajustarse al siguiente formado básico:

- página 1: título, subtítulo nombres completos del o de los autores laboratorio o institución donde se realizó el trabajo dirección postal completa, incluyendo código postal, teléfono y fax autor al cual debe dirigirse toda la correspondencia.
- página 2: título de trabajo en castellano y en inglés resúmenes de hasta 250 palabras en castellano y en inglés. tres-cuatro palabras claves en castellano, portugués e inglés.
- página 3 en adelante: Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión, Bibliografía citada, Leyendas de Ilustraciones y Tablas con leyenda.

La extensión máxima de estos aportes no deberá superar las 8 (ocho) páginas. El texto deberá ser escrito en PC, en papel tamaño A4, a doble espacio, con márgenes superior, inferior e izquierdo de 4 cm. Se deberán enviar 3 juegos. Conjuntamente con las 3 copias del manuscrito, los autores deberán remitir una versión en diskette de 3 1/2" utilizando alguno de los siguientes procesadores de texto: Word for MS-DOS; WORD for WINDOWS; WORD PERFECT for DOS, indicando programa y versión usados. En el caso que los revisores recomienden la revisión del trabajo, la nueva versión deberá enviarse en diskette.

Las comunicaciones breves deberán respetar un formato similar al indicado para las contribuciones científicas exceptuando el resumen en español. El texto no necesariamente se dividirá en las partes indicadas (Introducción, Material y Métodos, etc.); no obstante, deberá contener en forma concisa la información que corresponde a esas partes. La extensión de esta categoría de aportes no deberá superar las 3 (tres) páginas.

Las revisiones, actualizaciones y temas de divulgación deberán ser lo más concisas posible y su extensión no excederá de 6 (seis) páginas. Su redacción deberá considerar lectores con formación científica pero ajenos o alejados del tema. Se considerarán preferentemente las revisiones solicitadas por el Comité Editorial.

Los comentarios bibliográficos serán contribuciones solicitadas por el Director. El autor deberá emitir una opinión fundamentada del trabajo sometido a su consideración. Además deberá incluir la siguiente información: título en idioma original, autor/es, edición considerada, traductor, editorial y asiento de la misma, tomo o volumen, número de páginas y año de edición. Se indicará claramente nombre del comentarista, institución a la que pertenece y domicilio completo. El texto no podrá ocupar más que 2 (dos) páginas.

Las notas técnicas se referirán exclusivamente a modificaciones de métodos, determinación de errores de las mismas, etc. Su extensión no superará las 2 (dos) páginas; al final deberán constar los datos que identifiquen claramente al autor/es.

Las cartas al editor serán textos de una extensión no mayor de 200 palabras y revestirán el carácter de correspondencia científica referida a textos publicados con anterioridad. El o los autores serán debidamente indicados.

Se solicita a los autores que tengan en cuenta las siguientes normas al preparar sus manuscritos:

- en todos los casos se deberá consignar en el ángulo superior derecho de cada hoja el apellido del autor o del primer autor y el número correlativo que corresponda, incluidas las páginas con Tablas.

- en el caso de sustancias químicas se tomará como referencia prioritaria a las normas de la IUPAC.

- los organismos se denominarán conforme a las normas internacionales, indicando sin abreviaturas el género y la especie en itálicas o subrayados.

- las ilustraciones (fotografías, gráficos) deben ser confeccionadas sobre materiales de alta calidad, con técnicas que permitan su reproducción sin tratamientos especiales. Es aconsejable que este material tenga las dimensiones de la caja de **Acta Toxicológica Argentina**; los autores deben tener presente que en los casos de ilustraciones en las que sea necesario proceder a su reducción el tamaño de las letras, números y demás elementos de las mismas deben tener dimensiones mayores para que la nitidez no se vea afectada luego de la impresión.

Se enviarán un juego de originales y dos copias.

Cada una de las ilustraciones deberá portar en el dorso, escrito con lápiz suave, el número que le corresponde, nombre del primer autor y mediante una flecha se indicará la posición superior. Las leyendas irán en hoja aparte.

Los costos adicionales que pudieran ocasionarse por la edición de dicho material serán a cargo del autor.

- las tablas y sus leyendas se presentarán en forma individual, en hojas aparte, identificadas mediante numeración arábiga conforme al orden en que aparecen en el texto. La ubicación preferente de la tabla en el texto se indicará mediante una flecha. Las tablas se ubicarán el final de cada manuscrito.

- las citas bibliográficas en el texto se indicarán mediante números correlativos, por orden de aparición, entre paréntesis: por ejemplo, "La separación de las isoenzimas se hizo por electroforesis de acuerdo a la técnica de Dietz y Lubrano (4)".

En el caso de citar artículos de más de dos autores, se indicará el apellido del primero seguido de la expresión et al.:

"Castañé et al. (5) fueron los primeros en..."

- las referencias bibliográficas serán agrupadas bajo el acápite "Bibliografía citada"; la lista se ordenará conforme a los números asignados. El formato de las citas es el siguiente:

artículo en publicación periódica:

"Malla Reddy, P. and M. Bashamohideen (1989). Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta hydrochim. hydrobio. 17 (1), 101-107."

libro:

"Dix, H.M. (1981), Environmental pollution. John Wiley & Sons, New York, 286 pp."

Las abreviaturas de la denominación de las revistas serán las que ellas mismas indican en su texto.

- cualquier modificación excepcional de las normas estipuladas que los autores soliciten será considerada por el Director.

- las pruebas de galera se enviarán al autor indicado como receptor de la correspondencia. Las mismas serán revisadas y devueltas dentro de las 48 horas de recibidas.

- el autor indicado recibirá 10 separatas sin cargo. El excedente solicitado sobre esa cantidad será costado por el/los autores: la cantidad solicitada deberá ser indicada al Editor en el momento de devolver las pruebas de galera.

Toda la correspondencia referida al **Acta Toxicológica Argentina** deberá ser dirigida al Comité Editorial, Alsina 1441, Of. 302 - (1088) Buenos Aires, Argentina - Telefax: ++54-1-381-6919.

Se solicita canje con otras publicaciones temáticamente afines a **Acta Toxicológica Argentina**.

## Acta Toxicológica Argentina

### Instructions to authors

**Acta Toxicológica Argentina** (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 03279286) is the official journal of the Asociación Toxicológica Argentina (Argentine Toxicological Association) for scientific dissemination. **Acta Toxicológica Argentina** (hereinbelow, ATA) is basically aimed at publishing original full-length papers, short communications, reports on research in progress or review papers, topics of interest to workers in Toxicology, book reviews, technical communications as well as letters to the Editor. News relevant to the different fields of Toxicology will also be published.

ATA will publish articles written in either Spanish, Portuguese, or English. Every article will be evaluated by two examiners. Only the Editorial Board will be responsible for selecting articles -that is, decisions about (a) rejected articles, (b) accepted articles with, however, changes to be introduced by authors, or (c) accepted articles with no changes whatsoever are a privilege of the Editorial Board. In all cases, authors are to receive an unsigned copy of the examiners' evaluation.

Scientific original typescripts submitted to the consideration of the Editorial Board should adhere to the following, basic format:

— Page 1: Title, and subtitle of paper.

Authors' full names; academic or professional affiliation, and complete name of the laboratory or institution, research involved has been conducted at.

Complete address (city, State or Province, zip code, country, phone number and fax number).

The name and address of the author to whom correspondence is to be sent should be given.

— Page 2: Title of paper, in Spanish and in English.

A 250-word summary in both Spanish and English.

A list of three or four key words in Spanish, Portuguese, and English should be included.

— Page 3 onward: As a rule full length papers should be divided into sections headed by a caption: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, captions of figures, and caption of tables.

Full-length papers should not exceed eight pages. Text is to be typed with PC, on A4 paper, in double-spaced typing with at least 4 cm upper, lower, and left margin. Typescripts should be submitted in triplicate. Besides the 3 printouts of the manuscript, authors are requested to submit the paper on diskette (3 1/2") made in one of the next word processing systems: Word for MS-DOS, Word for Windows, Word Perfect for MS-DOS indicating the program and version used. Revised versions of the paper, because of referee's recommendations, should always be accompanied by a new diskette.

Short communications should adhere to a similar format. However short communications should contain no section headings. No Spanish summary is required but text is supposed to contain, in a concise way, every information relevant to the above mentioned headings (Introduction, Materials and Methods, etc.) Short communications should not exceed three pages.

Review papers, updatings, and reports on research in progress should be as concise as can be. Such articles should not exceed three pages. Their wording should address a scientifically educated readership that, however, can be unfamiliar with topics involved. Review papers, updatings, and reports on research in progress previously requested to authors by the Editorial Board will be privileged.

Book reviews should have been requested to authors by the Editor. Authors should sustain their contention on the book submitted to their attention. Besides, authors of any book review should submit the following information: Title of the book in its original language, full names of authors or editors of the book, edition number of the book, translator's name if any, publisher's full name, city, volume number if any, number of pages, and publishing year. The full name and academic or professional affiliation of the author of any book review should be stated clearly. No book review should exceed two pages.

Technical communications should refer exclusively to modifications in scientific methods, determinations of errors committed in scientific methods, etc. Technical communications should not exceed two pages. At the end of a communication, authors' full name and particulars should be clearly stated.

Letters to the Editor should not exceed 200 words: Letters are a scientific correspondence referred to previously published manuscripts. Author or authors of a letter to the Editor should be clearly identified.

When submitting a full-length paper, authors should take the following recommendations into account:

— On the upper right angle of every page, the last name (surname) of author (or the first author) should be typed next to the corresponding paging number. Pages containing tables should also be paginated.

— When referring to chemicals, IUPAC standards should be preferred.

— Organisms should be denominated according to international standards. Gender and species should be stated unabridged. When using a computer word processor, authors should use italics. When using a typewriter, authors should underline.

— Illustrations (photographs, diagrams, etc.) should be made on top quality materials, the technique of which should allow illustrations to be reproduced without special treatments whatsoever. It is advisable that illustrations be the same size as an ATA page. As regards illustrations that must be reduced, authors should see to it that letters, figures, and/or any other element in illustration be bigger-sized on the original so that such letters, figures or elements be still clearly readable once illustration has been reduced.

Illustrations should also be sent in triplicate (one original, and two copies).

On the reverse of illustration the following elements should be written with a soft lead pencil: Figure corresponding to illustration, last name (surname) of author (or first author). An arrow should point out the upper part of illustration. Captions to illustration should be typed on a separate sheet.

Authors should be aware that any extra charge caused by the printing of illustrations will be levied for each illustration.

— Tables and captions thereof should be submitted on separate sheets. Each page should be paginated with Arabic numerals, according to the order in which tables appear in article.

— Literature references in the text should be given at the appropriate places by numbers between brackets. For example: "Isoenzymes separation was performed by electrophoresis according to a technique developed by Dietz and Lubrano (4)".

When referring to an article written by more than one author, the last name (surname) of the first author will be followed by "et al." For example: "Castaño et al. (5) have been the first researchers in..."

— Literature references should be listed under the heading "References". References should be arranged according to the numbers given to citations in the text of article. Format of references is as follows:

• A paper published in a journal

Malla Reddy P. and M. Bashamohideen (1989) Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Acta hidrochim. hydrobio.* 17 (1), 101-107.

• A book

Dix H.M. (1981) *Environmental pollution*. John Wiley & Sons, New York, p. 286.

A bridged name of journals should be the abridged name that a journal uses.

— Any exceptional modifications to the above mentioned instructions that authors should request will be submitted to the attention of the Editor.

Proofs will be sent to author whose address has been stated in paper. Author should review proof and airmail proof back to the Editor as soon as possible (within 48 hours of receiving proof, in the Argentine Republic).

Author, or first author will receive 10 offprints at no charge. Should author or authors request extra offprints, a charge will be levied. Author, or authors should state the number of extra offprints they wish to receive when they send back the reviewed proof to the Editor.

Any correspondence referred to ATA should be sent to:

**Acta Toxicológica Argentina** - Comité Editorial - Alsina 1441, Of. 302  
Telefax ++54 - (01) 381-6919 - 1088 Buenos Aires - Argentina.

Exchange is kindly requested with journals the scope and purpose thereof are akin to the scope and purpose of **Acta Toxicológica Argentina**.

## Acta Toxicológica Argentina

Instruções para os autores de contribuições para a revista.

**Acta Toxicológica Argentina** (Acta Toxicol. Argent.) (ISSN 03279286) é o órgão especial de difusão científica da Associação de trabalhos originais, livros, comunicações, actualizações ou revisões, tema de divulgação, comentários bibliográficos, notas técnicas e cartas ao editor. Igualmente serão publicadas notícias relacionadas com diferentes campos da Toxicologia.

**Acta Toxicológica Argentina** publicará contribuições em espanhol, português e inglês. Todas serão avaliadas por dois revisores; a seleção deles será atribuição exclusiva do Comité Editorial. Este processo determinará que o mencionado Comité opte por eliminar, aceitar com alterações ou aceitar para publicação o trabalho submetido para sua consideração. Em todos os casos os autores receberão cópia sem assinatura da opinião dos avaliadores.

As contribuições científicas originais enviadas à consideração da ATA deverão ajustar-se à seguinte estrutura básica:

- página 1: título, subtítulo  
nomes completos do ou dos autores, laboratório ou instituição onde se realizou o trabalho;  
endereço postal completo, incluindo código postal, telefone e fax;  
autor ao qual toda a correspondência deverá ser dirigida.
- página 2: título do trabalho em espanhol e em inglês;  
resumos de até 250 palavras, em espanhol e em inglês.  
três, quatro palavras-chaves em espanhol, português e em inglês.
- página 3 em seguida:  
Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão, Bibliografia indicada, Títulos de Ilustrações e Quadros com legendas. A extensão máxima destes aportes não deverá superar 8 (oito) páginas. O texto deverá ser escrito com PC em papel tamanho A4 com espaço duplo, com margens superior, inferior e esquerda de 4 cm. Deverão ser enviados 3 jogos.

Junto com as cópias do manuscrito, os autores deverão enviar uma versão em disquete (de 3 1/2"), em um dos seguintes processadores de texto: WORD for MS-DOS, WORD for WINDOWS, WORD PERFECT for MS-DOS. Caso os revisores recomendem revisão do trabalho, a nova versão também deverá ser acompanhada de uma cópia em disquete.

As comunicações breves deverão respeitar um formato semelhante ao indicado para as contribuições científicas excetuando o resumo em espanhol. O texto não necessariamente será dividido nas partes indicadas (Introdução, Material e Métodos, etc.); não obstante, deverá conter em forma concisa a informação que corresponde a estas partes. A extensão desta categoria de aportes não deverá superar 3 (tres) páginas.

As revisões, actualizações e temas de divulgação deverão ser o mais conciso possível e sua extensão não excederá de 6 (seis) páginas. Sua redação deverá contemplar leitores com formação científica, porém, estranhos ao tema.

Considerar-se-ão preferentemente as revisões solicitadas pelo Comité Editorial.

Os comentários bibliográficos serão contribuições solicitadas pelo Diretor.

O autor deverá emitir uma opinião fundamentada sobre o trabalho submetido à sua consideração. Além disso, deverá incluir a seguinte informação: título em idioma original, autores, edição considerada, tradutor, editorial e respectivo lugar, o livro ou volume, número de páginas e ano da edição. Será claramente indicado o nome do comentarista, instituição à qual pertence e endereço completo. O texto não poderá ocupar mais que 2 (duas) páginas.

As notas técnicas referir-se-ão exclusivamente a modificações de métodos, determinação dos respectivos erros etc. Sua extensão não ultrapassará 2 (duas) páginas; ao final deverão constar os dados que identifiquem claramente os autores.

As cartas do editor serão textos de extensão não superior a 200 palavras e terão o caráter de correspondência científica relacionada com textos publicados anteriormente. Autor ou autores serão devidamente indicados.

Solicita-se aos autores que tenham em conta as seguintes normas ao prepararem seus manuscritos:

- em todos os casos deve-se consignar no ângulo superior direito de cada folha o sobrenome do autor ou do primeiro autor e o número correlativo que corresponde, inclusive as páginas com quadros.

- no caso de substâncias químicas, se adotará como referência prioritária as normas da IUPAC.

- os organismos serão denominados segundo as normas internacionais, indicando sem abreviaturas o gênero e a espécie em itálico ou sublinhados.

- as ilustrações (fotografias, gráficos) devem ser confeccionadas com materiais de alta qualidade, com técnicas que possibilitem sua reprodução sem tratamentos especiais. É aconselhável que este material tenha as dimensões de Acta Toxicológica Argentina; os autores devem ter em conta que, nos casos de ilustrações nas quais seja necessário proceder a sua redução, o tamanho das letras, números e outros elementos devem ter dimensões maiores para que a nitidez não seja afetada depois da impressão.

Serão enviados um jogo de originais e duas cópias.

Cada uma das ilustrações deverá levar no verso, escrito com lápis suave, o número que lhe corresponda, nome do primeiro autor e mediante uma seta será indicada a posição superior. Os títulos irão em folha separada.

Os custos adicionais que possam produzir-se pela edição do referido material ficarão a cargo do autor.

- os quadros e suas legendas serão apresentados em forma individual, em folhas separadas, identificadas segundo numeração arábica, segundo a ordem em que apareçam no texto. A localização preferida do quadro no texto será indicada mediante uma seta. Os quadros localizar-se-ão no final de cada manuscrito.

- as referências bibliográficas serão indicadas por números correlativos segundo se apresentem no texto: por exemplo, "A separação das isoenzimas foi feita por electroforese de acordo com a técnica de Dietz e Lubrano (4)".

No caso de mencionar artigos de mais de dois autores, será indicado o sobrenome do primeiro seguido da expressão e ou:

"Castañé e ou (5) foram os primeiros em ..."

- as referências bibliográficas serão agrupadas segundo o título "Bibliografia citada"; a lista será organizada segundo os números correspondentes. O formato das citações é o seguinte:

Artigo em publicação periódica:

"Malla Reddy, P. and M. Bashamohideen (1989). Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Acta hydrochim. hydrobio. 17(1), 101-107."

livro:

"Dix, H.M. (1981). Environmental pollution. John Wiley & Sons, New York, 286 pp."

As abreviações do nome das revistas serão as que elas mesmas indiquem no texto.

- qualquer modificação excepcional das normas estipuladas que os autores solicitem será considerada pelo Diretor.

- as provas de impressão serão enviadas ao autor indicado como receptor da correspondência. As mesmas serão revisadas e devolvidas dentro de 48 horas após recebidas.

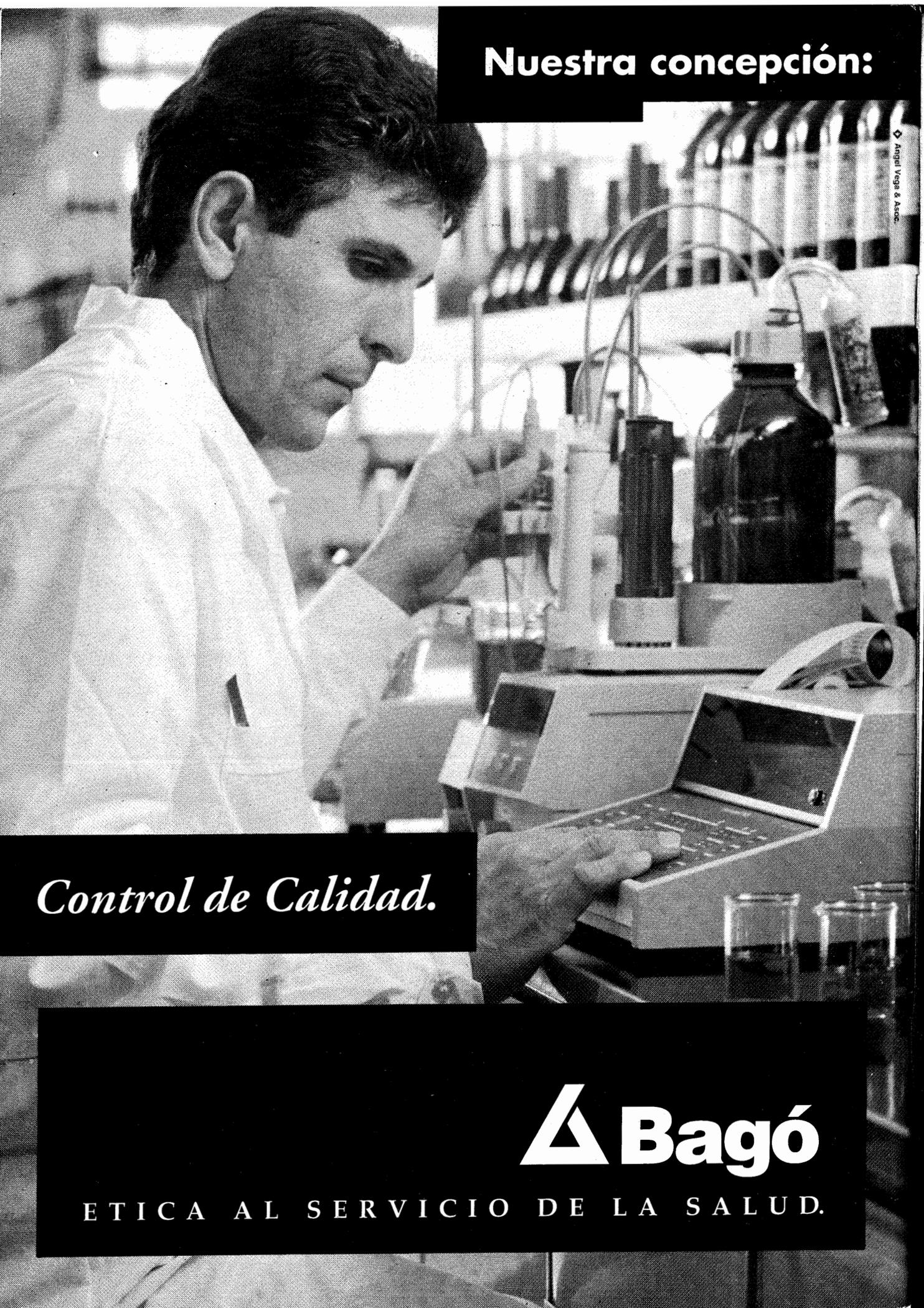
- o autor indicado receberá 10 separatas sem despesa. O excedente solicitado sobre essa quantidade será custeado por ele ou demais autores; a quantidade solicitada deverá ser comunicada ao Editor no momento de devolver as provas de impressão.

Toda a correspondência relativa à Acta Toxicológica Argentina deverá ser dirigida ao Comité Editorial, Alsina 1441, Of. 302 - (1088) Buenos Aires, Argentina. Telefax: ++54-(01)-381-6919.

Solicita-se troca com outras publicações tematicamente afins com a Acta Toxicológica Argentina.







**Nuestra concepción:**

◇ Ángel Vega & Asoci.

*Control de Calidad.*

**△ Bagó**

ETICA AL SERVICIO DE LA SALUD.