

## Potes fumígenos, ovitrampas y otras herramientas con bajo impacto ambiental para controlar vinchucas y mosquitos

### Potes de fumo, ovitraps e outras ferramentas com baixo impacto ambiental para controle de barbeiros e mosquitos

#### Smoke Bombs, Ovitrap and Other Low Environmental Impact Tools for Controlling Kissing Bugs and Mosquitoes

Mercedes MN Reynoso<sup>1</sup>, Raúl A Alzogaray<sup>1,2</sup>, Laura V Harburguer<sup>1</sup>, Paula V Gonzalez<sup>1</sup>, Alejandro Lucia<sup>3</sup>, Héctor M Masuh<sup>1</sup>, Gonzalo Roca Acevedo<sup>1</sup>, Pablo L Santo Orihuela<sup>1,4</sup>, Ariel C Toloza<sup>1</sup>, Claudia V Vassena<sup>1,2</sup>, Eduardo N Zerba<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (UNIDEF-CITEDEF-CONICET-CIPEIN), Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), San Martín, Argentina.

<sup>3</sup> Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES-CONICET- UNLu), Luján, Argentina.

<sup>4</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

**Cita:** Reynoso MMN, Alzogaray RA, Harburguer LV, Gonzalez PV, Lucia A, Masuh HM, et al. Potes fumígenos, ovitrampas y otras herramientas con bajo impacto ambiental para controlar vinchucas y mosquitos. Rev. Salud ambient. 2022; 22(1):61-70.

**Recibido:** 31 de julio de 2021. **Aceptado:** 25 de febrero de 2022. **Publicado:** 15 de junio de 2022.

**Autor para correspondencia:** Mercedes María Noel Reynoso

Correo e: get\_juy87@hotmail.comz

Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (UNIDEF-CITEDEF-CONICET-CIPEIN), (1603) Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina.

**Financiación:** Las investigaciones del CIPEIN mencionadas en este artículo fueron financiadas por la Organización Mundial de la Salud, y los siguientes organismos y empresas de Argentina: CONICET, ANPCyT y Chemotecnica SA.

**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

La chinche *Triatoma infestans* (conocida en Argentina como "vinchuca") y cuatro especies de mosquitos (*Aedes aegypti*, *Culex pipiens quinquefasciatus*, *Anopheles pseudopunctipennis* y *An. darlingi*) son los principales insectos vectores de enfermedades en el territorio argentino. Desde 1977, el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas de Argentina (CIPEIN) investiga a estos insectos y desarrolla productos para controlarlos con un bajo impacto para la salud humana y el ambiente. Reconocido como Centro de Referencia por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud, el CIPEIN fue pionero en el desarrollo de productos insecticidas en América Latina. El objetivo de este artículo es reseñar la situación de la problemática sanitaria que involucra a vinchucas y mosquitos en Argentina, y describir los principales aportes del CIPEIN en su estudio y control.

**Palabras claves:** insectos vectores de enfermedades; control químico; resistencia a insecticidas; vinchucas; enfermedad de Chagas; mosquitos; dengue.

#### Resumo

O hematófago *Triatoma infestans* (conhecido na Argentina como "vinchuca") e quatro espécies de mosquitos (*Aedes aegypti*, *Culex pipiens quinquefasciatus*, *Anopheles pseudopunctipennis* e *An. darlingi*) são os principais insetos vetores de doenças no território argentino. Desde 1977, o Centro Argentino de Investigação de Pragas e Inseticidas (CIPEIN) investiga esses insetos e desenvolve produtos para controlá-los com baixo impacto na saúde humana e no meio ambiente. Reconhecido como Centro de Referência pela Organização Pan-Americana da Saúde e pela Organização Mundial da Saúde, o CIPEIN foi pioneiro no desenvolvimento de

productos insecticidas en América Latina. O objetivo deste artigo é fazer uma revisão da situação do problema de saúde envolvendo barbeiros e mosquitos na Argentina e descrever as principais contribuições da CIPEIN no seu estudo e controle.

**Palavras-chave:** insetos vetores de doenças; controle químico; resistência a inseticidas; barbeiros; doença de Chagas; mosquitos; dengue.

### Abstract

The *Triatoma infestans* bedbug (known in Argentina as “vinchuca”) and four species of mosquitoes (*Aedes aegypti*, *Culex pipiens quinquefasciatus*, *Anopheles pseudopunctipennis* and *An. darlingi*) are the main insect vectors of disease in Argentina. Since 1977, the Argentine Pest and Insecticide Research Center (CIPEIN) has been doing research on these insects and developing products for their control that have a low impact on human health and the environment. Recognized as a Reference Center by the Pan American Health Organization and the World Health Organization, CIPEIN was a pioneer in the development of insecticide products in Latin America. The aim of this article is to review the status of the health issues involving kissing bugs and mosquitoes in Argentina and to describe the main contributions of CIPEIN to their study and control.

**Keywords:** insect vector of disease; chemical control; insecticide resistance; vinchuca; kissing bug; bedbug; Chagas disease; mosquito; dengue.

## INTRODUCCIÓN

Los insectos que transmiten enfermedades infecciosas a otros animales se llaman vectores. En Argentina, los principales vectores son la chinche *Triatoma infestans* (comúnmente llamada vinchuca) y los mosquitos *Aedes aegypti*, *Culex pipiens quinquefasciatus*, *Anopheles pseudopunctipennis* y *An. darlingi*. La aplicación de insecticidas para controlar a estos vectores comenzó a mediados del siglo XX, una historia en la que se alternan éxitos y fracasos, debidos en gran medida a su fuerte dependencia de factores políticos, económicos y sociales.

En 1977, en la ciudad de Villa Martelli (provincia de Buenos Aires, Argentina), se creó el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN). Sus primeros integrantes fueron Susana Licastro, María Picollo, Edgardo Wood y Eduardo Zerba, a quienes pronto se unió Susana Segovia. Desde entonces, el CIPEIN estudia la biología y la toxicología de insectos de importancia sanitaria. Sus objetivos están orientados al desarrollo de herramientas para controlar a los insectos vectores con un mínimo impacto sobre las personas y el ambiente. Entre los laboratorios de investigación latinoamericanos, el CIPEIN fue pionero en el desarrollo y patentamiento de productos insecticidas que alcanzaron la comercialización. Uno de sus mayores logros fue un pote fumígeno que emite humos insecticidas. Usado por el Ministerio de Salud de Argentina en viviendas rurales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) manifestó que el pote fumígeno fue uno de los tres factores que más contribuyeron a mejorar la salud mundial en la década de 1990<sup>1</sup>. A fines del siglo pasado, el CIPEIN reportó el primer caso de resistencia a insecticidas en *T. infestans*<sup>2</sup>.

Años más tarde, detectó, por primera vez en Argentina, resistencia en larvas y adultos de *Ae. aegypti*<sup>3,4</sup>.

El objetivo de este artículo es describir los principales aportes del CIPEIN en el desarrollo de herramientas para controlar insectos vectores con mínimo impacto sobre el ambiente y la salud humana.

### 1. TRITOMA INFESTANS, VECTOR DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

La enfermedad de Chagas es producida por *Trypanosoma cruzi*, un parásito microscópico transmitido por la chinche *T. infestans*<sup>5</sup>. Este insecto habita las viviendas rurales o sus cercanías, y se alimenta de la sangre de humanos y otros animales. Suele alimentarse por las noches, y mientras lo hace, deposita sus heces sobre la piel de las personas dormidas. Si el insecto se alimentó previamente de una persona enferma de Chagas, sus heces contienen el parásito. Una vez depositado sobre la piel, *T. cruzi* ingresa al organismo por heridas, mucosas y abrasiones que se provoca la propia persona al rascarse la picadura. Luego, a través del torrente sanguíneo, alcanza distintos órganos e ingresa en sus tejidos. El 30 % de las personas con Chagas presenta alteraciones cardíacas o trastornos en el aparato digestivo, el resto no desarrolla la enfermedad.

En América Latina, unos seis millones de personas están infectadas con *T. cruzi*. Anualmente se registran treinta mil nuevos casos transmitidos por insectos y otros nueve mil en recién nacidos infectados durante la gestación<sup>6</sup>. En promedio, la enfermedad provoca unas doce mil muertes. En Argentina, la transmisión del Chagas se interrumpió en varias provincias, pero sigue

ocurriendo en otras. Se estima que dos millones de habitantes están infectados<sup>5</sup>.

Inseparable de la pobreza, la enfermedad de Chagas está incluida en la lista de Enfermedades Tropicales Desatendidas de la Organización Mundial de la Salud<sup>7</sup>. No existe vacuna para prevenirla, y su tratamiento se basa en medicamentos que pueden generar graves efectos secundarios. Por estas razones, las actividades para interrumpir la transmisión del Chagas están dirigidas al control con insecticidas de *T. infestans*<sup>8</sup>.

## 2. HERRAMIENTAS PARA CONTROLAR A *TRITOMA INFESTANS*

En América Latina, el uso de insecticidas para controlar insectos vectores del Chagas comenzó en la década de 1950<sup>8</sup>. Primero se usaron sustancias del grupo de los organoclorados, luego prohibidos por su alto impacto ambiental. Los reemplazaron insecticidas de las familias de los organofosforados y los carbamatos, muchos de los cuales constituían un alto riesgo para la salud humana. A comienzos de los años 80, todos fueron sustituidos por los piretroides, cuyo impacto sobre el ambiente y la salud humana es menor que el de los insecticidas que los precedieron.

En Argentina, la historia de los piretroides comenzó en 1978, cuando la empresa francesa Russell Uclaf le solicitó al CIPEIN la evaluación en *T. infestans* de un producto en base al piretroide deltametrina. La empresa incluyó los resultados en un documento que recopilaba su efectividad sobre distintos insectos plagas<sup>9</sup>. A comienzos de la década de los 80, el control de los vectores de Chagas en Argentina y otros países sudamericanos se basó casi exclusivamente en la aplicación de un pequeño grupo de insecticidas de esta familia: deltametrina, lambda-cihalotrina, beta-ciflutrina y alfametrina.

Mientras, el CIPEIN continuó explorando los efectos letales y subletales de diversos piretroides sobre las vinchucas<sup>10-14</sup>. A comienzos de los 90, estudió la beta-cipermetrina, un piretroide de origen húngaro. Mediante un convenio de transferencia de tecnología, el CIPEIN desarrolló para una empresa argentina una formulación de micropartículas de beta-cipermetrina suspendidas en agua<sup>15</sup>. El producto fue registrado en Argentina para uso sanitario y el Estado lo adoptó para el control de *T. infestans* en las campañas gubernamentales. Alcanzar esta circunstancia no fue fácil, porque el Estado se mostraba reacio a aceptar un producto desarrollado por científicos y tecnólogos argentinos, y fabricado por una empresa nacional. Finalmente, a partir de 1995, el producto fue incluido en las licitaciones del Ministerio de Salud de Argentina. Esta incorporación de un desarrollo nacional produjo una disrupción de la hegemonía de los insecticidas de origen europeo en las compras del Ministerio de Salud. Hasta ese momento, a las licitaciones

públicas para adquirir insecticidas solo se presentaban empresas extranjeras. La aparición de un producto local ocasionó una disminución del 31 % en el precio de los piretroides para el control de vectores de Chagas<sup>16</sup>.

El piretroide permetrina es una mezcla de dos variantes químicas: *cis*-permetrina y *trans*-permetrina. Esta mezcla no se usaba en Chagas debido a su bajo efecto insecticida. Estudios realizados en el CIPEIN revelaron que cuando la *cis*-permetrina se aplica sola en vinchucas, es mucho más tóxica que cuando se aplica mezclada con la variante *trans*-permetrina<sup>12-17</sup>. Este hallazgo inesperado llevó al desarrollo de una formulación experimental de *cis*-permetrina que, a pesar de su buena eficacia en *T. infestans*, por razones tecnológicas no se llegó a comercializar<sup>18</sup>. No obstante, por un convenio con la empresa argentina antes mencionada, se desarrolló una nueva formulación para controlar al mosquito *Ae. aegypti*<sup>19</sup>. En la actualidad, este producto se usa en las campañas gubernamentales para el control del vector del dengue en Argentina y otros países de la región.

## 3. UN POTE QUE LIBERA HUMOS INSECTICIDAS

Durante las horas diurnas, dentro de las viviendas rurales, las vinchucas permanecen en los refugios que les proporcionan las grietas de las paredes de adobe, y las ramas y troncos usados para construir los techos. Históricamente, el control se basaba en el rociado de techos y paredes, actividad realizada por personal entrenado. Para que los tratamientos fueran efectivos, los habitantes debían sacar de las viviendas los muebles, cuadros y todo otro objeto que obstaculizara el rociado de las paredes. Además de la molestia que eso implicaba, siempre existía el riesgo de que entre los objetos desalojados hubiera vinchucas que escapaban al tratamiento.

Para sortear estos inconvenientes, el CIPEIN desarrolló un pote fumígeno que libera humos insecticidas por combustión sin llama (figura 1)<sup>20</sup>. Este producto surgió de investigaciones sobre la estabilidad térmica de piretroides y la posibilidad de incluirlos en mezclas fumígenas sin que sufran una descomposición significativa<sup>21</sup>. La aplicación del pote es simple: hay que colocarlo en el piso de la vivienda y encender una mecha que inicia una ignición sin llama. El humo insecticida llega fácilmente a todos los potenciales refugios de las vinchucas sin necesidad de sacar los muebles y otras pertenencias. El pote tiene otras dos ventajas: resulta más económico que rociar las paredes y para aplicarlo no se requiere la participación de un técnico rociador capacitado.

El Ministerio de Salud de Argentina incorporó el pote fumígeno en sus campañas de control de vectores y lo usa desde entonces<sup>20</sup>. Según un análisis de la Universidad de Harvard solicitado por la OMS, su uso probablemente

Figura 1. Pote fumígeno que arde sin llama y emite humo insecticida, desarrollado en el CIPEIN para controlar vinchucas. Fotografía: RAA



contribuyó a la reducción de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en Argentina desde 1991<sup>22</sup>. Todos estos trabajos del CIPEIN responden a uno de sus objetivos fundamentales: la investigación de los insectos que transmiten enfermedades no debe apuntar solo a conocer y entender el problema sanitario, sino también a generar transferencias de tecnología para resolverlos.

#### 4. LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS

Desde un punto de vista toxicológico, la resistencia a insecticidas es *“el desarrollo, en una población de insectos, de la capacidad de tolerar dosis de un insecticida letales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie”*<sup>23</sup>. La resistencia a insecticidas tiene un origen genético, y surge a partir de mutaciones que se heredan a través de las generaciones. Las mutaciones que confieren resistencia aparecen al azar, y su existencia determina que en una determinada población convivan individuos susceptibles y resistentes. En este contexto, la aplicación de un insecticida es una fuerza selectiva que elimina a los individuos susceptibles, mientras

los resistentes sobreviven. Si sobre esa población se sigue aplicando el mismo insecticida durante varias generaciones, cada vez habrá menos individuos susceptibles y más resistentes. Llegará un momento en que el insecticida dejará de cumplir su objetivo de controlar a la población.

Los insectos tienen enzimas que metabolizan a los insecticidas y los convierten en sustancias muy poco tóxicas. Por otra parte, cada insecticida tiene un sitio de acción, es decir, una molécula a la que se une y, como consecuencia de la unión, se desencadena el efecto tóxico<sup>24</sup>. Los principales mecanismos que confieren resistencia son (a) un aumento en la actividad de enzimas que metabolizan los insecticidas, (b) cambios en los sitios de acción. En el primer caso, el insecticida que ingresa al insecto resistente es metabolizado con más eficiencia que el que ingresa a uno susceptible. En el segundo caso, la unión del insecticida a su sitio de acción es más débil en los insectos resistentes que en los susceptibles. En ambas situaciones, se necesita más insecticida para producir en los individuos resistentes el mismo efecto que en los susceptibles. Por eso, cuando una población plaga se vuelve resistente a un insecticida, el control falla y hay que cambiar de producto.

#### 5. BIOENSAYOS PARA CUANTIFICAR LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS

La realización de bioensayos de laboratorio es uno de los primeros pasos en el estudio de la resistencia a insecticidas. Su objetivo es cuantificar la toxicidad de un determinado insecticida en dos grupos de insectos: uno formado por individuos criados en laboratorio (colonia susceptible de referencia) y otro, por individuos provenientes de una población natural. La comparación de los resultados revela si los insectos recolectados en el campo son resistentes.

Los bioensayos permiten calcular parámetros toxicológicos. Por ejemplo, la Dosis Letal para el 50 % (DL50), que es la dosis del insecticida que resulta letal para el 50 % de los insectos que la reciben. Luego se calcula el Grado de Resistencia ( $GR = DL50$  de los insectos de campo /  $DL50$  de los insectos de laboratorio). Si los insectos de campo son resistentes, el GR será mayor que 1. Cuanto mayor es el valor de GR, mayor es la resistencia.

En la década de 1990, la Organización Mundial de la Salud encargó al CIPEIN la organización de una reunión de expertos para elaborar un protocolo de evaluación de susceptibilidad y resistencia a insecticidas en poblaciones naturales de *T. infestans* y *Rhodnius prolixus* (este último es el principal vector de Chagas en Colombia y Venezuela)<sup>25</sup>. Poco después, el CIPEIN reportó los primeros casos de resistencia a deltametrina y otros piretroides en *R. prolixus* provenientes del departamento

de Carabobo (Venezuela) y en *T. infestans* de Rio Grande do Sul (Brasil)<sup>2</sup>. Según el insecticida y la especie, los valores de GR variaron entre 3,0 y 12,4.

## 6. RESISTENCIA EN BOLIVIA Y ARGENTINA

Poco después, el CIPEIN reportó casos más preocupantes en la provincia argentina de Salta<sup>26</sup>. El mayor valor de GR (133,1) correspondió a la localidad de Salvador Mazza. Al poco tiempo, se demostró resistencia a piretroides en insectos de Yacuiba, localidad boliviana próxima a la frontera con Argentina<sup>27,28</sup>. Esta vez, los focos de resistencia estaban asociados a problemas de control. Los piretroides, la familia de insecticidas más usada para controlar vectores de Chagas, empezaban a fallar.

A partir de estos descubrimientos, el estudio de la resistencia a insecticidas en vectores de Chagas se intensificó<sup>29-32</sup>. En Bolivia, se encontró resistencia a piretroides en los departamentos de Tarija, Cochabamba, Chuquisaca y La Paz; y en Perú, en el departamento de Arequipa. Luego se detectaron vinchucas resistentes en la provincia argentina del Chaco, con focos toxicológicamente heterogéneos (baja y alta resistencia).

Después de caracterizar toxicológicamente la resistencia en vinchucas, se procedió a investigar sus causas. Las vinchucas de Argentina y Salta eran resistentes porque tenían altos niveles de oxidasas microsomas de función mixta, una familia de enzimas que metabolizan los piretroides. También se encontró altos niveles de otro grupo de enzimas, las esterasas, pero solo en las vinchucas argentinas<sup>26,28,32-35</sup>. Más tarde, se identificaron mutaciones que modifican los canales de sodio dependientes de voltaje, el sitio de acción de los piretroides<sup>36,37</sup>. Una de estas mutaciones (L1014F) se encontró en vinchucas recolectadas en la frontera argentino-boliviana. Otra mutación (L925I) parece propia de la región del Chaco<sup>31,38,39</sup>.

Luego de tres décadas de estudios multidisciplinarios, la resistencia a insecticidas en *T. infestans* es un problema complejo: evolucionó en diferentes áreas y presenta perfiles toxicológicos y mecanismos de resistencia que varían según la región.

## 7. MOSQUITOS VECTORES EN ARGENTINA

El mosquito *Ae. aegypti*, originario del continente africano, es vector de dengue, zika, chikungunya y fiebre amarilla. Su hábitat es urbano, y deposita sus huevos en recipientes artificiales. La falta de red de agua potable y el considerable aumento de materiales plásticos dieron lugar a la aparición de un gran número de pequeños recipientes que sirven como sitios de cría. Uno de los mayores obstáculos para su control es la capacidad de los huevos para resistir la sequía.

En Argentina, los más recientes brotes de dengue ocurrieron a partir de 1997, con dos grandes epidemias en 2009 y 2016. En la temporada 2019/2020, la enfermedad abarcó un mayor territorio que en años anteriores y produjo más de 90 000 casos<sup>40</sup>. El primer caso de brote de chikungunya, con casos en las provincias de Salta y Jujuy, ocurrió en 2016. Ese mismo año, se reportó el primer caso de transmisión local de zika a través de relaciones sexuales; poco después, hubo un brote de transmisión por *Aedes* en la provincia de Tucumán. Desde 1966, no se registran casos de fiebre amarilla.

*Cx. pipiens quinquefasciatus* es un mosquito cosmopolita, vector de diversas encefalitis. Sus larvas habitan ámbitos acuáticos: lagos con vegetación, márgenes de ríos, estanques naturales y agrícolas, y tanques sépticos. El virus de la encefalitis de San Luis, transmitido por este vector, resurgió en la región central de Argentina en 2002<sup>41</sup>. Desde entonces, se notificaron brotes en Córdoba (2005), Entre Ríos (2006), Buenos Aires (2010) y San Juan (2011).

Los mosquitos *An. pseudopunctipennis*, en la región del noroeste, y *An. darlingi*, en el noreste, son los principales vectores de la malaria en Argentina. Los criaderos de *An. pseudopunctipennis* se encuentran en ríos de poca profundidad, de escaso caudal y agua oxigenada, con exposición parcial al sol y en asociación con algas verdes<sup>42</sup>. Los hábitats larvales de *An. darlingi* son muy diversos, e incluyen lagunas, lagos y otros cuerpos de agua sombreados y con vegetación sumergida. Los primeros registros de malaria en territorio argentino ocurrieron a fines del siglo XIX. En mayo del 2019, la OMS certificó que Argentina es un país libre de la transmisión de esta enfermedad.

## 8. HERRAMIENTAS PARA CONTROLAR MOSQUITOS

El manejo de poblaciones de mosquitos representa una estrategia compleja, pues se requiere enfrentar varias dificultades en forma simultánea: aplicación en áreas urbanas o zonas de difícil acceso, impacto sobre organismos que no son plagas y sobre el medio ambiente, factores ambientales, sociales y de recursos materiales disponibles. El CIPEIN incursionó en cada uno de estos campos desde la aparición del primer brote de dengue en Argentina (noviembre de 1997).

Para soslayar el uso de insecticidas neurotóxicos, se puede recurrir al uso de reguladores del crecimiento de los insectos. Estas sustancias afectan procesos fisiológicos que están presentes en los insectos, pero no en los mamíferos, lo que determina que sean muy tóxicos para los primeros y muy poco tóxicos para los segundos.

En este contexto, el CIPEIN desarrolló ovitrampas de polietileno mezclado con el regulador del crecimiento

Figura 2. Herramientas para controlar mosquitos desarrolladas en el CIPEIN. A: Ovitrapa insecticida fabricada con polietileno y piriproxifén, un regulador del crecimiento de los insectos; B: Pastilla fumígena que emite humo insecticida, para usar en el interior de viviendas. El material blanco contiene sustancias ignífugas y el ingrediente activo; el material negro es el sistema de iniciación de la ignición: al acercarle un fósforo, la pastilla comienza a arder sin llama; C: La pastilla fumígena en acción



Fotografías: LVH.

piriproxifén, insecticida que impide el crecimiento de los insectos y les provoca la muerte<sup>43</sup>. Las ovitrampas son pequeños recipientes con agua que se colocan en lugares estratégicos para que las hembras de *Ae. aegypti* depositen en ellos sus huevos (figura 2A). El piriproxifén contenido en las paredes del recipiente se libera lentamente en el agua y afecta a las larvas que ya abandonaron los huevos. El agregado de sustancias que atraen a las hembras de mosquitos podría mejorar la eficacia de las ovitrampas. El CIPEIN identificó el n-heneicosano y otros olores que atraen hembras a punto de depositar sus huevos<sup>44</sup>. Las ovitrampas insecticidas representan una importante ventaja en comparación con los tratamientos convencionales para controlar mosquitos, porque permiten disminuir el uso de productos más peligrosos para los humanos y el ambiente. Además, sirven para detectar la presencia de mosquitos, información imprescindible para decidir si hay que tomar otras medidas de control.

La aplicación simultánea de un larvicida y un adulticida es una estrategia pensada para aumentar el efecto sobre una población de mosquitos. Tras comprobar en laboratorio la eficacia de mezclas formadas por un insecticida piretroide y distintos reguladores del crecimiento de los insectos, se desarrolló una formulación en base a permetrina y piriproxifén<sup>45,46</sup>. Este producto se usa en las campañas nacionales de control de mosquitos en áreas urbanas argentinas. Para complementar las aplicaciones en espacios abiertos, se diseñó una pastilla que emite humos insecticidas y se puede usar dentro de las viviendas<sup>47</sup> (figura 2B-C). Otros aportes del CIPEIN en esta área, se relacionan con la calibración de los equipos para aplicar las formulaciones desarrolladas en laboratorio, y con la evaluación del impacto de estos productos sobre los aplicadores y la comunidad<sup>48-50</sup>.

## 9. MOSQUITOS RESISTENTES A INSECTICIDAS

El control de mosquitos vectores es la opción más utilizada para evitar epidemias. La prevención está centrada en el manejo del medio, la educación ambiental y el control del vector. Esto último se puede conseguir mediante la reducción de los posibles criaderos y a través de la aplicación de larvicidas. El control de adultos es recomendado solo en casos de brotes o epidemias<sup>51</sup>. Debido a las ventajas que poseen en comparación con otros insecticidas, los productos habitualmente elegidos para controlar mosquitos contienen piretroides, aunque a veces se usan otros como el organofosforado temefós.

Para alcanzar los objetivos de control, la aplicación de insecticidas requiere de personal idóneo y herramientas adecuadas; aun así, presenta debilidades que limitan su éxito. Una de ellas es el surgimiento de resistencia a insecticidas. Entre 2004 y 2009, el CIPEIN estudió la variación temporal de la susceptibilidad de las larvas de *Ae. aegypti* al temefós en algunas ciudades del noreste y noroeste de Argentina. Se obtuvieron valores de GR cercanos a 3, una resistencia muy incipiente que, por otro lado, no estaba asociada a fallas de control<sup>3,52</sup>.

El CIPEIN reportó el primer caso de resistencia a piretroides en adultos de *Ae. aegypti* de Salvador Mazza, provincia de Salta, asociado a fallas de control en campo<sup>4</sup>. Con la metodología de papeles impregnados de la OMS, se obtuvo un valor de GR de 10,3 para *cis*-permetrina, considerado una resistencia alta. Los mosquitos también eran resistentes a la deltametrina, pero susceptibles al organofosforado malatión. La resistencia a la deltametrina era preocupante, porque este piretroide nunca se usó para controlar *Ae. aegypti* en Argentina.

En la ciudad boliviana de Yacuiba, la resistencia a la deltametrina fue detectada antes que en Argentina<sup>53</sup>. Dado que entre esa ciudad y Salvador Mazza hay un constante e intenso movimiento de vehículos y mercancías, no se puede descartar que la introducción de genes de la población boliviana de *Ae. aegypti* en Argentina podría haber ocurrido por esa vía. En Argentina coexisten distintos linajes de *Aedes*, y al menos uno de ellos comparte características genéticas con las poblaciones de Salta y Bolivia<sup>54</sup>. Esto apoya la hipótesis del ingreso de mosquitos provenientes de países limítrofes y podría explicar parcialmente la repentina aparición de resistencia a la *cis*-permetrina en Argentina.

Finalmente, en Argentina no se dispone de estudios sobre el estado de la resistencia a insecticidas en *Cx. pipiens quinquefasciatus* ni en mosquitos del género *Anopheles*.

## 10. EN BUSCA DE LO ESENCIAL

Los aceites esenciales (AEs) son mezclas complejas de sustancias sintetizadas por las plantas aromáticas (orégano, tomillo, lavanda, laurel, entre muchas otras). Se usan en perfumería y como aditivos alimentarios. Sus principales componentes pertenecen a la familia química de los monoterpenos, y muchos de ellos suelen presentar actividad insecticida<sup>55,56</sup>.

Por otra parte, algunos monoterpenos, aplicados en dosis que no son letales, sinergizan la toxicidad de insecticidas sintéticos. Esto significa que cuando un insecticida sintético se aplica al mismo tiempo que un monoterpeno, su toxicidad es mayor que cuando se aplica solo. Por ejemplo, en vinchucas, una mezcla del insecticida azametifós con el monoterpeno mentol es unas 15 000 veces más tóxica que el azametifós solo<sup>57</sup>. En un curioso caso de sinergismo que involucra el comportamiento, vinchucas excitadas por la aplicación de eugenol y depositadas sobre una superficie insecticida, caminaron más tiempo, y en consecuencia se intoxicaron más rápido, que las vinchucas que no habían recibido eugenol<sup>58</sup>.

Las propiedades insecticidas de los AE y sus componentes han sido estudiadas durante décadas. Sin embargo, la información científica generada en laboratorio normalmente carece de utilidad para su uso práctico. Esto se debe principalmente a que los solventes orgánicos usados en los bioensayos para disolver los AEs favorecen su ingreso al cuerpo de los insectos. En las aplicaciones a campo, en cambio, las formulaciones se basan en agua, sustancia que no favorece el ingreso de los insecticidas al organismo de los insectos. El uso de emulsiones y microemulsiones de aceite en agua se reveló como un área de gran interés para el desarrollo de productos insecticidas<sup>59</sup>. Estos sistemas vuelven accesibles el uso de compuestos con gran actividad biológica que no actúan en forma óptima cuando son incorporados en otros tipos de formulaciones.

Mediante colaboraciones con el Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES-CONICET-UNLu), el CIPEIN evalúa la bioactividad de diferentes formulaciones que contienen aceites esenciales como ingredientes activos o coadyuvantes. Por ejemplo, nanoemulsiones acuosas que contienen componentes de AEs para el control de larvas de *Ae. aegypti*<sup>60,61</sup>, y que también permiten disolver y dispersar otros insecticidas sintéticos<sup>62</sup>. Una microemulsión libre de surfactantes formada por agua, etanol y el monoterpeno vegetal eugenol se usó como plataforma para solubilizar el insecticida imidacloprid, mostrando efectividad sobre chinches de cama<sup>63,64</sup>.

De esta manera, se pretende obtener formulaciones basadas en el potencial sinergismo entre moléculas de origen natural y sintéticas. Esto permitiría disminuir el uso de insecticidas y su impacto sobre el ambiente. Los resultados de estos trabajos abren nuevas perspectivas para el diseño de formulaciones con adecuada actividad insecticida sobre insectos plagas, y menor toxicidad e impacto ambiental, debido principalmente a su alto contenido de agua, que reemplaza el uso de solventes orgánicos.

## CONCLUSIONES

A lo largo de la historia, las enfermedades transmitidas por insectos tuvieron un profundo impacto negativo en la demografía, la economía y la política de las regiones afectadas. En el último siglo y medio, algunas de ellas dejaron de constituir un serio problema sanitario, pero otras lo siguen siendo en muchos países. En Argentina, el Chagas y el dengue son dos problemas que no terminan de ser resueltos.

Durante más de cuatro décadas, el CIPEIN inauguró numerosas líneas de investigación pioneras en América Latina, sin apartarse del principio que lo guió desde su creación: “... llevar a cabo una actividad científica que le sirva al país y le devuelva, a quienes contribuyen a sustentarla, algún aporte que les mejore la calidad de vida. Nuestro Centro ha sido muchas veces relegado y ninguneado por sostener que América Latina debe buscar soluciones propias para el control de sus insectos vectores. Otro pensamiento “políticamente incorrecto” para las megaempresas multinacionales que imponen desde afuera productos para el control de insectos vectores, con el apoyo de organismos internacionales. Pero el esfuerzo latinoamericanista no ha sido en vano. Argentina es el único país de América Latina donde algunas de las herramientas que se utilizan en sus campañas gubernamentales de control de insectos vectores de enfermedades han sido desarrolladas localmente. Todas ellas producto de un antiguo convenio de investigación y desarrollo entre el CIPEIN y una empresa argentina”.

El CIPEIN también tuvo una participación protagónica en la investigación y desarrollo de herramientas para controlar otras plagas: piojos de la cabeza humana, chinches de cama, cucarachas alemanas y taladrillo de la madera, entre otras. Pero esos trabajos serán contados en otro momento, porque este artículo finaliza aquí.

## AGRADECIMIENTOS

Eduardo N. Zerba es profesor de la UNSAM, Mercedes M.N. Reynoso es becaria del CONICET. Los demás autores son miembros de la Carrera del Investigador Científico del CONICET. El CIPEIN forma parte de la

UNIDEF, una Unidad Ejecutora del CONICET (UNIDEF-CITEDEF-CONICET-CIPEIN). Las investigaciones del CIPEIN mencionadas en este artículo fueron financiadas por la Organización Mundial de la Salud, y los siguientes organismos y empresas de Argentina: CONICET, ANPCyT y Chemotecnica SA. Los autores agradecen a Susana I. García y José M. Ordóñez Iriarte por la invitación para escribir este artículo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Zerba EN. Desde la química a la toxicología en insectos. Ciencia e Investigación - Reseñas. 2015; 3:112-26.
2. Vassena C, Picollo MI, Zerba E. Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. Med. Vet. Entomol. 2000; 14:1-5.
3. Seccacini E, Lucia A, Zerba E, Licastro S, Masuh H. *Aedes aegypti* resistance to temephos in Argentina. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2008; 24:608-9.
4. Harburguer L, Masuh H, Zerba E, Licastro S. Primer hallazgo de resistencia a piretroides en adultos de *Aedes aegypti* en Argentina. En XVI Simposio sobre Control Epidemiológico de Enfermedades Transmitidas por Vectores. Buenos Aires, Argentina; 2013.
5. Ministerio de Salud. Curso sobre enfermedades vectoriales para agentes comunitarios en ambiente y salud. Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación Argentina; 2010.
6. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS). Hoja informativa para trabajadores de la Salud: Enfermedad de Chagas. [actualizado en 2017; citado el 30 de julio de 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/sites/default/files/2017-cha-chagas-hoja-informativa-trab.pdf>.
7. World Health Organization (WHO). ¿Por qué se les dice “desatendidas” a algunas enfermedades tropicales? [Actualizado en 2012; citado el 30 de julio de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/features/qa/58/es/>.
8. Zerba EN. Pesticide evaluation scheme & global collaboration for development of pesticides for public health. Past and present of Chagas vector control and future needs. Geneva: World Health Organization (WHO); 1999.
9. Roussel Uclaf. Activity of K-othrine® against Triatominae, en Roussel Uclaf pyrethroid insecticides. For domestic, industrial, public health and stored products use. K-OTHRINE. 1979.
10. Casabé N, Melgar F, Wood E, Zerba E. Insecticidal activity of pyrethroids against *Triatoma infestans*. Insect. Science Applic. 1988; 9:233-6.
11. Alzogaray RA, Zerba EN. Temperature effect on the insecticidal activity of pyrethroids on *Triatoma infestans*. Comp. Biochem. Physiol. 1993; 104:485-8.
12. Alzogaray RA, Zerba EN. Incoordination, paralysis and recovery after pyrethroids treatments on third instars of *Triatoma infestans*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 1996; 92:431-5.
13. Alzogaray RA, Fontán A, Zerba EN. Evaluation of hyperactivity produced by pyrethroid treatment on nymph III of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Arch. Insect Biochem. Physiol. 1997; 35:323-33.



14. Alzogaray RA, Zerba EN. Third instar nymph of *Rhodnius prolixus* exposed to alpha-cyanopyrethroids: from hyperactivity to death. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2001; 46:119-26.
15. Zerba EN, Wallace G, Picollo MI, Casabé N, Licastro SA, Wood E, et al. Evaluación de la beta-cipermetrina para el control de *Triatoma infestans*. *Rev. Panam. Salud Publica* 1997; 1:133-7.
16. Zerba EN. Monitoreo de la Resistencia en triatominos a través de la Red Latinoamericana (RELCOT). En monitoreo de la resistencia en triatominos en América Latina. Serie Enfermedades Transmisibles. Publicación Monográfica 1. Buenos Aires: Fundación Mundo Sano. [Actualizado en 2001; citado el 30 de Julio de 2021] Disponible en: <https://www.mundosano.org/download/bibliografia/Monografia%201.pdf>.
17. Alzogaray RA, Picollo M, Zerba E. Independent and joint action of cis and trans permethrin on *Triatoma infestans*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 1998; 37:225-30.
18. Masuh HM, Seccacini E, Licastro SA, Zerba E. A new aqueous concentrate suspension of cis-permethrin and its insecticidal activity. *Pest. Sci.* 2000; 56:1-4.
19. Seccacini E, Masuh H, Licastro S, Zerba E. Laboratory and scaled up evaluation of cis-permethrin applied as a new ultra low volume formulation against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Acta Trop.* 2006; 97:1-4.
20. Zerba E. Fumigant canisters and other novel insecticide delivery system for public health. *Public Health Magazine (Bayer)*. 1995; 12:62-71.
21. González Audino P, Licastro S, Zerba E. Thermal behaviour and biological activity of pyrethroids in smoke-generating formulations. *Pest. Sci.* 1999; 55:1187-93.
22. Fujisaki T, Reich M. TDRs contribution to the development of the fumigant canister for controlling Chagas disease. *World Health Organization (WHO)*. 1998. TDR/ER/RD/98.5.
23. Oppenoorth FJ. Biochemistry of insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.* 1984; 22:187-93.
24. Tabashnik BE, Mota-Sanchez D, Whalon ME, Hollingworth RM, Carrière, Y. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. *J. Med. Entomol.* 2014; 107:496-507.
25. World Health Organization (WHO). Protocolo de evaluación de efecto insecticida sobre Triatominos. *Acta Toxicol. Arg.* 1994; 2:29-32.
26. Picollo MI, Vassena CV, Santo Orihuela PL, Barrios S, Zaidenberg 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.
27. Toloza A, Germano M, Mougabure Cueto G, Vassena C, Zerba E, Picollo MI. 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.
28. Germano M, Santo Orihuela P, Roca Acevedo G, Toloza A, Vassena C, Picollo M, et al. 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.
29. Mougabure-Cueto G, Picollo MI. Insecticide resistance in vector Chagas disease: evolution, mechanisms and management. *Acta Trop.* 2015; 149:70-85.
30. Fronza G, Toloza AC, Picollo MI, Spillmann C, Mougabure-Cueto GA. 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.
31. Fronza G, Roca-Acevedo G, Mougabure-Cueto GA, Sierra I, Capriotti N, Toloza AC. 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.
32. Lardeux F, Depickère S, Duchon S, Chavez T. Insecticide resistance of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) vector of Chagas disease in Bolivia. *Trop. Med. Int. Health.* 2010; 15:1037-48.
33. Santo-Orihuela PL, Vassena CV, Zerba EN, Picollo MI. 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.
34. Santo-Orihuela PL, Picollo MI. Contribution of general esterases to pyrethroid resistant *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. *Acta Toxicol. Argent.* 2011; 19:32-40.
35. Santo-Orihuela PL, Carvajal G; Picollo MI, Vassena C. Toxicological and biochemical analysis of the susceptibility of sylvatic *Triatoma infestans* from the Andean Valley of Bolivia to organophosphate insecticide. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2013; 108:790-5.
36. Santo-Orihuela P, Vassena C, Carvajal G, Clark E, Menacho S, Bozo R, et al. Toxicological, enzymatic and molecular assessment of the insecticide susceptibility profile of *Triatoma infestans* populations from rural communities of Santa Cruz, Bolivia. *J. Med. Entomol.* 2017; 54:187-95.
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* 2014; 8, e2659.
39. Roca-Acevedo G, Picollo MI, Capriotti N, Sierra I, Santo-Orihuela PL. 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. Ministerio de Salud. Boletín integrado de Vigilancia; 2020. Argentina: Ministerio de Salud; BIV 524 | SE 48. 2020.
42. Seijo A, Morales A, Poustis G, Romer, Efron E. Outbreak of St. Louis encephalitis in the Metropolitan Buenos Aires area. *Medicina.* 2011; 71:211-7.
43. Dantur Juri MJ, Galante GB, Zaidenberg M, Almirón WR, Claps GL, Santana M. Longitudinal study of the species composition and spatio-temporal abundance of Anopheles larvae in a malaria risk area in Argentina. *Florida Entomol.* 2014; 97:1167-81.

44. Harburguer L, Licastro S, Masuh H, Zerba E. Biological and chemical characterization of a new larvicide ovitrap made of plastic with pyriproxyfen incorporated for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Control. J. Med. Entomol. 2016; 53:647-52.
45. Gonzalez PV, González Audino PA, Masuh HM. Oviposition behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in response to the presence of heterospecific and conspecific larvae. J. Med. Entomol. 2016; 53:268-72.
46. Sfara V, Licastro SA, Masuh HM, Seccacini EA, Alzogaray RA, Zerba EN. Synergism between cis-permethrin and benzoyl phenyl urea insect growth regulators against *Aedes aegypti* larvae. J. Am. Mosq. Control. Assoc. 2007; 23:24-8.
47. Lucia A, Licastro S, Zerba E, Gonzalez Audino P, Masuh H. Sensitivity of *Aedes aegypti* adults (Diptera: Culicidae) to the vapors of Eucalyptus essential oils. Bioresour Technol. 2009; 100:6083-7.
48. Harburguer LV, Seccacini E, Masuh H, Audino PG, Zerba E, Licastro S. Thermal behaviour and biological activity against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) of permethrin and pyriproxyfen in a smoke-generating formulation. Pest Manag. Sci. 2009; 65:1208-14.
49. Harburguer L, Beltrán G, Goldberg L, Goldberg L, Zerba E, Licastro S, et al. A new strategy for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) control with community participation using a new fumigant formulation. J. Med. Entomol. 2011; 48:577-83.
50. Harburguer L, Lucia A, Licastro S, Zerba E, Masuh H. Field comparison of thermal and non-thermal ultra-low-volume applications using water and diesel as solvents for managing dengue vector, *Aedes aegypti*. Trop. Med. Int. Health 2012a; 17:1274-80.
51. Harburguer L, Seccacini E, Licastro S, Zerba E, Masuh H. Droplet size and efficacy of an adulticide-larvicide ultralow-volume formulation on *Aedes aegypti* using different solvents and spray application methods. Pest Manag. Sci. 2012b; 68:137-41.
52. Organización Mundial de la Salud (OMS). Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: Guidelines for prevention and control. Washington DC; Scientific Publication; N° 548. 1995.
53. Albrieu Llinás G, Seccacini E, Gardenal CN, Licastro S. Current resistance status to temephos in *Aedes aegypti* from different regions of Argentina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 2010; 105:113-6.
54. López Rodríguez RW. Estudio de la sensibilidad y/o resistencia a los insecticidas del *Aedes aegypti*, vector del dengue en Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés: Universidad de Barcelona. 2015.
55. Albrieu Llinás G, Gardenal CN. Introduction of different lineages of *Aedes aegypti* in Argentina. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2011; 27:429-32.
56. Moretti AN, Seccacini EA, Zerba EN, Canale D, Alzogaray RA. The botanical monoterpenes linalool and eugenol flush-out nymphs of *Triatoma infestans*. J. Med. Entomol. 2017; 54:1293-98.
57. Moretti AN, Zerba EN, Alzogaray RA. Lethal and sublethal effects of eucalyptol on vectors of Chagas disease *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). Entomol. Exp. Appl. 2015; 154:62-70.
58. Reynoso MMN, Seccacini EA, Zerba EN, Alzogaray RA. Botanical monoterpenes synergize the toxicity of azamethiphos in the vector of Chagas disease, *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Trop. Med. Int. Health. 2020; 12:1480-85.
59. Reynoso MMN, Lucia A, Zerba EN, Alzogaray RA. Eugenol-hyperactivated nymphs of *Triatoma infestans* become intoxicated faster than non-hyperactivated nymphs when exposed to a permethrin-treated surface. Parasite Vector. 2018; 11:573.
60. Lucia A, Guzmán E. Emulsions containing essential oils, their components or volatile semiochemicals as promising tools for insect pest and pathogen management. Adv. Colloid Interface Sci. 2021; 287; 102330.
61. Lucia A, Girard C, Fanucce M, Coviella C, Rubio RG, Ortega F, et al. Development of an environmentally friendly larvicidal formulation based on essential oil compound blend to control *Aedes aegypti* larvae: Correlations between physicochemical properties and insecticidal activity. ACS Sustain. Chem. Eng. 2020a; 8:10995-1006.
62. Lucia A, Toloza AC, Fanucce M, Fernández-Peña L, Ortega F, Rubio R, et al. Nanoemulsions based on thymol-eugenol mixtures: characterization, stability and larvicidal activity against *Aedes aegypti*. Bull. Insectol. 2020b; 73:153-60.
63. Lucia A, Guzmán E, Rubio RG, Ortega F. Enhanced solubilization of an insect juvenile hormone (JH) mimetic (pyriproxyfen) using eugenol in water nanoemulsions stabilized by a triblock copolymer of poly(ethylenglycol) and poly(propilenglycol). Colloids Surf. A 2020c; 606:125513.
64. Cáceres M, Guzmán E, Alvarez-Costa A, Ortega F, G. Rubio R, Coviella C, et al. Surfactantless emulsions containing eugenol for imidacloprid solubilization: physicochemical characterization and toxicity against insecticide-resistant *Cimex lectularius*. Molecules 2020; 25:2290.