

Estado de la resistencia a insecticidas en *Triatoma infestans* de Argentina

Situação da resistência a inseticidas em *Triatoma infestans* na Argentina

State of Insecticide Resistance in *Triatoma infestans* in Argentina

Gastón Mougabure-Cueto^{1,2}, Patricia A. Lobbia^{1,2}

¹ Laboratorio de investigación en Triatomos (LIT), Centro de Referencia de Vectores (CeReVe), Ministerio de Salud de la Nación, Santa María de Punilla, Córdoba, Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

Cita: Mougabure-Cueto G, Lobbia PA. Estado de la resistencia a insecticidas en *Triatoma infestans* de Argentina. Rev. Salud ambient. 2021; 21(2):148-157.

Recibido: 29 de junio de 2021. **Aceptado:** 6 de octubre de 2021. **Publicado:** 15 de diciembre de 2021.

Autor para correspondencia: Gastón Mougabure-Cueto.

Correo e: gmougabure@gmail.com

Laboratorio de Investigación en Triatomos (LIT), Centro de Referencia de Vectores (CeReVe), Ministerio de Salud de la Nación, Argentina.

Financiación: Este grupo no ha contado con ningún tipo de financiación para el desarrollo de su trabajo.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses que hayan influido en la realización y preparación de este trabajo.

Declaraciones de autoría: Todos los autores contribuyeron al diseño del estudio y a la redacción del artículo. Asimismo todos los autores aprobaron su versión final.

Resumen

Los insectos triatomos son los vectores de la enfermedad de Chagas. El control químico de estos insectos es la principal herramienta utilizada para reducir la incidencia de la enfermedad. Los piretroides son los principales insecticidas utilizados para el control de los triatomos en todos los países endémicos. La evolución de resistencia a insecticidas convierte en ineficiente una exitosa estrategia de control químico. En Argentina se han detectado diferentes focos de resistencia en *Triatoma infestans*, el vector más importante en el Cono Sur de Sudamérica, asociados a deficiencias en el control. Los estudios realizados sobre esta especie muestran que la resistencia es un problema complejo, ya que evolucionó en varias zonas de la distribución geográfica de la especie, se identificaron diferentes mecanismos de resistencia, está asociada a modificaciones en diversos procesos biológicos, está vinculada a variaciones ambientales y hay escasez de alternativas de control. En este manuscrito presentamos una revisión del conocimiento sobre la resistencia a piretroides en *T. infestans* en Argentina.

Palabras clave: *Triatoma infestans*; Chagas; resistencia a insecticidas; piretroides.

Resumo

Os insetos triatomíneos são os vetores da doença de Chagas. O controle químico desses insetos é a principal ferramenta utilizada para reduzir a incidência da doença. Os piretróides são os principais inseticidas usados para controlar os triatomíneos em todos os países endêmicos. A evolução da resistência aos inseticidas converte em ineficiente uma estratégia de controle químico eficiente. Na Argentina foram detectados diferentes focos de resistência em *Triatoma infestans*, o vetor mais importante do Cone Sul da América do Sul, associados a deficiências de controle. Os estudos realizados nesta espécie mostram que a resistência é um problema complexo, visto que evoluiu em várias áreas da distribuição geográfica da espécie. Foram identificados diferentes mecanismos de resistência, associados a modificações em vários processos biológicos e ligados a variações ambientais, havendo uma escassez de alternativas de controle. Neste manuscrito é apresentada uma revisão do conhecimento sobre a resistência aos piretróides em *T. infestans* na Argentina.

Palavras-chave: *Triatoma infestans*; Chagas; resistência a inseticidas; piretroides.

Abstract

Triatominae (kissing bugs) are the vectors of Chagas disease. Chemical control of these insects is the main tool for reducing the incidence of the disease. Pyrethroids are the main insecticides used for triatomine control in all endemic countries. The evolution of insecticide resistance renders a successful chemical control strategy ineffective. In Argentina, different foci of resistance have been detected in *Triatoma infestans*—the most important vector in the Southern Cone of South America, which are associated with control deficiencies. The studies conducted on this species show that resistance is a complex problem because it has evolved in several areas of the species' geographical distribution. Different resistance mechanisms have been identified. Resistance is associated with changes in various biological processes and linked to environmental changes. There is a lack of control alternatives. This paper is a review of the knowledge on pyrethroid resistance in *T. infestans* in Argentina.

Keywords: *Triatoma infestans*; Chagas; insecticide resistance; pyrethroids.

INTRODUCCIÓN

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es considerada una de las parasitosis humanas más importantes del continente americano. Si bien es endémica de América, existen personas con Chagas en muchos países del resto del mundo. Actualmente, se estima que al menos 6 millones de personas se encuentran infectadas en 46 países y 1,5 millones en Argentina¹. La enfermedad es producida por el trypanosomatido *Trypanosoma cruzi*. A pesar de la existencia de diferentes vías de transmisión (transfusión de sangre, vertical, oral por alimentos contaminados y accidentes de laboratorio), la principal es a través de heces de insectos hematófagos infectados de la subfamilia Triatominae (familia Reduviidae). Se han descrito alrededor de 151 especies de triatominos, la gran mayoría exclusivas del continente americano, y 15 están presentes en Argentina². En este país, como en el resto del Cono Sur de América del Sur, el vector de mayor importancia epidemiológica, dado su alto grado de adaptación al ambiente doméstico entre otras características, es *Triatoma infestans*³.

Al ser una enfermedad que carece de una vacuna y de un tratamiento eficaz para las formas crónicas, el control químico de los vectores es la principal herramienta empleada para reducir su incidencia. El control químico está basado en el rociado de las viviendas y construcciones anexas (peridomicilio) infestadas con formulados insecticidas con acción residual⁴. Actualmente, los piretroides son los principales insecticidas utilizados por los programas de control de Chagas de los países endémicos y su uso, en el marco de programas intergubernamentales regionales de control (las iniciativas de los países del Cono Sur, andinos, de América Central y de Amazonas), ha llevado a la reducción de la distribución de triatominos y la consecuente interrupción/reducción de la transmisión vectorial de la enfermedad en varias áreas de la zona endémica^{4,5}. Sin embargo, en los últimos 20 años se ha denunciado la presencia de triatominos resistentes a piretroides en

diferentes países. Mayormente fueron focos aislados, de baja resistencia y sin comprometer el control en campo, excepto para *T. infestans*. Para esta especie se reportaron poblaciones resistentes en muchas áreas de Argentina y Bolivia, varias de ellas con elevados niveles de resistencia y asociadas a deficiencias en las acciones de control en campo⁶⁻⁸.

En este manuscrito presentamos una revisión del conocimiento sobre la resistencia a piretroides en *Triatoma infestans* en Argentina que incluye, por primera vez, la cronología de la implementación del monitoreo toxicológico a nivel país y la presentación de un nuevo bioensayo toxicológico. Hasta el día de hoy se han publicado artículos de revisión⁶⁻⁸ sobre la evolución de resistencia a insecticidas en vectores de Chagas y recomendamos su lectura para conocer en detalle, para diferentes especies y regiones de América, la cronología de la detección de resistencia, los niveles de resistencia de las diferentes poblaciones estudiadas, los mecanismos de resistencia en cada uno de los diferentes focos y las diferencias a varios niveles geográficos.

1. LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS

La susceptibilidad de un individuo a un insecticida es la expresión de una gran cantidad de procesos bioquímicos y fisiológicos que ocurren durante la interacción con el insecto-insecticida, cada uno determinado por factores genéticos y ambientales. Debido a la variación en estos factores, los individuos de una población tienen diferente susceptibilidad al tóxico⁹. Así, la variación genética de una población puede generar individuos que sobreviven a ciertas dosis de un insecticida (i.e. individuos resistentes). Estos individuos serán seleccionados por el insecticida aplicado a tales dosis lo que resultará, a través de las generaciones, en un aumento en la proporción de individuos resistentes generando una población resistente. En términos de biología evolutiva, la resistencia a insecticidas es un proceso microevolutivo donde el principal factor de cambio en la estructura

genética poblacional es la selección natural promovida por el insecticida¹⁰. En términos del control de plagas, la resistencia es el desarrollo de la capacidad, en una población de insectos, de tolerar dosis de un insecticida que son letales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie¹¹. El término más ampliamente utilizado en entomología para designar a lo no resistente es "susceptible", que es la condición más frecuente en las poblaciones naturales.

El nivel de la resistencia de una población depende de la proporción de individuos resistentes y de la intensidad de la resistencia individual, la cual depende de los mecanismos de resistencia¹². Este nivel se cuantifica mediante la comparación entre las curvas dosis respuestas (D-R) de una población resistente y la de una población susceptible de referencia. Una curva D-R muestra el incremento en mortalidad en función del aumento de la dosis de insecticida, y es una expresión de la variación y distribución de la susceptibilidad individual al insecticida en la población. De las curvas D-R se obtiene el estadístico dosis letal 50 (DL_{50}) que es la dosis que mata al 50 % de los individuos expuestos. Las poblaciones resistentes muestran curvas D-R y DL_{50} desplazadas hacia dosis mayores en relación a la población susceptible (i.e. en una población resistente se requiere una dosis mayor que en la susceptible para obtener el mismo nivel de mortalidad). El nivel de resistencia mide ese desplazamiento relativo y el cálculo más simple es el cociente: DL_{50} de la población resistente / DL_{50} de la población de susceptible. Es frecuente decir que cuando se determina la curva D-R y la DL_{50} de una población a un insecticida se determina la susceptibilidad de la población al insecticida.

La resistencia a insecticidas es un problema, ya que torna en ineficiente una exitosa estrategia de control químico. Si bien el surgimiento de las variantes génicas resistentes no es predecible, es posible llevar a cabo un plan de manejo de la resistencia. Sus objetivos son detectar la resistencia en el nivel más bajo posible y evitar que el proceso de selección continúe. Algunas actividades para alcanzar tales objetivos son: 1) tácticas de prevención de resistencia; 2) monitoreo toxicológico de las poblaciones bajo control químico; 3) descripción de los mecanismos de resistencia; 4) estudios de factores vinculados con la evolución de la resistencia; y 5) desarrollo de herramientas de control alternativas⁶.

Las tácticas de prevención evitan que los individuos resistentes incrementen su frecuencia. Si no hay insectos resistentes, estas tácticas no funcionan. Unas tácticas relajan la presión de selección al combinar varios insecticidas con diferentes sitios de acción ya sea en rotación temporal, en mosaico espacial o mezclados en un formulado; otras se basan en la dilución de los genes resistentes mediante el uso de refugios que preservan

insectos susceptibles¹³. Estas tácticas no se han aplicado en el control de vectores de Chagas. Esto se debe a la escasez de insecticidas o formulados aprobados por los entes reguladores para triatominos que permita combinar tóxicos y a la condición de insecto vector de una enfermedad que impide mantener insectos susceptibles en refugios.

2. EL MONITOREO DE RESISTENCIA

El monitoreo de resistencia es el seguimiento en el tiempo de la susceptibilidad a insecticidas en las poblaciones de la plaga que son objeto de control químico. Para esto se realiza un bioensayo toxicológico que consiste en aplicar una serie de dosis de insecticida a grupos de insectos y registrar el porcentaje de individuos muertos para cada dosis. De este bioensayo se obtiene la curva D-R y los estadísticos que describen la susceptibilidad de la población al insecticida (p. ej., DL_{50})¹⁴. Estos valores de susceptibilidad se comparan con el de una colonia o cepa susceptible de referencia lo que permite determinar la existencia o no de resistencia en las poblaciones estudiadas. En un monitoreo a gran escala geográfica, determinar las curvas D-R para todas las poblaciones resulta costoso y laborioso. En este caso, la evaluación de resistencia en laboratorio se realiza en de dos etapas. En la etapa 1 se aplica a grupos de insectos de cada población una dosis que mata al 100 % de individuos susceptibles. Si se registra 100 % de mortalidad, la población es considerada susceptible y termina el estudio. Si se registra sobrevivencia, la población es considerada resistente y entonces, en la segunda etapa, se determina la curva D-R lo que permitirá establecer el nivel de resistencia. La dosis que mata al 100 % de individuos susceptibles se denomina Dosis Discriminante (DD) y es obtenida a partir de la curva D-R de la cepa susceptible de referencia. Se recomienda realizar estos estudios con insectos descendientes de los recolectados en campo, obtenidos bajo condiciones controladas de laboratorio y en condiciones fisiológicas estandarizadas. Lo último minimiza la variación biológica y el uso de descendientes permite asegurar que la diferencia observada es heredable y descartar efectos ambientales.

Hasta la década de 1990, la resistencia a insecticidas en triatominos había sido escasamente documentada a través de diferentes bioensayos⁶. En 1994, se llevó a cabo una reunión de especialistas en el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN, UNIDEF-CITEDEF), organizada por el Programa de Investigación y Entrenamiento en Enfermedades Tropicales (TDR) de la Organización Mundial de Salud y fue aquí donde se desarrolló un protocolo de evaluación de resistencia en *Triatoma infestans* que estableció el bioensayo de aplicación tópica como metodología estándar¹⁵. Posteriormente, en 1997, la Argentina en una acción

conjunta entre el Programa Nacional de Chagas (PNCh), del Ministerio de Salud de la Nación (MinSal) (toma de muestras y logística), y el CIPEIN (realización de bioensayos) comenzó el primer intento de monitoreo de resistencia en *T. infestans*, mediante el cual se detectaron bajos niveles de resistencia no asociados a deficiencias en el control químico en unos pocos parajes del oeste y noroeste del país^{16,17}. Sin embargo, este primer monitoreo no se sostuvo en el tiempo y la evaluación de resistencia se centró en las zonas donde se reportaba que el rociado con insecticida no tenía el efecto esperado. Así, en 2002, se detectó elevada resistencia a piretroides en *T. infestans* del norte de la provincia de Salta (figura 1), en el límite con el Estado Plurinacional de Bolivia, el primer reporte de triatominos resistentes vinculado a ineficacia del control químico¹⁸. A los pocos meses, se detectaron *T. infestans* con alta resistencia a piretroides en el sur del departamento boliviano de Tarija en el límite con Argentina¹⁷. Inmediatamente se estableció un monitoreo toxicológico focalizado en esta zona de frontera con el objetivo de determinar la extensión de los focos detectados. Desde entonces muchos focos de resistencia fueron detectados en ambos países^{6,7,8}.

Figura 1. Mapa de Argentina que muestra la ubicación geográfica de los focos de *Triatoma infestans* con alta resistencia a piretroides asociados a deficiencias en el control químico en campo. Foco del departamento General José de San Martín, provincia de Salta (1); Foco del departamento General Güemes, provincia del Chaco (2)



En 2011 se detectaron altos niveles de infestación con *T. infestans* luego de los rociados con piretroides en parajes del noroeste de la provincia del Chaco (figura 1). Los insectos de esa zona mostraron los mayores niveles de resistencia a piretroides detectados hasta el momento en triatominos^{19,20}. La presencia de dos focos de alta resistencia asociados a la no efectividad de los insecticidas en campo impuso la necesidad de un monitoreo de resistencia sistemático que abarque todas las provincias endémicas. Su implementación y sostenimiento en el tiempo tendría mayores probabilidades de éxito si el monitoreo (desde la recolección de insectos hasta el bioensayo toxicológico) fuera una actividad técnica de rutina propia del MinSal. En este sentido, la creación en 2013 del Laboratorio de Investigación en Triatominos (LIT) dentro del Centro de Referencia de Vectores (CeReVe) perteneciente al MinSal permitió instalar en el ámbito del Ministerio la capacidad técnica para la evaluación de resistencia en *T. infestans*. Ese mismo año, el PNCh, los programas provinciales vinculados al Chagas y el CeReVe comenzaron el primer monitoreo sostenido a nivel país de resistencia a piretroides en *T. infestans*, actualmente en curso. Hasta la actualidad se evaluaron insectos provenientes 308 parajes de 57 departamentos distribuidos en 10 provincias y se detectó resistencia (alta, media o baja) en 34 parajes, la gran mayoría en las provincias de Salta y Chaco. Cabe destacar que la instalación del monitoreo en *T. infestans* se vio beneficiada por la red de vigilancia entomológica existente en el país desde hace décadas, ejecutada y coordinada por los programas de Chagas nacional y provinciales. La creación en 2019 de la Red Argentina de Vigilancia de la Resistencia a los Plaguicidas de Uso en Salud Pública (RAREP), constituida por representantes del MinSal y por instituciones de investigación en artrópodos de interés en salud pública, permitirá potenciar las actividades de manejo de la resistencia en *T. infestans* de Argentina.

3. UN NUEVO BIOENSAYO TOXICOLÓGICO

El bioensayo implementado en prácticamente todos los estudios de resistencia en triatominos desde 1990 utiliza la aplicación tópica como método de exposición del insecto al tóxico. Este consta de aplicar una pequeña gota de solución del insecticida en el dorso del abdomen de una ninfa de primer estadio en condiciones fisiológicas estandarizadas¹⁵. Al requerir insectos estandarizados bajo condiciones de laboratorio, equipos y entrenamiento, es difícil la ejecución de esta metodología por personal no especializado y su aplicación en campo o en laboratorios sin posibilidad de criar triatominos y sin el instrumental adecuado. En esta situación, una metodología de fácil implementación y ejecución permitiría descentralizar y agilizar el monitoreo a gran escala. Un método simple y adecuado para *Triatoma infestans* es el de exposición a superficies impregnadas por el cual los insectos se desplazan durante un tiempo por una superficie impregnada con una solución del insecticida. Además,

el monitoreo sería agilizado por la evaluación de los insectos recolectados en el campo y no tener que criarlos. Si bien la recomendación es evaluar los descendientes de laboratorio, es posible elaborar una estrategia que permita utilizar insectos de campo y obtener resultados confiables. Así, la etapa 1 de la determinación (i.e. aplicación de la DD) puede realizarse sobre los insectos de campo y luego, en caso de sobrevivencia, realizar la etapa 2 (i.e. ensayos dosis-respuesta) sobre los descendientes que permitirá determinar si la susceptibilidad disminuida se debe a factores ambientales o si es heredable, y así obtener el nivel de resistencia. El método de papeles impregnados se utilizó en los primeros estudios de resistencia en triatominos²¹ y luego fue adaptado para la evaluación de ninfas de quinto estadio de *T. infestans* recolectadas en campo¹⁵. Lardeux et al.²² adaptaron esta metodología a todos los estadios inmaduros y propusieron una DD (estrictamente, una Concentración Discriminante o CD) de deltametrina (uno de los principales piretroides usados para triatominos) para uso en campo. Remón et al.²³ estudiaron la susceptibilidad a papeles con deltametrina de todos los estadios inmaduros y adultos en diferentes condiciones fisiológicas, evaluaron y establecieron en laboratorio un CD para uso en campo. Remón et al.²⁴ demostraron el buen desempeño de estos papeles (papeles de filtro de 9 cm de diámetro impregnados con 1 ml de 0,36 % p/v deltametrina en aceite de silicona) y el uso de insectos de campo en la detección de alta resistencia en un paraje de la provincia de Chaco. Si bien falta una validación a gran escala y que incorpore parajes susceptibles y de baja y media resistencia, los papeles impregnados es una metodología promisoriosa para el monitoreo de resistencia en vectores de Chagas desplegados en grandes áreas geográficas.

4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA RESISTENCIA

Hasta el establecimiento del monitoreo de resistencia a nivel país en el año 2013, en Argentina se habían descrito dos focos de alta resistencia a piretroides asociados a deficiencia en el control químico: uno en el norte de la provincia de Salta en un área del departamento de General San Martín que incluye a las localidades de Salvador Mazza, Aguaray y parajes circundantes, y otro en el noroeste de la provincia de Chaco en un área del departamento de General Güemes que incluye la localidad de J. J. Castelli y parajes circundantes (figura 1). Del resto del área endémica poco se sabía más que algunos pocos parajes con baja resistencia sin comprometer el control en las provincias de Catamarca, Chaco, La Rioja, Mendoza, Salta y San Luis^{16,17,25}. El monitoreo actualmente en curso ha ampliado considerablemente el conocimiento acerca de la distribución geográfica de la susceptibilidad y resistencia a piretroides en *Triatoma infestans* mostrando que: 1) la evolución de elevados niveles de resistencia asociados a deficiencias en el control químico está

circunscripta al norte de la provincia de Salta y al noroeste de la provincia de Chaco (se siguen detectando parajes con insectos con alta resistencia pero siempre vinculados a estos dos focos); 2) en los focos de alta resistencia también hay parajes con insectos susceptibles; 3) en los pocos parajes que se evaluaron dos o más veces, la resistencia no revirtió aún sin acciones de control; y 4) por fuera de los dos focos de alta resistencia, la mayoría de los parajes en 10 provincias presentan insectos susceptibles (89 % de los parajes evaluados) con muy pocos parajes con insectos con resistencia baja o media y sin deficiencias en el control químico. Los estudios de laboratorio sobre insectos resistentes a piretroides no revelaron resistencia a otras clases de insecticidas, por ejemplo, organofosforados como malatión y fenitrotión, carbamatos como bendiocarb y fenilrazoles como fipronil^{17-19, 26-28}.

A pesar de ser un foco de alta resistencia, la susceptibilidad a piretroides en *Triatoma infestans* del departamento Güemes de la provincia de Chaco fue altamente variable con parajes con insectos con alta resistencia (36 %), parajes con insectos con baja resistencia (41 %) y parajes con insectos susceptibles (23 %)²⁰. En este foco, poblaciones de alta resistencia mostraron menor variabilidad genética que poblaciones susceptibles o de baja resistencia²⁹. También se ha observado variación toxicológica dentro de un paraje de alta resistencia (La Esperanza, Chaco) con viviendas que hospedaron *T. infestans* resistentes y viviendas con insectos susceptibles²⁸. Sin embargo, en otros parajes resistentes (p. ej. Acambuco y Pampa Argentina) no hubo diferencias toxicológicas entre insectos de diferentes viviendas^{24,28}. La resistencia a piretroides en *T. infestans* se expresa en huevos y en todos los estadios postembrionarios^{26,30,31}.

5. MECANISMOS DE RESISTENCIA

La interacción de un insecto con un insecticida comienza con la exposición al tóxico e incluye una serie de procesos bioquímico-fisiológicos que determinan el grado en que el organismo es dañado por el tóxico, es decir, la susceptibilidad individual. Para su estudio, estos procesos son agrupados en una fase toxicocinética y una fase toxicodinámica. La primera incluye los procesos de penetración, distribución, metabolismo (biotransformación) y excreción (eliminación), que determinan la concentración del insecticida en el sitio donde ejercerá su acción tóxica. La segunda comprende la interacción molecular entre el insecticida, el sitio de acción o receptor y la subsiguiente secuencia de procesos que determinan la respuesta tóxica⁹. Diversas alteraciones genéticas pueden afectar cualitativa o cuantitativamente los procesos recién descritos y, en consecuencia, modificar la susceptibilidad individual. Si la susceptibilidad es disminuida a un grado en que los

individuos sobreviven a las dosis de uso en campo, estos individuos son resistentes y serán seleccionados¹³. Los procesos toxicocinéticos/toxicodinámicos modificados que determinan la resistencia individual son denominados mecanismos de resistencia. Como diferentes insecticidas pueden compartir procesos toxicocinéticos y/o el sitio de acción, un mismo mecanismo puede generar resistencia a insecticidas de diferentes grupos químicos. Esto se denomina resistencia cruzada³². Entre los posibles mecanismos de resistencia, los más relevantes son la penetración reducida (disminuye la tasa de ingreso del insecticida), el metabolismo incrementado (aumenta la tasa de detoxificación del insecticida) y el sitio de acción modificado (disminuye la afinidad del receptor por el insecticida)¹³. Estos tres mecanismos han sido descritos en *Triatoma infestans* de diferentes localidades, con ejemplos con más de un mecanismo en la misma población^{6,33}. Los estudios sobre el metabolismo incrementado se focalizaron en las enzimas P450 (oxidasas de función mixta o monooxigenasas) y estererasas (hidrolasas) debido a que estas enzimas están involucradas en las principales rutas metabólicas de los piretroides³². A partir de diferentes abordajes metodológicos como la determinación de patrones de resistencia cruzada^{17,18,26}, bioensayos de inhibición enzimática *in vivo*^{18,33}, medición de la actividad enzimática^{16,17,27} y medición de la expresión génica^{34,35}, se demostró que el metabolismo incrementado mediado por las enzimas P450 y las estererasas es un mecanismo de resistencia en vinchucas de los dos focos de alta resistencia de Argentina. Sin embargo, debido a que los estudios de inhibición enzimática y de silenciamiento génico no revirtieron en parte o totalmente la resistencia, la detoxificación aumentada no parece ser el principal mecanismo^{18,36}. Fabro et al.³⁷ y Capriotti et al.³⁸ describieron en *T. infestans* resistentes dos mutaciones puntuales en el gen que codifica el sitio de acción de los piretroides, el canal de sodio dependiente de voltaje de las neuronas y otras células excitables. Las sustituciones aminoacídicas correspondientes, ubicadas entre los segmentos IV y VI del dominio II de la proteína que conforma el canal, fueron L1014F y L925I. Interesantemente, cada mutación está asociada a uno de los dos focos de alta resistencia, la L1014F en Salta y la L925I en Chaco^{33,39,40}. Muy pocos trabajos estudiaron en triatominos modificaciones en la cutícula (la capa más externa del tegumento de los insectos) que pudieran asociarse a la penetración reducida. Pedrini et al.⁴¹ determinaron una mayor cantidad de hidrocarburos epicuticulares y un mayor grosor para la cutícula de *T. infestans* resistentes. Dulbecco et al.³⁶ demostraron por primera vez en triatominos y en insectos en general el papel del tegumento en el metabolismo de insecticidas, en este caso mediado por enzimas P450. Si bien se sugiere el rol de las P450s tegumentarias como mecanismo de resistencia en *T. infestans*, los experimentos de silenciamiento génico no fueron concluyentes^{36,42,43}.

6. MODIFICACIONES BIOLÓGICAS ASOCIADAS A LA RESISTENCIA

Las mutaciones que modifican procesos toxicocinéticos/toxicodinámicos conformando mecanismos de resistencia pueden afectar otras características del individuo. Esto puede ocurrir a través de la modificación de procesos en los que el gen que porta la mutación resistente está también involucrado o a través del costo energético del fenotipo resistente que reduce la energía disponible para otros procesos fisiológicos⁴⁴. Estos efectos pleiotrópicos pueden tener consecuencias negativas, positivas o neutras respecto de la adaptación del individuo resistente al ambiente natural (i.e. sin insecticida)⁶. El primer caso se define como costo adaptativo de la resistencia (i.e. el insecto resistente tiene desventaja selectiva respecto del susceptible) es el más probable a ocurrir y explica la baja frecuencia de insectos resistentes en poblaciones naturales que solo aumentará en presencia del insecticida. Si la consecuencia es positiva, la modificación pleiotrópica conforma una adaptación y determina una alta frecuencia de los individuos de baja susceptibilidad en poblaciones naturales al ser seleccionados por el ambiente natural (i.e. poblaciones tolerantes)^{6,44,45}. Esta diferencia tiene gran impacto en las estrategias de manejo de la resistencia ya que, cuando el insecticida se deja de usar la frecuencia de insectos resistentes disminuirá, si tienen costos, mientras que no lo hará la de tolerantes⁶. Los efectos pleiotrópicos de la resistencia tienen una relevancia adicional en los insectos vectores de enfermedades ya que pueden afectar el desarrollo del parásito, la habilidad del vector de transmitir el parásito y otros procesos de relevancia epidemiológica⁴⁶.

Con este marco teórico, varios estudios compararon diferentes procesos biológicos entre *Triatoma infestans* susceptibles y resistentes a piretroides. Germano y Picollo⁴⁷ y Lobbia et al.^{48,49} mostraron que las hembras resistentes tuvieron menor eficiencia reproductiva y menor capacidad autogénica que las susceptibles. Los insectos resistentes también presentaron diferencias en la duración de algunos estadios, tardaron más tiempo en defecar desde el fin de la alimentación, y defecaron menos y en menor proporción^{45,47}. Además, Lobbia et al.⁵⁰ y Lobbia y Mougabure-Cueto⁵¹ mostraron que las hembras resistentes tuvieron menor capacidad de dispersión activa que las susceptibles. Estas modificaciones, interpretadas como efectos negativos, sugieren que la resistencia podría estar asociada a costos adaptativos y también que podría disminuir la competencia vectorial de los insectos. Sin embargo, esto podría no ser así para todas las modificaciones descritas. Por ejemplo, cuando la eficiencia reproductiva fue estudiada luego de la dispersión activa, los insectos resistentes ovipusieron en mayor proporción y mostraron mayor fecundidad que los insectos susceptibles y que los resistentes que no dispersaron, sugiriendo un efecto positivo de la resistencia en los insectos que dispersan y un efecto

positivo de la dispersión en los insectos resistentes⁴⁸. Además, las heces de insectos resistentes fueron más atractivas que las de insectos susceptibles sugiriendo también un beneficio para los resistentes⁵².

7. LA RESISTENCIA Y EL AMBIENTE

El insecticida es el principal determinante de la evolución de resistencia, sin embargo, este proceso puede estar modulado por otras variables ambientales. Por ejemplo, variables que afecten la efectividad del insecticida aplicado modificarán la intensidad de la selección. Esto puede ocurrir en las estructuras peridomésticas de las viviendas rurales de las zonas endémicas para Chagas. La complejidad en construcción y materiales de estas estructuras impiden una aplicación uniforme de los insecticidas, determinando una variación de dosis en el espacio, a la vez que los dejan expuestos a la degradación ambiental y el lavado por la lluvia, determinando una variación de dosis en el tiempo⁵³. Así, la dosis aplicada puede disminuir a una que mata menos del 100 % de los individuos expuestos. En este escenario, los individuos menos susceptibles de la población sobrevivirán y comenzará la evolución de resistencia^{6,55}. En este caso se espera una resistencia poligénica y de un nivel no muy elevado⁵⁴. En el intradomicilio, la dosis aplicada no varía en el espacio y dura más tiempo y solo seleccionará individuos que portan mutaciones extraordinarias que los ubican por fuera de la distribución de susceptibilidades de la población original, si es que estos individuos están presentes^{6,55}. En este caso, se espera una resistencia determinada por uno o pocos genes y de un nivel elevado⁵⁴.

Bustamante Gomez et al.⁵⁶ y Fronza et al.⁵⁵ estudiaron la posible asociación de variables ambientales con la distribución geográfica de *Triatoma infestans* resistentes a piretroides. Bustamante Gomez et al.⁵⁶ reportaron la asociación de la resistencia con una combinación de variables vinculadas a temperatura y precipitación localizada en la frontera entre Argentina y Bolivia. Fronza et al.⁵⁵ demostraron que tres indicadores de temperatura y precipitación son buenos descriptores de la resistencia en el foco de alta resistencia y alta heterogeneidad toxicológica del Chaco. Es posible que la temperatura, al modificar la toxicidad del piretroide, y la precipitación, al afectar la disponibilidad del insecticida, modulen la presión de selección ejercida por el insecticida. Llamativamente, las variables vinculadas al rociado no contribuyeron a explicar la heterogeneidad toxicológica, tal vez esto se debió a que la presión con insecticidas fue homogénea y de baja intensidad⁵⁵.

8. ALTERNATIVAS DE CONTROL

La evolución de resistencia a un insecticida con compromiso de control en campo requiere de un cambio

de herramienta y/o de estrategia. Si no hay cambio, la selección continua y el nivel de resistencia se incrementa. Las alternativas pueden ser otros insecticidas, otras formas de uso de insecticidas u otros métodos de control diferentes del uso de insecticidas como, por ejemplo, control biológico, control cultural, manejo integral comunitario, etc. Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de estudios que han explorado diferentes enemigos naturales, herramientas, métodos y estrategias de control en triatominos (p. ej. tratamiento de animales domésticos con insecticidas, el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*, trampas con atractantes y con agentes de control, etc.)^{6,7,57} hasta el momento no se han desarrollado e implementado a gran escala alternativas efectivas al rociado de las viviendas con insecticidas residuales. De esta manera, ante los elevados niveles de resistencia a piretroides en *Triatoma infestans* y la consecuente deficiencia en el control con estos insecticidas, la única alternativa para uso en campo ha sido y es, por ahora, la utilización de insecticidas de otros grupos químicos. Los organofosforados fenitrotión y malatión y el carbamato bendiocarb (inhibidores de la acetilcolinesterasa) fueron utilizados exitosamente para el control de los focos de alta resistencia de Salta y Chaco⁵⁸⁻⁶⁰. Sin embargo, el riesgo toxicológico de estos insecticidas llevo a su prohibición (malatión y bendiocarb) o a la no recomendación (fenitrotión) por los organismos regulatorios para su uso en salud pública. Así, actualmente en Argentina no hay productos insecticidas alternativos autorizados a los piretroides para el control de vectores de Chagas. Algunos estudios evaluaron en laboratorio la potencia tóxica de insecticidas de diferentes familias químicas sobre *T. infestans* susceptibles y resistentes y mostraron buena actividad letal para el fipronil (antagonista de canales de cloruro dependientes de GABA) y el imidacloprid (agonista del receptor nicotínico de acetilcolina). Por el contrario, indoxacarb, ivermectina, flubendiamida, amitraz y spinosad no mostraron efecto letal a las dosis utilizadas^{19,25,26}. A partir de estos antecedentes, y ante una consulta realizada por la Dirección Nacional de Epidemiología del Ministerio de Salud de la Nación, la RAReP elaboró en 2019 un informe sobre los posibles insecticidas a considerar para el control de *T. infestans* resistentes de Argentina. A partir de este informe, la RAReP junto con la Comisión Asesora Permanente sobre Plaguicidas de Uso Sanitario (CAPUS) recomendaron al Ministerio de Salud de la Nación promover la realización de ensayos de laboratorio y campo a fin de evaluar, y eventualmente registrar y autorizar, el uso de fipronil para el control de triatominos en Argentina. Recientemente, una subcomisión de la RAReP e integrantes del Programa Nacional de Chagas del Ministerio de Salud de la Nación elaboraron un protocolo para la evaluación en campo de la efectividad de un formulado de fipronil para el control de *T. infestans* susceptibles y resistentes a piretroides. Está planificado implementar este protocolo en los focos de alta resistencia de Salta y Chaco durante 2022 mediante una actividad conjunta entre integrantes de la RAReP, del PNCh y de los ministerios provinciales.

CONCLUSIONES

Luego de dos décadas de estudios sobre la resistencia a piretroides en *Triatoma infestans* de Argentina que abordaron la distribución geográfica, los mecanismos de resistencia, las modificaciones biológicas asociadas, la expresión durante la ontogenia, la herencia, la asociación con el ambiente, la estructura genética y las alternativas de control, podemos concluir, hasta ahora, que: a) la resistencia asociada a deficiencias en el control está circunscripta a dos áreas (norte de la provincia de Salta y noroeste de la provincia de Chaco), en el resto de la zona endémica monitoreada no hay hasta el momento resistencia que comprometa el control; b) los tres principales mecanismos de resistencia (i.e. penetración reducida, metabolismo incrementado y sitio de acción alterado) están involucrados; c) la resistencia está asociada a modificaciones en diversos procesos biológicos; d) la resistencia está asociada a variaciones ambientales; y e) hay escasez de alternativas de control.

Finalmente, siempre es imperioso recordar el impacto positivo sobre la problemática Chagas que implica el mejoramiento de la vivienda y el manejo del ambiente, incluido el de los animales domésticos. En el contexto del control de triatominos, la implementación integrada de estas acciones con el resto de herramientas disponibles, respetando la diversidad de prácticas culturales presentes en Argentina, mejorará los resultados de los programas de control y aportará a la reducción del impacto ambiental de los insecticidas. La radical transformación que supone estas acciones en la calidad de vida de las poblaciones afectadas determina que su impacto exceda ampliamente la problemática Chagas e impone que se constituyan, de una vez por todas, en una prioridad dentro de una política de salud pública.

BIBLIOGRAFÍA

- Beltramone A, Carbajal-de-la-Fuente A, Carrillo C, Ceccarelli S, Hernández R, Román-Miyasato M, Sanmartino M. Comunicación y Chagas Bases para un diálogo urgente. 1ª edición. La Plata: Hablemos de Chagas. 2021.
- Ceccarelli S, Balsalobre A, Cano M, Canale D, Lobbía P, Stariolo R, Rabinovich J, et al. Analysis of Chagas disease vectors occurrence data: the Argentinean triatomine species database. *Biodivers Data J.* 2020; 8:e58076.
- Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Am Mus Nat Hist.* 1979; 163:123–520.
- Schofield C, Jannin J, Salvatella R. The future of Chagas disease control. *Trends Parasitol.* 2006; 21:583–8.
- Salvatella R, Irabedra P, Castellanos L. Interruption of vector transmission by native vectors and the art of the possible. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2014; 109:122–30.
- Mougabure-Cueto G, Picollo M. Insecticide resistance in vector Chagas disease: evolution, mechanisms and management. *Acta Trop.* 2015; 149:70–85.
- Mougabure-Cueto G, Picollo M. Insecticide resistance in triatomines. En: Guarneri AA, Lorenzo MG (editores) *Triatominae - The Biology of Chagas Disease Vectors.* New York: Springer Nature. 2021.
- Pessoa G, Viñas P, Rosa A, Diotaiuti L. History of resistance of Triatominae vectors. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2015; 48:380–9.
- Mougabure-Cueto G, Sfara V. The analysis of dose-response curve from bioassays with quantal response: deterministic or statistical approaches? *Toxicol. Letters.* 2016; 248:46–51.
- Roush R, McKenzie J. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Annu Rev Entomol.* 1987; 32:361–80.
- Organización Mundial de la Salud. 7th report. En: WHO Technical Reports Series No. 125. World Health Organization Committee on Insecticides. 1957.
- Ffrench-Constant R, Roush R. Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assay. En: Roush R, Tabashnik B (editores). *Pesticide Resistance in Arthropods.* New York: Chapman and Hall. 1990. pp. 4–38.
- Onstad, D. *Insect Resistance Management.* Londres: Academic Press. 2008.
- Robertson J, Russell R, Preisler H, Savin N. *Bioassays with Arthropods,* 2nd Edn. Boca Raton: CRC Press. 2007.
- Organización Mundial de la Salud. Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre triatominos. *Acta Toxicol Argent.* 1994; 2:29–32.
- González-Audino P, Vassena C, Barrios S, Zerba E, Picollo M. Role of enhanced detoxication in a Deltamethrin resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) from Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99:335–9.
- Santo-Orihuela P, Vassena C, Zerba E, Picollo M. Relative contribution of monooxygenase and esterase to pyrethroid resistance in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. *J Med Entomol.* 2008; 45:298–306.
- Picollo M, Vassena C, Santo Orihuela P, Barrios S, Zaidemberg M, Zerba E. High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from northern Argentina. *J Med Entomol.* 2005; 42:637–42.
- Carvajal G, Mougabure-Cueto G, Toloza A. Toxicity of non-pyrethroid insecticides against *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012; 107:675–9.
- Fronza G, Toloza AC, Picollo M, Spillmann C, Mougabure-Cueto G. Geographical variation of deltamethrin susceptibility of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in Argentina with emphasis on a resistant focus in the Gran Chaco. *J Med Entomol.* 2016; 53:880–7.
- Nelson M. Experiencias en el monitoreo de niveles de susceptibilidad de los triatominos a los insecticidas en las Américas. *Acta Toxicol Argent.* 1994; 2:29–58.
- Lardeux F, Depickère S, Duchon S, Chavez T. Insecticide resistance of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) vector of Chagas disease in Bolivia. *Tropical Med Int Health.* 2010; 15:1037–48.
- Remón C, Zerba E, Lobbía P, Mougabure-Cueto G. A methodology based on insecticide impregnated filter paper for monitoring resistance to deltamethrin in *Triatoma infestans* field populations. *Med Vet Entomol.* 2017; 31:414–26.

24. Remón C, Fronza G, Maza Y, Sartor P, Weinberg D, Mougabure-Cueto G. Resistance to deltamethrin in *Triatoma infestans*: microgeographical distribution, validation of a rapid detection bioassay and evaluation of a fumigant canister as control alternative strategy. *B Entomol Res.* 2020; 110:645–53.
25. Germano M, Acevedo G, Mougabure-Cueto G, Toloza A, Vassena C, Picollo M. New findings of insecticide resistance in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from the Gran Chaco. *J Med Entomol.* 2010; 47:1077–81.
26. Toloza A, Germano M, Mougabure-Cueto G, Vassena C, Zerba E, Picollo M. Differential patterns of insecticide resistance in eggs and first instars of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. *J Med Entomol.* 2008; 45:421–6.
27. Germano M, Santo Orihuela P, Roca Acevedo G, Toloza A, Vassena C, Picollo MI, Mougabure-Cueto G. Scientific evidence of three different insecticide-resistant profiles in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) populations from Argentina and Bolivia. *J Med Entomol.* 2012; 49:1355–60.
28. Germano M, Picollo M, Mougabure-Cueto G. Microgeographical study of insecticide resistance in *Triatoma infestans* from Argentina. *Acta Trop.* 2013; 128:561–65.
29. Piccinalli R, Fronza G, Mougabure-Cueto G, Toloza A. Genetic structure of deltamethrin-resistant populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Gran Chaco. *Parasitol Res.* 2020; 119:3305–13.
30. Roca-Acevedo G, Picollo M, Santo-Orihuela P. Expression of insecticide resistance in immature life stages of *Triatoma infestans* (Hemiptera:Reduviidae). *J Med Entomol.* 2013; 50:816–8.
31. Germano M, Picollo M. Stage-dependent expression of deltamethrin toxicity and resistance in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina. *J Med Entomol.* 2018; 55:964–8.
32. Yu S. *The toxicology and biochemistry of insecticides*, 2nd Edn. Boca Raton: CRC Press. 2015.
33. Fronza G, Roca-Acevedo G, Mougabure-Cueto G, Sierra I, Capriotti N, Toloza A. Insecticide resistance mechanisms in *Triatoma infestans* (Reduviidae: Triatominae): the putative role of enhanced detoxification and knockdown resistance (kdr) allele in a resistant hotspot from the Argentine Chaco. *J Med Entomol.* 2020; 57:837–44.
34. Grosso C, Blariza M, Mougabure-Cueto G, Picollo M, García BA. Identification of three cytochrome P450 genes in the Chagas' disease vector *Triatoma infestans*: expression analysis in deltamethrin susceptible and resistant populations. *Infect Genet Evol.* 2016; 44:459–70.
35. Traverso L, Lavore A, Sierra I, Palacio V, Martínez-Barnette J, Latorre-Estivalis JM, Mougabure-Cueto G, et al. Comparative and functional triatomine genomics reveals reductions and expansions in insecticide resistance-related gene families. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017; 11:e0005313.
36. Dulbecco A, Moriconi D, Calderón-Fernández G, Lynn S, McCarthy A, Roca-Acevedo G, Salamanca-Moreno JA, et al. Integument CYP genes of the largest genome-wide cytochrome P450 expansions in triatomines participate in detoxification in deltamethrin-resistant *Triatoma infestans*. *Sci Rep.* 2018; 8:10177.
37. Fabro J, Sterkel M, Capriotti N, Mougabure-Cueto G, Germano M, Rivera-Pomar R, Ons S. Identification of a point mutation associated with pyrethroid resistance in the Para-type sodium channel of *Triatoma infestans*, a vector of Chagas disease. *Infect Genet Evol.* 2012; 12:487–91.
38. Capriotti N, Mougabure-Cueto G, Rivera-Pomar R, Ons S. L925I mutation in the Para-type sodium channel is associated with pyrethroid resistance in *Triatoma infestans* from the Gran Chaco region. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8:2659.
39. Roca-Acevedo G, Picollo M, Capriotti N, Sierra I, Santo-Orihuela P. Examining mechanisms of pyrethroid resistance in eggs of two populations of the Chagas' disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Med Entomol.* 2015; 52:987–92.
40. Sierra I, Capriotti N, Fronza G, Mougabure Cueto G, Ons S. Kdr mutations in *Triatoma infestans* from the Gran Chaco are distributed in two differentiated foci: implications for pyrethroid resistance management. *Acta Trop.* 2016; 158:208–13.
41. Pedrini N, Mijailovsky SJ, Girotti JR, Stariolo R, Cardozo RM, Gentile A, Juárez MP. Control of pyrethroid-resistant Chagas disease vectors with entomopathogenic fungi. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009; 3:e434.
42. Calderón-Fernández G, Moriconi D, Dulbecco A, Juárez M. Transcriptome Analysis of the *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) Integument. *J Med Entomol.* 2017; 54:1531–42.
43. Dulbecco A, Moriconi D, Pedrini N. Knockdown of CYP4PR1, a cytochrome P450 gene highly expressed in the integument tissue of *Triatoma infestans*, increases susceptibility to deltamethrin in pyrethroid-resistant insects. *Pestic Biochem Phys.* 2021; 173:104781.
44. Kliot A, Ghanim M. Fitness costs associated with insecticide resistance. *Pest Manag Sci.* 2012; 68:1431–7.
45. Lobbia P, Calcagno J, Mougabure-Cueto G. Excretion/defecation patterns in *Triatoma infestans* populations that are, respectively, susceptible and resistant to deltamethrin. *Med Ve Entomol.* 2018; 32:311–22.
46. Rivero A, Vézilier J, Weill M, Read A, Gandon S. Insecticide control of vector-borne diseases: when is insecticide resistance a problem? *PLoS Pathog.* 2010; 6:e1001000.
47. Germano M, Picollo M. Reproductive and developmental costs of deltamethrin resistance in the Chagas disease vector *Triatoma infestans*. *J Vector Ecol.* 2015; 40:1–7.
48. Lobbia P, Rodríguez C, Mougabure-Cueto G. Effect of nutritional state and dispersal on the reproductive efficiency in *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) susceptible and resistant to deltamethrin. *Acta Trop.* 2019; 191:228–38.
49. Lobbia P, Remón C, Mougabure-Cueto G. Autogenic capacity in *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera Reduviidae) susceptible and resistant to deltamethrin. *Parasitol Res.* 2021; 120:2263–8.
50. Lobbia P, Rodríguez C, Mougabure-Cueto G. Effect of reproductive state on active dispersal in *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) susceptible and resistant to deltamethrin. *Acta Trop.* 2019; 196:7–14.
51. Lobbia P, Mougabure-Cueto G. Active dispersal in *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae): Effects of nutritional status, the presence of a food source and the toxicological phenotype. *Acta Trop.* 2020; 204:105345.

52. May-Concha I, Remón C, Mougabure-Cueto G. Behavioral response mediated by feces in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae: triatominae) susceptible and resistant to deltamethrin. *Acta Trop.* 2020; 206:105442.
53. Cecere M, Vazquez-Prokopec G, Gürtler R, Kitron U. Spatio-temporal analysis of reinfestation by *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) following insecticide spraying in a rural community in northwestern Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 2004; 71:803–10.
54. McKenzie J. Ecological and evolutionary aspects of insecticide resistance. California: Academic Press. 1996.
55. Fronza G, Toloza A, Picollo M, Carbajo A, Rodríguez S, Mougabure-Cueto G. Modelling the association between deltamethrin resistance in *Triatoma infestans* populations of the Argentinian Gran Chaco region with environmental factors. *Acta Trop.* 2019; 194:53–61.
56. Bustamante Gomez M, Gonçalves Diotaiuti L, Gorla D. Distribution of pyrethroid resistant populations of *Triatoma infestans* in the southern cone of South America. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10:1–15.
57. Marti G. Enemigos naturales de Triatominos de la Argentina, expectativas para un control integrado Pp. 65–72. En: Storino R. (Ed.) Chagas en el Siglo XXI. De la enfermedad a la problemática social. Buenos Aires: Editorial Akadia. 2009.
58. Zaidemberg M. Evolución de la infestación en un área de triatominos resistentes a piretroides, Salvador Mazza, Salta, Argentina. *Rev Arg Zoonosis Enf Inf Emerg.* 2012; VII:3–13.
59. Gurevitz J, Gaspé M, Enríquez G, Vassena C, Alvarado-Otegui J, Provecho YM, Mougabure-Cueto G. Unexpected failures to control Chagas disease vector with pyrethroid spraying in northern Argentina. *J Med Entomol.* 2012; 49:1379–86.
60. Germano M, Picollo M, Spillmann C, Mougabure-Cueto G. Fenitrothion: an alternative insecticide for the control of deltamethrin-resistant populations of *Triatoma infestans* in northern Argentina. *Med Vet Entomol.* 2014; 28:21–5.