

**TOXICIDAD E HIPERACTIVIDAD PRODUCIDA POR PIRETROIDES Y REPELENCIA POR DIETILTOLUAMIDA EN DOS COLONIAS DE *Triatoma infestans* KLUG, 1834 (HEMIPTERA: REDUVIIDAE) RESISTENTES A DELTAMETRINA<sup>1</sup>**

*Valeria Sfara*

Se estudió la toxicidad de los insecticidas piretroides deltametrina,  $\lambda$ -cihalotrina y tetrametrina en ninfas del primer estadio de *Triatoma infestans*, expuestas a papeles de filtro impregnados con estos insecticidas. Se usaron insectos de una cepa susceptible de laboratorio (CIPEIN) y dos colonias derivadas de individuos resistentes a deltametrina recolectados en el norte de la provincia de Salta (El Chorro y La Toma). Se obtuvieron los siguientes valores de Concentración Efectiva 50% (todos los valores están expresados en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ): para deltametrina, 0,1 (CIPEIN) y  $>1400$  (El Chorro y La Toma); para  $\lambda$ -cihalotrina, 0,3 (CIPEIN), 23,2 (El Chorro) y 14,4 (La Toma); y para tetrametrina, 270 (CIPEIN) y  $> 1400$  (El Chorro y La Toma). Los valores de Grado de Resistencia (GR) fueron: para deltametrina,  $>10.769$  (El Chorro y La Toma); para  $\lambda$ -cihalotrina, 85,8 (El Chorro) y 50,7 (La Toma); para tetrametrina,  $> 5,2$  (El Chorro y La Toma). Al comparar estos valores con los GR calculados a partir de datos obtenidos previamente en este laboratorio con el método de aplicación tópica, se observó una ausencia de correlación entre los resultados obtenidos mediante las distintas formas de aplicación. Estos resultados indican que al evaluar la resistencia en laboratorio hay que elegir cuidadosamente en qué forma se aplican los insecticidas. Si bien el método de aplicación tópica permite conocer con exactitud la cantidad de insecticida que recibe cada individuo, el método de exposición a superficies tratadas refleja más fielmente lo que sucede en campo, donde las vinchucas se exponen al insecticida al caminar sobre paredes y techos rociados con las formulaciones. Al comparar la actividad locomotora producida por estos tres piretroides, se observó que los individuos de El Chorro y La Toma mostraron resistencia a la hiperactividad característica de los piretroides. Debido a la rapidez con que se manifiesta este efecto sobre el comportamiento, se puede descartar que la resistencia a la hiperactividad se deba a un aumento en la actividad de enzimas detoxificantes. Estos resultados sugieren que el, o al menos uno, de los mecanismos de resistencia sea una modificación del sitio de acción de los piretroides (los canales de sodio dependientes de voltaje). Esto confirmaría resultados previos obtenidos en este laboratorio (disminución parcial de la resistencia al aplicar

1 Tesis presentada para optar por el título de Magíster en Control de Plagas y su Impacto Ambiental, de Valeria Sfara, a la Escuela de Postgrado, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN-CITEFA/CONICET), Director: Dr. Raúl A. Alzogaray, en Buenos Aires, 2005.

Dirección para contacto: E-mail: vsfara@citefa.gov.ar

los insecticidas simultáneamente con sinergistas). No se observaron diferencias en las respuestas al repelente dietiltoluamida entre la cepa susceptible y las colonias resistentes a deltametrina. En los tres casos, el efecto repelente fue muy grande (Coeficientes de Repelencia: 99,7 (El Chorro); 99,5 (La Toma); 99,9 (CIPEIN). Si el mecanismo de resistencia es una modificación del sitio de acción de los piretroides, esta modificación no afecta la respuesta al repelente.

#### TOXICITY AND HYPERACTIVITY PRODUCED BY PYRETHROIDS, AND REPELLENCE BY DIETHYLTOLUAMIDE IN TWO DELTAMETHRIN RESISTANT COLONIES OF *Triatoma infestans* KLUG, 1834 (HEMIPTERA: REDUVIIDAE)

In this study, the toxicity of the pyrethroid insecticides deltamethrin,  $\lambda$ -cihalothrin and tetramethrin, on first instar nymphs of *Triatoma infestans* exposed to treated filter papers, was described. The insects were from an insecticide susceptible strain reared in laboratory (CIPEIN), and two colonies obtained from individuals sampled in the north of Salta province (El Chorro and La Toma). The values of effective concentration 50% were (in all cases expressed in  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ): for deltamethrin, 0.1 (CIPEIN) and  $>1400$  (El Chorro and La Toma); for  $\lambda$ -cihalothrin, 0.3 (CIPEIN), 23.2 (El Chorro) and 14.4 (La Toma); and for tetramethrin, 270 (CIPEIN) and  $>1400$  (El Chorro and La Toma). The Resistance Ratios (RR) were: for deltamethrin,  $>10769$  (El Chorro and La Toma); for  $\lambda$ -cihalothrin, 85.8 (El Chorro) and 50.7 (La Toma); for tetramethrin,  $>5.2$  (El Chorro and La Toma). When these values were compared to RR values previously calculated in our laboratory using insecticide solutions topically applied, no correlation was observed between the results obtained with the two application methods. For this reason, when resistance is evaluated at laboratory, it is very important to choose carefully the insecticide application methods. Although the topical application allows knowing the amount of insecticides received by each insect, the exposure to treated surfaces reproduces in a better way the field conditions, where the bugs take contact with the insecticides when they walk on walls and roofs sprayed with the insecticide formulations. Individuals from El Chorro and La Toma showed resistance to hyperactivity usually produced by pyrethroids. Because hyperactivity occurs rapidly, it may be assumed that the resistance to this effect is not due to an increase in the activity of detoxicant enzymes. These results suggest that a modification in the pyrethroid site of action (the voltage dependent sodium channels) is a possible resistance mechanism in these insects. This could be a confirmation of results previously obtained in our laboratory, i.e., a partial resistance reversion when insecticides are simultaneously applied with synergists. No differences were observed in the repellence produced by diethyltoluamide on the resistant colonies and the susceptible strain. In all cases, the repellent effect was high (Repellence Coefficients: 99.7 (El Chorro); 99.5 (La Toma); 99.9 (CIPEIN)). If the resistance mechanism is a change in the pyrethroids site of action, this change seems not to affect the response to diethyltoluamide.

# ESTUDO DOS PARASITOS OPORTUNISTAS EM ÁGUAS FLUVIAIS DE USO HUMANO NO MUNICÍPIO DE GOIÂNIA-GOIÁS, BRASIL, 2006/2007 <sup>1</sup>

Sônia de Fátima Oliveira Santos

*Introdução:* A água é uma substância de importância vital para os seres vivos, porém, em virtude da ação antrópica, inúmeros microrganismos são disseminados por meio dela. Dentre esses microrganismos, os parasitos merecem atenção especial. Estes chegam aos ambientes aquáticos por intermédio das fezes do homem e de outros animais e podem desencadear diversos agravos à saúde, sobretudo em indivíduos imunodeprimidos e imunossuprimidos. Em rotina de monitoramento ambiental, normalmente se utilizam as bactérias do grupo dos coliformes como parâmetro microbiológico, o que não evidencia a real contaminação por outros patógenos, comprometendo a avaliação da qualidade microbiológica da água. Neste contexto, técnicas mais sensíveis devem ser desenvolvidas e agregadas às normalmente utilizadas como rotina de monitoramento ambiental. *Objetivos:* Padronizar a utilização de técnicas parasitológicas e moleculares na avaliação da qualidade da água de uso humano do município de Goiânia-Goiás, em relação à presença de helmintos e protozoários oportunistas, com ênfase na pesquisa dos Coccídeos e dos Microsporídios intestinais. *Metodologia:* Amostras de água foram coletadas mensalmente, de fevereiro/06 a janeiro/07, em seis pontos: em dois rios que abastecem o município de Goiânia – Rio Meia Ponte (dois pontos) e Ribeirão João Leite (dois pontos) – e nos lagos do Bosque dos Buritis e do Parque Vaca Brava. A análise laboratorial foi realizada pelo Núcleo de Pesquisa em Agentes Emergentes e Reemergentes (NUPEREME), Laboratório de Genética Molecular e Citogenética (LGMC) e Laboratório de Diagnóstico Genético e Molecular (LDGM) da Universidade Federal de Goiás. O procedimento para a detecção de protozoários em água se baseou no método da membrana filtrante preconizado pelo *Standard Methods for the Examination of water and wastewater*. Os agentes parasitários oportunistas foram identificados por meio de técnicas de concentração e coloração específicas para Coccídeos e Microsporídios, Imunofluorescência pelo kit MeryFluor® e técnicas moleculares, utilizando-se Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Nested-PCR. Os helmintos foram identificados pelo método de Hoffman Pons e Janer (1934). *Resultados:* De 72 amostras coletadas, duas foram positivas para *Cryptosporidium* sp pela técnica de Ziehl-Nelsen e do Kit MeryFluor®. Utilizando-se a técnica da Nested-PCR, foi confirmada a espécie *Cryptosporidium*

---

1 Resumo de dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde, área de concentração: Patologia, Clínica e Tratamento das Doenças Humanas, sob orientação do Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata e do Prof. Dr. Carlos Eduardo Anuniação, em Goiânia, GO, 2008.

Endereço para correspondência: E-mail: zapata@iptsp.ufg.br

*parvum* para a amostra coletada no Rio Meia Ponte, 2 km à jusante da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE)/Goiânia, o que não ocorreu com a outra amostra identificada no lago Vaca Brava. Utilizando-se a técnica de Hoffman Pons e Janer (1934), com confirmação pela técnica de Imunofluorescência do Kit MeryFluor®, foram encontrados cistos de *Giardia* sp no Ribeirão João Leite, em um ponto antes da captação da empresa Saneamento de Goiás (SANEAGO), 2,8% (2/72), e outro no município de Goianápolis, 1,4% (1/72), que recebe grande parte do esgoto gerado pela cidade de Anápolis. As técnicas de Kynioun e Hot-Chromotrope não apresentaram positividade para nenhum dos protozoários oportunistas pesquisados neste trabalho. Quanto aos helmintos, 23,6% (17/72) das amostras foram positivas para larvas de vida livre e 2,8% (2/72), para ovos, detectando-se *Ascaris lumbricoides* e *Hymenolepis diminuta*. Quanto à temperatura e umidade, não foi obtido resultado estatisticamente significativo, portanto esses dois aspectos não influenciaram na ocorrência dos protozoários e helmintos. *Conclusão:* As metodologias parasitológicas aplicadas mostraram ser de baixo custo, relativamente rápidas, porém não específicas. Para a identificação específica, foi necessária a utilização de métodos moleculares. Os helmintos apresentaram maior positividade, talvez pela praticidade do método que demonstrou rapidez e baixo custo para o diagnóstico.

#### OPPORTUNISTIC PARASITES FOUND IN WATER FOR HUMAN USE AT THE GOIANIA MUNICIPALITY, BRAZIL, 2006/2007

*Introduction:* Water is a substance of vital importance for human beings, however, due to the anthropic action, several microorganisms are disseminated by it. Within these microorganisms, special attention must be given to opportunistic parasites. They come to the aquatic environments through the faeces of man and other animals, and may unchain several consequences to health, especially in immunodepressed and immunosuppressed individuals. In environmental monitoring, bacteria of the coliform group are normally used as a microbiological parameter, these does not evidence the real contamination by other pathogens, compromising the real microbiological quality of water. In this context, more sensitive techniques must be developed and included to the already used ones as routine of environmental monitoring. *Objectives:* to evaluate the quality of water for human use from the Municipal District of Goiania-Goiás in relation to the presence of helminths and opportunistic protozoa, with emphasis in the research of Coccidia and intestinal Microspora. *Methodology:* The samples of water were collected monthly – from February 2006 to January 2007, in six sites: in Meia-Ponte River and Ribeirão João Leite River, which supply water for the Municipal District of Goiania; and Bosque dos Buritis Lake and Parque Vaca Brava Lake. The laboratorial analysis was performed in the Center for Research in emerging and reemerging agents

(NUPEREME), Laboratory of Molecular Genetics and Cytogenetics (LGMC), and Laboratory of Molecular and Genetic Diagnosis (LDGM) of the Federal University of Goiás. The procedures for the study of water were the methods of filter membrane recommended by “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”. The opportunistic parasite agents were identified by the technique of concentration and specific stain for coccidia and microsporidia, immunofluorescence by a kit MeryFluor and bio-molecular techniques, using PCR. The helminths were identified by the method of Hoffman Pons and Janner (1934). *Results:* from 72 collected samples, two were positive for *Cryptosporidium* spp by the technique of Ziehl-Nelsen and the kit Mery-Fluor. When the technique of PCR was employed, the specimen *Cryptosporidium parvum* was confirmed for the collected sample in Meia-Ponte River, 2km from the Wastewater Treatment Plant (ETE)-Goiania, what did not occur with other sample identified in Vaca Brava Lake. Utilizing the technique of Hoffman Pons and Janner (1934), on confirmation by the technique of immunofluorescence of the Kit Mery-Fluor, cysts of *Giardia* were found in Ribeirão João Leite River, in a point before the collection from SANEAGO (Sanitation of Goiás, Limited Company) at 2.8% (2/72), and another at the Municipality of Goianópolis at 1.4% (1/72), which receives a great part of the sewerage generated by Anapolis City. The techniques of Kyniolum and Hot-Cromotrope did not show positivity for any of the opportunistic protozoa researched in this work. About the helminthes, 23.6% (17/72) of the samples were positive for larvae of free life, and 2.8% (2/72) for eggs, detecting *Ascaris lumbricoides* and *Hymenolepis diminuta*. In relation to the temperature and humidity, significant results were not obtained statistically. However, it did not influence on the occurrence of the protozoa and helminths. *Conclusion:* The applied parasitological methods showed to be at low cost, relatively fast ones, however not specific. For the specific identification it was necessary to employ molecular methods. Helminths showed higher positivity, perhaps by the method employed, demonstrating speed and low cost for the diagnosis.

# ESPÉCIES DE PHLEBOTOMINAE (DIPTERA: PSYCHODIDAE,) DA FAZENDA SÃO JOSÉ, MUNICÍPIO DE CARMO, ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL <sup>1</sup>

*João Ricardo Carreira-Alves*

Nesta pesquisa foram estudados aspectos da ecologia e biologia dos flebotomíneos, na Fazenda São José, município de Carmo, situado a 118 km da capital do estado do Rio de Janeiro. O local que serviu de apoio logístico para a realização desta pesquisa foi a casa onde ocorreu o caso autóctone humano de leishmaniose tegumentar americana. Durante dois anos (1994-1995; 2006-2007), foram realizadas capturas mensais em três sítios de coletas: intradomicílio, peridomicílio e na floresta. A tarefa foi realizada com capturador de Castro, lanterna e armadilha luminosa, modelo falcão e CDC, colocadas no peridomicílio e na floresta. Foram capturados e identificados 5.814 flebotomíneos de 16 espécies do gênero *Lutzomyia*: *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *L. whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *L. migonei* (França, 1920), *L. ayrozai* (Barretto & Coutinho, 1940), *L. davisii* (Root, 1934), *L. carrerai carrerai* (Barretto, 1966), *L. lenti* (Mangabeira, 1938), *L. cortelezii* (Brèthes, 1923), *L. sordellii* (Shannon & Del Ponte, 1927), *L. quinquefer* (Dyar, 1929), *L. lanei* (Barretto & Coutinho, 1941), *L. fischeri* (Pinto, 1926), *L. monticola* (Costa Lima, 1932), *L. lutziana* (Costa Lima, 1932), *L. aragaoi* (Costa Lima, 1932), *L. sp* e 5 espécies de *Brumptomyia* (França & Parrot, 1921): *B. brumpti* (Larrouse, 1920), *B. cardosoi* (Barretto & Coutinho, 1941a), *B. avellari* (Costa Lima, 1932), *B. guimaraensis* (Coutinho & Barretto, 1941a), *B. nitzulescui* (Costa Lima, 1932). *Lutzomyia intermedia* foi predominante (97,7%), com elevada frequência entre 18h e 20h. Em seguida foi avaliada a influência da sazonalidade e do ciclo lunar na fauna estudada, ficando constatado que *L. intermedia* predominou em todas as estações do ano e nas diferentes fases da lua, sendo mais significativas as médias encontradas no verão e no inverno. Na análise das fases da lua, a lua cheia e a nova apresentaram resultados relevantes, sendo coletada uma quantidade considerável de espécies na segunda fase (2006/2007). Foram analisados tipos e sítios de coletas e frequência horária, evidenciando-se a presença acentuada, porém irregular, no intra e peridomicílio, de *L. intermedia* em dois ecótopos pesquisados. Resultados expressivos foram encontrados. As maiores médias horárias de *L. intermedia* ocorreram em 1994, porém houve uma maior riqueza da fauna e das espécies/vetores de *Leishmania* em 2006. Ficou demonstrado que a variedade das espécies resultou das mudanças ambientais ocorridas entre os períodos estudados. Destacamos, então, a presença marcante de *L. intermedia* no interior da residência e

---

1 Resumo da dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), sob a orientação da Profª. Dra. Janira Martins Costa e do Prof. Dr. Gustavo Marins de Aguiar, para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal em Seropédica, RJ, 2008.

ressaltamos, ainda, a coleta de um elevado número de exemplares machos. Portanto, *L. intermedia* está plenamente adaptada ao ambiente modificado pelo homem. Os estudos demonstraram que *L. intermedia* está envolvida no ciclo de transmissão do agente etiológico da leishmaniose tegumentar americana na localidade.

#### PHLEBOTOMINAE (DIPTERA: PSYCHODIDAE) SPECIES IN SÃO JOSÉ FARM, RIO DE JANEIRO STATE, BRAZIL

In this study, the ecological and biological aspects of the phlebotominae of São Jose Farm, district of Carmo, located 118 km from the capital of Rio de Janeiro State, were studied. The reason to study this locality was the occurrence of an autochthonous human case of cutaneous leishmaniasis. During two years (1994/1995; 2006/2007), monthly captures were carried out: domiciliary, peridomiciliary and in the forest, with Castro's device, torch and bright trap, falcon model and CDC, placed in the peridomiciliary and in the forest. 5,814 phlebotominae were captured, from sixteen species of the *Lutzomyia* genus and identified as: *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912), *L. whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *L. migonei* (França, 1920), *L. ayrozai* (Barretto & Coutinho, 1940) *L. davisii* (Root, 1934), *L. carrerai carrerai* (Barretto, 1966), *L. lenti* (Mangabeira, 1938), *L. cortelezzi* (Brèthes, 1923), *L. sordellii* (Shannon & Del Ponte, 1927), *L. quinquefer* (Dyar, 1929), *L. lanei* (Barretto & Coutinho, 1941), *L. fischeri* (Pinto, 1926), *L. monticola* (Costa Lima, 1932), *L. lutziana* (Costa Lima, 1932), *L. aragaoi* (Costa Lima, 1932), *L. sp.*, and five species of *Brumptomyia* França & Parrot, 1921: *B. brumpti* (Larrouse, 1920), *B. cardosoi* (Barretto & Coutinho, 1941a), *B. avellari* (Costa Lima, 1932), *B. guimaraensis* (Coutinho & Barretto, 1941a), and *B. nitzulescui* (Costa Lima, 1932). *Lutzomyia intermedia* was the predominant one (97.7%), with a high frequency that ranged between 6 p.m. and 8 p.m. The influence of seasonality and the lunar cycle in the fauna studied were also evaluated, making it clear that *L. intermedia* was predominant in all the seasons of the year and in the different phases of the moon, being more significant in summer and winter. In the phases of the moon analysis, full and new moons presented relevant results, when a considerable amount of species was collected in the second phase (2006/2007). Time frequency, types and sites of collection were analyzed. The strong presence of *L. intermedia* was shown, even though irregular, in two sites searched (intra and peridomiciliar) in which expressive results were found. The most frequent time averages of *L. intermedia* occurred in 1994, but there was a bigger wealth of fauna and vector species of *Leishmania*, in 2006. It was clear that the variety of these species had been the consequence of environmental changes presented between the periods studied. It should be highlighted that the predominant presence of *L. intermedia* was inside residences, as well as the high number of male samples collected. It was observed that *L. intermedia* is completely adapted to the environment modified by man. Studies show that *L. intermedia* is involved in the cycle transmission of the etiological agent of the American Cutaneous Leishmaniasis in that area.