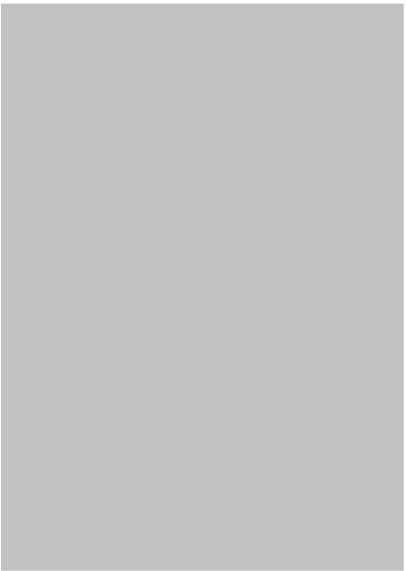




Boletín

de Malariología
y Salud Ambiental

Ministerio del Poder Popular para la Salud



Ciencias

Físicas

Biológicas

Sociales



ISSN: 1690 - 4648
Depósito Legal: pp-200303AR314

Vol. XLVIII, Nº 1, 2008

Maracay - Aragua - Venezuela

BOLETÍN DE MALARIOLOGÍA Y SALUD AMBIENTAL

Vol. XLVIII, N° 1, ENERO-JULIO, 2008

ISSN: 1690 - 4648 - DEPÓSITO LEGAL pp- 200303AR314

(antes Boletín de Malariología y Saneamiento Ambiental)

MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA LA SALUD

JESÚS M. MANTILLA O.
MINISTRO

**DIRECCIÓN GENERAL
DE SALUD AMBIENTAL**

IGOR O. DI RUSCIO C.
DIRECTOR

**DIRECCIÓN GENERAL
DE CONTRALORÍA SANITARIA**

DIVIS DEL CARMEN ANTUNEZ
DIRECTOR

**SERVICIO AUTÓNOMO
INSTITUTO DE ALTOS ESTUDIOS
“DR. ARNOLDO GABALDON”**

JOSÉ R. DELGADO HIGUERA
DIRECTOR

Editores

José Vicente Scorza
M. Dora Feliciangeli

Diseño y Diagramación

Oswaldo Flores S.

Comité Editorial

Francisco Armada
Rafael Borges
Roberto Briceño León
Rafael Cásares
Oscar Feo
Oscar Noya
Yasmín Rubio-Palis
Omar Verde

Comité Honorario

Jorge Alvar (España)
Jacinto Convit (Venezuela)
José R. Coura (Brasil)
Philippe Desjeux (Francia)
Felipe Guhl (Colombia)
Santiago Mas Coma (España)
Alejandro Mondolfi (Venezuela)
César Náquira (Perú)
Carlos Ponce (Honduras)
Antonieta Rojas de Arias (Paraguay)
Christopher Schofield (Reino Unido)
Rodrigo Zeledón (Costa Rica)

Para suscripciones: **publpeiaesp@yahoo.com**

Para envío de artículos: **bmsave@yahoo.com**

Apartado de Correos N° 2171. Maracay 2101. Estado Aragua, Venezuela.

Revista indizada en **BIREME, SciELO, GLOBAL HEALTH, LATINDEX y LILACS**,
y registrada en **ASEREME**.

Publicada por el Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldon”, ubicado en el antiguo
edificio de Malariología, Av. Bermúdez Sur, Maracay, Estado Aragua, Venezuela.

Esta revista está editada on line en la dirección: www.iaes.edu.ve

Boletín de Malariología y Salud Ambiental

Vol. XLVIII, N° 1

Maracay, Aragua, Venezuela

Enero-Julio, 2008

CONTENIDO

REVISIONES

Eco-Epidemiología de flebovirus (Bunyaviridae, *Phlebovirus*) transmitidos por flebótomos (Psychodidae, Phlebotominae)

Eco-epidemiology of Phlebovirus (Bunyaviridae, Phlebovirus) transmitted by Phlebotomus (Psychodidae, Phlebotominae)

María de los Ángeles Acevedo & Jazzmín Arrivillaga.....3

Contaminación bacteriológica en los sistemas de distribución de agua potable: Revisión de las estrategias de control

Bacteriological contamination of the drinking water distribution systems: revision of control strategies

Cristina De Sousa, María Cristina Colmenares & Angelina Correia.....17

ARTÍCULOS ORIGINALES

Disposición farmacocinética de las especies de antimonio en perros después de una dosis de antimoniato de meglumina (Glucantime®)

Pharmacokinetic disposition of antimony species in dogs after a dose of meglumine antimonate (Glucantime®)

Laura Vásquez de Ricciardi, Nelson Vicuña-Fernández, Yaneina Petit de Peña, Sabrina López, José V. Scorza, José V. Scorza-Dager, Elsy Villegas & Belén Pérez27

Reacción en cadena de polimerasa (PCR) para detectar formas infectivas de *Onchocerca volvulus* en *Simulium metallicum* s.l. (Diptera: Simuliidae), en áreas endémicas de Venezuela

Polymerase chain reaction (PCR) for detecting infective forms of Onchocerca volvulus in Simulium metallicum s.l. (Diptera: Simuliidae) in Venezuelan endemic areas

Alexis Fernández, Jaime Ramírez-Pérez, Harland Shuler & Noris Rodríguez.....35

Efectividad de metopreno en el control de *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio: efecto de la densidad larvaria

Efficacy of metopreno for the control of Anopheles albimanus Wiedemann (Diptera: Culicidae) in laboratory conditions: effect of larval density

Edith Navarro, Jesús Berti & Julio E. González.....45

Percepciones y comportamiento de la población de un área endémica de Argentina en relación a la transmisión de *Tunga penetrans* (Siphonaptera: Tungidae)
Perceptions and behaviour about the transmission of Tunga penetrans (Siphonaptera: Tungidae) in a population from an endemic area of Argentina

Elena Beatriz Oscherov, Alicia María Francisca Milano & Aníbal Roque Bar53

Conocimientos, prácticas y percepciones sobre malaria en la parroquia Yaguaraparo, estado Sucre, Venezuela, 2004

Knowledge, practices and perceptions about malaria in Yaguaraparo parish, Sucre state, Venezuela, 2004

Mayira Sojo-Milano, José Luis Cáceres G., Eliecer Sojo-Milano, Leticia Rondón, Carlos González & Néstor Rubio61

Evaluación de la calidad fisicoquímica y bacteriológica en piscinas del estado Carabobo, Venezuela

Evaluation of physicochemical and bacteriological characteristics of some swimming pools in Carabobo state, Venezuela

María Cristina Colmenares, Angelina Correia de Soto & Cristina De Sousa.....73

REPORTE EPIDEMIOLÓGICO

Malaria antes y después de la cura radical masiva en el Estado Sucre, Venezuela

Malaria before and after massive radical cure in Sucre state, Venezuela

José Luis Cáceres G.83

NOTAS CIENTÍFICAS

Supervivencia de formas de cultivo de *Trypanosoma cruzi* en alimentos experimentalmente contaminados

Survival of culture forms of Trypanosoma cruzi in experimentally contaminated food

Néstor Añez & Gladys Crisante.....91

Observaciones sobre la bionomía de *Anopheles* spp. (Diptera: Culicidae) en el municipio Valencia, departamento Córdoba, Colombia

Observations on the bionomics of Anopheles (Diptera: Culicidae) in the Valencia municipality, Cordoba department, Colombia

Gabriel Parra-Henao & Erika Patricia Alarcón Pineda.....95

Infección natural de *Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera: Reduviidae) al sureste del estado Lara, Venezuela

Natural infection of Panstrongylus rufotuberculatus (Hemiptera: Reduviidae) at Southheastern of Lara state, Venezuela

Luis Eduardo Traviezo-Valles, Dorit Berkefeld & Elis Aldana.....99

REVISTA DE REVISTAS.....103

FE DE ERRATA.....105

Revisión

Eco-Epidemiología de flebovirus (Bunyaviridae, *Phlebovirus*) transmitidos por flebótomos (Psychodidae, Phlebotominae)

María de los Ángeles Acevedo & Jazzmín Arrivillaga*

En la actualidad la emergencia y re-emergencia de nuevos arbovirus es de gran importancia en salud pública. El género *Phlebovirus* (Bunyaviridae) es parte importante de este grupo de virus constituido en la actualidad por 68 serotipos. La infección causada por *Phlebovirus* origina una clínica comúnmente compuesta por fiebre, dolor de cabeza y malestar general; rara vez se presentan meningitis o meningoencefalitis, conocida por sus síntomas como la "fiebre del flebótomo". Estos virus son transmitidos principalmente por dípteros de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia* de la familia Psychodidae. La dinámica poblacional de los flebovirus indica que su presencia está íntimamente asociada con los sitios donde se encuentra el vector, distribuido en zonas de Asia, África y Europa entre 20° y 45° de latitud, así como en las Américas asociado principalmente a zonas boscosas. Las hembras de estos géneros son hematófagas y capaces de transmitir el virus transovarialmente, por tanto el ciclo del mismo no se encuentra limitado a la transmisión hospedador-reservorio-vector, aunado a esto, las larvas de cuarto instar en diapausa mantienen su capacidad infectiva. Actualmente, el diagnóstico se puede realizar por diversas técnicas serológicas y moleculares para algunos virus del grupo, pero dado que éstas no se realizan con frecuencia, los casos suelen pasar desapercibidos.

Palabras clave: Arbovirus, *Phlebovirus*, flebótomos, *Phlebotomus*, *Lutzomyia*, Bunyaviridae, fiebre del flebótomo.

INTRODUCCIÓN

Los arbovirus son virus transmitidos por artrópodos por inoculación salival, el término deriva del inglés "arthropod borne viruses". Estos virus son mantenidos en la naturaleza en ciclos enzoóticos y/o epizoóticos que involucran a los artrópodos hematófagos como vectores naturales y a los vertebrados como principales hospedadores (susceptibles y/o reservorios) (WHO, 1967).

Los arbovirus están implicados en enfermedades virales emergentes y re-emergentes

debido a cambios en los patrones eco-epidemiológicos o fallas en los programas de control (ejemplo en las Américas, con el Dengue, EEE y Fiebre Amarilla). Miembros de la familia Bunyaviridae constituyen uno de los principales protagonistas de esta situación. Esta familia, catalogada por estar integrada por virus principalmente emergentes es de amplia distribución en los cinco continentes y de alta diversidad de especies (Labuda, 1991).

La familia Bunyaviridae se encuentra definida taxonómicamente con base a las relaciones antigénicas, dividida en 5 serotipos, *Orthobunyavirus*, *Nairovirus*, *Phlebovirus*, *Hantavirus* (Labuda, 1991; Verani *et al.*, 1991; ICTVdB Management, 2006) y *Tospovirus* (ICTVdB Management, 2006). Los virus de esta familia tienen relaciones biológicas preferenciales con artrópodos de las clases Insecta y Arácnida (Labuda, 1991).

Universidad Simón Bolívar. Departamento de Estudios Ambientales. Lab. de Genética de Poblaciones. Valle de Sartenejas. Edo. Miranda. Venezuela. Código postal 1080

*Autor de correspondencia: jarrivillaga@usb.ve

Los virus pertenecientes a la familia Bunyaviridae se caracterizan por su genoma de ARN de cadena simple segmentado en tres partes, la parte larga (L) codifica para la proteína larga, la cual es ARN polimerasa viral, la parte media (M) codifica para dos glicoproteínas (G1 y G2) y la parte pequeña (S) codifica para una proteína de nucleocápside y N (la parte más inmunogénica) y la proteína no estructural (NSs) en algunos géneros entre ellos *Phlebovirus* y *Tospovirus* (Robeson *et al.*, 1979; Labuda, 1991; Schwarz, 1996; Liu *et al.*, 2003; Sánchez-Seco & Navarro, 2005; ICTVdB Management, 2006).

Dentro de la familia Bunyaviridae se encuentra, el género *Phlebovirus*, subdividido en dos grupos antigénicos: Sandfly fever (fiebre de flebótomos) y el grupo Uukunemi. La principal diferencia entre ambos grupos son los agentes vectores comprobados, en el primer caso son mosquitos y flebótomos mientras que el segundo son virus transmitidos por garrapatas (Dong *et al.*, 2003; ICTVdb Management, 2006).

Desde el punto de vista médico, en veterinaria y salud pública el género *Phlebovirus* presenta miembros importantes como el virus de la fiebre del Valle Rift (RVF, especie tipo) y el Virus de Toscana (TOSV). El alcance de los flebovirus radica en que originan una variedad de síndromes clínicos aparentemente no diferenciados que van desde un breve cuadro febril hasta meningoencefalitis (Beisel *et al.*, 1972; Valassina *et al.*, 1996; Braito *et al.*, 1998a; 1998b). El síndrome por flebovirus recibe el nombre de fiebre del flebótomo (*Phlebotomus* fever, sandfly fever, papataci fever, 3-day fever) (Feigin & Cherry, 1992), caracterizada por fiebre y malestar general, la cual es la manifestación clínica más común que ocurre en los humanos.

La importancia del estudio del género *Phlebovirus* reside en el incremento de arbovirosis que se creían controladas durante las últimas décadas, así como la aparición de distintas cepas virales en áreas geográficas antes no reportadas. Factores como la incursión humana, perturbaciones en ecosistemas terrestres, la movilidad de la población sin control sanitario y los cambios climáticos han favorecido la aparición de enfermedades arbovirales originadas por flebovirus, considerando la modificación del hábitat natural, la ecología de los vectores y la eco-epidemiología de la enfermedad que, en el caso de

América, consiste básicamente en la deforestación y cambio de uso de la tierra de ambientes terrestres-boscosos (Vasconcelos *et al.*, 2001).

En este trabajo se hace una revisión de los virus del género *Phlebovirus* pertenecientes al serogrupo de "Sandfly fever" o fiebre de flebótomos y cuyos vectores potenciales o incriminados son flebótomos del Viejo Mundo (*Phlebotomus* spp.) o del Nuevo Mundo (*Lutzomyia* spp.), dípteros pertenecientes a la familia Psychodidae, subfamilia Phlebotominae.

EL GÉNERO *Phlebovirus*

Historial Epidemiológico

La enfermedad denominada fiebre del flebótomo fue inicialmente descrita en Herzegovina (Schwarz, 1996) y era ya conocida para 1909. Ese año, una Comisión Armada Australiana que trabajaba en Yugoslavia, reportó por primera vez que la fiebre del flebótomo era causada por un virus transmitido por los flebótomos (Doerr *et al.*, 1909 citado por Tesh, 1989). Posteriormente, durante la II Guerra Mundial, la fiebre de flebótomos constituyó un serio problema de salud pública para las fuerzas militares en India, Paquistán y Palestina. Soldados de las tropas británicas, americanas y alemanas en el norte de África y el Mediterráneo resultaron infectados (Tesh, 1989). Investigaciones virológicas llevadas a cabo en Armenia, Moldavia, Turkmenia y Uzbekistan establecieron líneas locales del flebovirus y su rol como agente etiológico del cuadro febril, los brotes de fiebre del flebótomo ocurrieron repetidamente en la Unión Soviética durante el periodo de 1945-1950 (Gaidamovich *et al.*, 1974).

A partir de un estudio epidemiológico iniciado en el año 1976 en Irán, se incriminó a *Phlebotomus papatasi* como el vector natural, lo cual fue confirmado más tarde (Saidi *et al.*, 1977; Tesh *et al.*, 1977). Adicionalmente, se observó prevalencia en humanos y gerbos para varios aislados del virus ya conocido, completando así las primeras observaciones del posible ciclo epidemiológico del virus (Saidi *et al.*, 1977; Tesh *et al.*, 1977).

Los estudios en el Viejo Mundo condujeron a un número de aislados virales diferentes, provenientes

de flebótomos y que aumentaban al intensificarse estas investigaciones, alcanzando 37 serotipos aceptados para el año 1986. Para entonces, siete de los virus descritos habían sido asociados a enfermedades humanas y ya se incluían los virus aislados en la región Americana con vectores presumibles pertenecientes al género *Lutzomyia* (Tesh *et al.*, 1986).

Caracterización y taxonomía del género Phlebovirus

Actualmente, los 68 serotipos virales del género *Phlebovirus* (ICTVdB Management, 2006; Liu *et al.*, 2003) muestran cierto grado de reactividad cruzada entre miembros del género en pruebas serológicas de hemaglutinación (HA) y fijación de complemento (CF). Dentro de las características físicas de los virus más relevantes se tiene que los viriones consisten en una cubierta y una nucleocápside, de forma esférica a pleomórfica con un entre diámetro 80 a 120 nm (ICTVdB Management, 2006).

Los serotipos conocidos de *Phlebovirus* están divididos en dos grupos antigénicos principales: Sandfly fever (la fiebre de flebótomos) con 55 miembros y el grupo Uukuniemi con 13 miembros (Liu *et al.*, 2003). El grupo de la fiebre de flebótomos está a su vez dividido en 13 serocomplejos y 12 miembros no asignados a algún serocomplejo (Liu *et al.*, 2003; ICTVdB Management, 2006).

Respecto a los vectores de los *Phlebovirus*, las diferencias entre los dos grupos también se reflejan en sus vectores. Los virus de "Sandfly fever" son transmitidos por flebótomos, mosquitos (Culicidae) o jejenes (*Culicoides*), los del grupo Uukuniemi son virus transmitidos por garrapatas.

A pesar de que existen grupos diferentes de vectores que no se encuentran muy relacionados taxonómicamente, los grupos virales Uukuniemi y Sandfly fever están relacionados entre sí ya que presentan las siguientes características comunes (ICTVdB, Management, 2006): 1.- Comparten la misma estrategia de codificación de ambos sentidos para el segmento S del ARN. 2.- Tienen secuencias nucleotídicas terminales 5' y 3' idénticas. 3.- Exhiben una baja aunque significativa homología entre las glicoproteínas. 4.- Las proteínas N muestran un alto nivel de homología. 5.- Ciertos miembros de cada grupo se encuentran antigénicamente relacionados con algunos miembros del otro grupo.

De acuerdo a Liu *et al.* (2003) para el género *Phlebovirus* la actual clasificación antigénica es poco satisfactoria por diversas razones, entre las cuales figura el hecho de haberse descubierto un total de 68 especies de flebovirus siendo altamente probable que exista en la naturaleza un número mayor. Aunado a esto, y basado en su estructura genética, abundancia y patrones complejos de antigenicidad de reactividad cruzada, es probable que la reorganización natural ocurra entre algunos de estos virus confundiendo su clasificación antigénica e identificación. Así mismo, algunos de los flebovirus no producen placas visibles bajo agarosa, ni infectan u ocasionan la muerte de animales de laboratorios comunes, haciendo que la producción de reactantes y la comparación antigénica sea difícil. Por último, relativamente pocos laboratorios todavía son capaces de realizar el "clásico" examen serológico necesario para la caracterización de flebovirus (Liu *et al.*, 2003).

A raíz de las dificultades mencionadas anteriormente, Liu *et al.* (2003) presentan una relación más específica entre miembros del género *Phlebovirus* en pruebas realizadas con RT-PCR utilizando un primer "cóctel" mezcla de otros cuatro cócteles para amplificar una región del segmento M del genoma de 24 flebovirus. Los análisis del estudio arrojaron como resultado un árbol filogenético que exhibió tres linajes genotípicos consistentes con la información serológica en cuanto a la relación antigénica de los virus descritos.

Distribución geográfica del género Phlebovirus

Los flebovirus han sido reportados tanto en el Viejo como en el Nuevo Mundo, cada uno de ellos con una distribución geográfica única. Sin embargo, se han dado casos en los cuales de acuerdo a la distribución de cada uno, dos o más serotipos se solapan ocurriendo en la misma área (Ej. Sicilian y Karimabad) (Tesh *et al.*, 1975; Tesh *et al.*, 1977; Tesh *et al.*, 1982).

En el Viejo Mundo han sido descritos en Asia Central, Europa del Sur y África, específicamente en Portugal, España, Francia, Italia, Yugoslavia, Chipre, Turquía, Irán, India, Paquistán, Grecia, Egipto, Finlandia, Bangladesh, Sudan, Nigeria, Etiopía, Senegal, República de África Central, antigua Unión Soviética, entre otros (Tesh *et al.*, 1975; Tesh *et al.*, 1977; Gaidamovich *et al.*, 1984; Tesh, 1989; Eitrem *et*

al., 1991; Verani *et al.*, 1991; Fontenille *et al.*, 1994; Valassina *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2003; Sánchez-Seco & Navarro, 2005).

En el Nuevo Mundo han sido descritos en Panamá, Guatemala, Colombia, Brasil, Estados Unidos, Guyana Francesa, Trinidad y posiblemente Perú (Tesh *et al.*, 1975; Travassos da Rosa *et al.*, 1983; Tesh *et al.*, 1986; Tesh, 1988; Tesh *et al.*, 1989; Cruz, 2001; Liu *et al.*, 2003).

Patología, patogenia y diagnóstico clínico de Phlebovirus

De acuerdo a Sánchez-Seco y Navarro (2005) un arbovirus como el virus de Toscana o como el virus de West Nile (Flavivirus) pudieran presentar la siguiente ruta patogénica: “el virus luego de penetrar la piel, se deposita directamente en linfa o sangre, produciendo una diseminación precoz y una posterior multiplicación en células del endotelio vascular, células reticuloendoteliales de nódulos linfáticos, fibroblastos y células de Langerhans, para luego, una vez ocurrida la replicación, reintroducirse a través de la linfa en el torrente circulatorio y alcanzar los órganos objetivos”. Se inicia una fase de viremia que en el caso de flebovirus varía entre 2 y 3 días, presentándose un bajo título viral en humanos. El período puede ser asintomático, transcurrir como un cuadro seudogripal con fiebre y malestar general (20% de los infectados) o modificarse a un cuadro más agresivo debido a la afectación del sistema nervioso central (1 de cada 150-300 infectados) (Sánchez-Seco & Navarro, 2005).

Si el virus alcanza el sistema nervioso central lo hace a través del endotelio vascular, por transferencia pasiva, por replicación en las células endoteliales o por transporte axonal a través de las neuronas olfatorias (Sánchez-Seco & Navarro, 2005). Una vez dentro del organismo, los flebovirus presentan diferentes grados de patogenicidad, la mayoría de los serotipos ocasiona la conocida fiebre del flebótomo pero virus como el de Toscana puede producir un efecto sobre el sistema neurológico en humanos (Braito *et al.*, 1997; Braito *et al.*, 1998a; Braito *et al.*, 1998b).

En el aspecto clínico, un estudio realizado con voluntarios infectados con el virus de la fiebre del flebótomo del tipo siciliano (“Sicilian Sandfly

Fever Virus”) registró que el período de incubación medio se incrementaba mientras menores fueran las dosis inoculadas del suero infeccioso a los voluntarios aunque existe una variación considerable en la respuesta clínica a la infección (Bartelloni & Tesh, 1976). Los síntomas más comunes reportados en individuos infectados, tanto natural como artificialmente, han sido dolor de cabeza, mialgia, anorexia, dolor en la parte baja de la espalda, siendo los menos comunes: dolor retro-orbital, fotofobia, escalofríos, náusea, vómitos y vértigo, algunos sujetos continuaron con el dolor retro-orbital luego de haber cesado la fiebre (Fleming *et al.* 1947; Beisel *et al.*, 1972; Bellanti *et al.*, 1972; Bartelloni & Tesh, 1976; Eitrem *et al.*, 1991; Feigin & Cherry, 1992; Liu *et al.*, 2003). Dentro de los signos presentados se encuentran secreciones conjuntivales, congestión palatal, picazón macular, urticarias petequiales, herpes labial, crepitantes finas y tos (Fleming *et al.*, 1947). La cara puede observarse rojiza pero sin una verdadera erupción. La enfermedad es autolimitada y a pesar de que los síntomas desaparezcan, una sensación general de debilidad y depresión es común por una semana o más luego de la enfermedad (Fleming *et al.*, 1947).

El virus de Toscana (TOSV) representa un caso poco común, ya que la infección por TOSV se manifiesta ocasionalmente provocando cuadros neurológicos, principalmente meningitis aséptica y escasamente se dan casos de encefalitis o meningoencefalitis (Braito *et al.*, 1997; 1998a; 1998b; Liu *et al.*, 2003; Kuhn *et al.*, 2005; Sánchez-Seco & Navarro, 2005). Además de los síntomas clásicos de la fiebre de flebótomos, estos pacientes exhiben rigidez en la nuca, signo de Kernig positivo, la percepción sensorial nublada, nistagmus ocasional y tremor. En pacientes con el sistema nervioso comprometido se observa pleocitosis, y un elevado contenido de proteínas en el fluido cerebroespinal.

En el trabajo de Bartelloni y Tesh (1976), las manifestaciones clínicas plasmadas en los exámenes hematológicos demuestran que en casos de fiebre de flebótomos se presenta una marcada leucopenia con una cuenta media de leucocitos por debajo de 4000 por mm³ para el día cinco, esta disminución en los glóbulos blancos comienza durante el período de incubación. La leucopenia persiste más allá del período febril y se encuentra todavía presente para el octavo día. La cantidad de neutrófilos totales decrece y son significativamente diferentes de los niveles basales

para los individuos enfermos, estuvo acompañado de un aumento en los linfocitos originando linfocitosis relativa. La neutropenia también persistió en todos los sujetos hasta el día que se les dio de alta. Los linfocitos totales fueron significativamente deprimidos para el día 3 en todos los infectados pero retornaron a los niveles basales para el sexto día (Sabin, 1944 citado por Bartelloni & Tesh, 1976; Fleming *et al.*, 1947; Bartelloni & Tesh, 1976).

Respecto a la inmunidad causada por la infección viral por flebovirus mucho se ha discutido. Los altos niveles de anticuerpos neutralizantes desarrollados en la mayoría de los voluntarios en el estudio de Bartelloni & Tesh (1976), implica que una sola infección confiere inmunidad al tipo de virus homólogo. La falla de la mayoría de estos sueros para neutralizar cuatro otros agentes del grupo de virus de flebótomos sugiere que la inmunidad es tipo específico (Bartelloni & Tesh, 1976), aunque existe escasa evidencia de dos sueros que demostraron actividad neutralizante en contra de cuatro tipos heterólogos de fiebre de flebótomos (Naples, Arumowot, Karimabad y Salehabad) inoculados por el virus de Sicilia (Bartelloni & Tesh, 1976).

Asímismo, Sabin (1944 citado por Baterlloni & Tesh, 1976) también demostró la inexistencia de inmunidad cruzada. En su estudio, las personas infectadas con los aislados de Naples o Sicilia no se enfermaron cuando se les puso en contacto con el agente homólogo pero fueron susceptibles a la infección con el tipo heterólogo (Bartelloni & Tesh, 1976). Por otro lado, Cullinan y Whitaker (1943, citado por Fleming *et al.*, 1947) reportan segundos ataques desde 2 a 12 semanas luego del primero en un 15% de los casos dentro de un área de alta infectividad. Livshitz (1937, citado por Fleming *et al.*, 1947) en un estudio de casos naturales y experimentales, concluyó que una sola infección otorga protección de uno a tres meses y que aproximadamente 20% de los pacientes pueden ser reinfectados con la misma epidemia.

De acuerdo a Tesh & Duboise, (1987) se ha evidenciado respuesta inmune cruzada en roedores y neutralización de los agentes, aunque esta respuesta sea monotípica, sugiriendo que es posible que anticuerpos heterólogos de flebovirus pueden tener un efecto protector en vertebrados. De la misma forma, Braito *et al.* (1998b) sugieren que la elevada tasa de infección de viajeros y la caída en

la incidencia de la infección paralela al incremento en la edad de la población, residente en zonas de circulación viral, sugieren una inmunidad duradera. Al respecto, Cruz (2001) comenta que la inmunidad homóloga es probablemente de por vida. Sin embargo, el título de anticuerpos neutralizantes disminuye significativamente después de 20 años.

Al paciente, se le hace el diagnóstico de la fiebre de flebótomos con base a evidencia clínica y epidemiológica. Un brote repentino, durante los meses de verano de una fiebre de baja cuantía acompañada de fuertes dolores de cabeza entre visitantes y otras personas que recién han arribado a un área endémica donde las moscas de la arena son abundantes, sugiere la enfermedad, así como se toman en consideración datos de picaduras y otras zonas geográficas visitadas recientemente por el afectado (Feigin & Cherry, 1992; Sánchez-Seco & Navarro, 2005).

Los signos y síntomas de la enfermedad así como su duración también son tomados en cuenta para hacer el diagnóstico. La forma más acertiva para realizarlo es mediante métodos serológicos que lamentablemente están disponible sólo en unos pocos laboratorios de estudios arbovirales. Es por ello que el diagnóstico sólo puede ser confirmado bajo compatibilidad clínica y epidemiológica, la detección de secuencias específicas (poco probable para flebovirus que no son altamente conocidos) y finalmente la seroconversión o el seroincremento de anticuerpos neutralizantes en suero (Sánchez-Seco & Navarro, 2005).

El único tratamiento hasta ahora reportado son analgésicos para los fuertes dolores de cabeza que presentan algunos de los individuos infectados (Bartelloni & Tesh, 1976; Feigin & Cherry, 1992)

Diagnóstico serológico de Phlebovirus

La termolabilidad de los flebovirus es un factor importante a la hora de realizar el diagnóstico. De acuerdo a Calisher *et al.* (1977) la temperatura a la cual se guardan las preparaciones afecta directamente la infectividad de los mismos mientras mayor tiempo sea el tiempo expuesto a temperaturas elevadas (por encima de 0°C) la infectividad disminuye. De igual forma, se observó que las condiciones del medio también juegan un papel importante en su viabilidad ya que no han sido detectados virus a pH 2.0 y 3.0

mientras que a pH de 4.0 - 10.0 esencialmente todos los virus se mantuvieron infecciosos luego de 3 horas de incubación a 20°C (Calisher *et al.*, 1977).

Cuando ocurre una infección, suele ser diagnosticada por anticuerpos específicos (Ej. anti-TOSV IgM e IgG), Ensayo de Inmunofluorescencia Directa (IFAT), Fijación de complemento, Ensayo de Inhibición-Hemaglutinación (HI), Prueba de Neutralización por Reducción de Placa (PRNT), e Inmunoblot (Schwarz *et al.*, 1996). De las 5 técnicas serológicas comúnmente usadas (CF, HI, IFAT, PRNT y ELISA) durante la caracterización de 5 nuevos flebovirus los investigadores reafirmaron que PRNT es la más específica (Tesh *et al.*, 1989).

Por otro lado, los resultados de las pruebas de IFAT, fueron algunos altamente específicos, pero otros mostraron amplia reactividad cruzada (Tesh *et al.*, 1982). Los resultados del estudio indican que el IFAT es menos específico que las pruebas CF o PRNT pero es similar a la prueba HI al revelar las amplias relaciones antigénicas entre los flebovirus. Esta técnica (IFAT) puede ser utilizada como un procedimiento de exploración para detectar anticuerpos del grupo de fiebre de flebotomos en áreas donde nuevos o desconocidos serotipos están presentes (Tesh *et al.*, 1982). Aunque, debido a la alta reactividad cruzada, las pruebas de HI han sido el método de elección para identificar nuevos miembros del grupo de fiebre de flebotomos. Sin embargo, en la utilización de la técnica se presentan dificultades para la preparación de hemaglutinaciones satisfactorias con algunos flebovirus (Tesh *et al.*, 1982).

En el estudio realizado por Tesh *et al.* (1989) de relación antigénica entre los miembros del género *Phlebovirus* se verificaron las limitaciones de las técnicas de diagnóstico antigénico. Siendo la prueba de reducción de neutralización de placa (PRNT) el método serológico más específico (para 1989) y que actualmente es la técnica que se usa en el presente para definir serotipos de virus dentro del género *Phlebovirus* (Tesh *et al.*, 1989; Liu *et al.*, 2003)

En infecciones con TOSV agudas donde han sido producidos anticuerpos IgM, IgA e IgG específicos en contra de la proteína N, anticuerpos específicos TOSV mostraron reactividad cruzada con la proteína N de SFSV (Sandfly Fever Sicilian Virus) y una menor cantidad con SFNV (Sandfly

Fever Naples Virus), como en otras infecciones con Bunyaviridae. Sólo los anticuerpos a la proteína N pero no las glicoproteínas G1 y G2 son detectados (Schwarz *et al.*, 1996).

Otros virus, como Naples, Tehran y Toscana, son indistinguibles por las pruebas de CF pero son distintos por el método de neutralización (Tesh *et al.*, 1982). Todavía, otros como Itaituba, Nique, Candiru y Oriximina están estrechamente relacionados tanto por CF como por PRNT (Tesh *et al.*, 1982). Esta afinidad del complejo antigénico observada entre los flebovirus puede estar relacionada a su genoma que hace posible que su rearreglo ocurra entre flebovirus relacionados en la naturaleza, complicando su clasificación antigénica (Tesh *et al.*, 1982).

Idealmente, los métodos serológicos se consideran complementarios al diagnóstico directo por cultivos y/o biología molecular. El primero realizado en placas a partir de LCR o sueros de pacientes infectados y el segundo de un aislamiento viral confirmado mediante amplificación genómica por técnicas de transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) (Valassina *et al.*, 1996; 2002; Sánchez-Seco & Navarro, 2005).

Ciclo de transmisión de Phlebovirus

Desde el comienzo de los estudios de flebovirus, el aislamiento de éstos en flebotomíneos machos ha sido reportado en numerosas ocasiones para diferentes aislados del virus, entre éstos se cuentan tanto especies del Nuevo Mundo como del Viejo Mundo (Verani *et al.*, 1988; Tesh *et al.*, 1989).

Debido a la biología del vector, las hembras son las únicas hematófagas, y si se asume el ciclo biológico convencional de los arbovirus, donde se ve envuelto un reservorio, entonces el aislamiento en machos sugiere una transmisión de parte de las hembras, bien sea, transovárica o inclusive sexual (Tesh *et al.*, 1977; Tesh, 1988; Tesh, 1989). Estos datos sugieren entonces que la ecología de los flebovirus puede ser bastante diferente del ciclo convencional insecto-vertebrado presumido para la mayoría de los virus provenientes de artrópodos (Tesh *et al.*, 1977). Estas observaciones llevaron al estudio de la transmisión transovárica, siendo demostrada por Petrischeva & Alymov (1938, citado por Tesh & Chaniotis, 1975) para el vector (*Phlebotomus papatasi*) naturalmente infectado, dándose la transmisión vertical

del virus de parte de las hembras de F1 criadas en laboratorio a su descendencia F2. Estos mismos autores aportaron aún mayor evidencia demostrando que el virus sobrevivía en larvas transovarialmente infectadas de cuarto instar en diapausa.

Con base a lo anterior, ciertas investigaciones se llevaron a cabo para demostrar la viabilidad del virus transmitido transovarialmente. Tesh & Modi (1987) demostraron que las hembras transovarialmente infectadas todavía eran capaces de transmitir el virus por picada y que el virus no perdía su patogenicidad en ratones luego de varios pases transovariales a través de siete generaciones consecutivas del flebótomo *Phlebotomus perniciosus*. También ha sido detectado flebovirus (TOSV) en todos los estadios de desarrollo donde fue probado (Tesh *et al.*, 1992), adicionalmente, se comprobó que la temperatura ambiente tiene poco efecto en la transmisión transtadial o la sobrevivencia de TOSV en *P. perniciosus*. Por tanto, la transmisión transovárica se constituye como un mecanismo eficiente de los flebovirus para sobrevivir en el invierno durante periodos de inactividad de los flebótomos, así como es asegurada su sobrevivencia en la ausencia o densidades poblacionales mínimas de los hospedadores vertebrados susceptibles (Tesh *et al.*, 1977; Tesh & Modi, 1987; Ciufolini *et al.*, 1989).

Ahora bien, la presencia de reservorios en el ciclo de flebovirus fue puesto en duda ya que los virus transmitidos por flebótomos tienen una aparente incapacidad para producir una viremia significativa en humanos o animales infectados (Tesh & Chaniotis, 1975). Sin embargo, en la ausencia de un hospedador amplificador del virus, se sugiere que el virus desaparecería debido a que no puede ser mantenido sólo transovarialmente (Tesh & Chaniotis, 1975; Tesh & Modi, 1987; Tesh, 1988; Tesh, 1989; Tesh *et al.*, 1992). Los modelos matemáticos así lo indican estableciendo una disminución en las tasas de infección de progenie al transcurrir las generaciones, esto implica que los vertebrados deben estar involucrados en este ciclo (Tesh & Modi, 1987).

Aún así, en ciertos estudios se reportan una refracción de los flebótomos de los géneros implicados (*Phlebotomus* y *Lutzomyia*) en los intentos de infección oral con cierto número de flebovirus. De acuerdo a éstos, grandes títulos virales deben ser ingeridos para infectar a los flebótomos, por tanto sólo vertebrados con altos niveles de viremia pueden ser

capaces de infectar a un flebotomino en la naturaleza (Tesh & Modi, 1987; Ciufolini *et al.*, 1989). A pesar de esto, existe evidencia de que *P. perniciosus* puede ser infectado oralmente con el virus de Toscana (TOSV) y *Lutzomyia gomezi* con el virus de Arboledas, lo que sugiere que una amplificación en un ciclo vertebrado-insecto debe ocurrir ocasionalmente en la naturaleza para que el virus pueda sobrevivir (Tesh *et al.*, 1986; Tesh & Modi, 1987; Theodor, 1936 citado por Tesh & Chaniotis, 1975). Un factor importante para probar la transmisión es la estrecha relación virus-vector, cuando el vector no es el natural del aislado ocurre baja tasa de infección debido a su especificidad (Labuda, 1991; Tesh, 1988).

La cantidad de sangre ingerida por *P. papatasi* es aprox. 0.0003-0.0005 mL de sangre por ingesta, lo cual en teoría significa que un huésped virémico requiere un nivel de virus en sangre al menos de 104 unidades infecciosas por mililitro para infectar un flebótomo que se alimenta ingiriendo sangre (Tesh & Chaniotis, 1975; Tesh, 1988). Estos niveles han sido observados durante la fase temprana de la infección en roedores (Tesh *et al.*, 1986).

Se comprobó también transmisión horizontal del virus, al poner en contacto machos infectados con hembras vírgenes al ser detectado en un 4.5 % de las hembras, indicando transmisión horizontal (probablemente venérea) de los machos transovarialmente infectados (Tesh & Modi, 1987; Tesh *et al.*, 1992). Igualmente, la transmisión sexual es un fenómeno que ya ha sido descrito para otros arbovirus transmitidos por mosquitos y garrapatas (Tesh *et al.*, 1992). Se considera entonces que en vista de su limitado rango de vuelo y su relativamente corta vida de adultos, la transmisión vertical puede ser esencial para la sobrevivencia de los virus (la tasa parece ser menor a 5%), pero aún así es necesaria la presencia de un hospedador vertebrado que amplifique el virus pues sólo la transmisión transovárica y la posible transmisión sexual no son suficientes para mantener el virus en circulación (Tesh *et al.*, 1992).

ESPECIES VECTORAS

El vector es sumamente importante por esta relación de especificidad entre el virus y los artrópodos ya que la aparición del virus se encuentra restringida a la presencia del vector y por tanto a sus características de vida las cuales afectan la epidemiología del virus (Tesh, 1988).

De los 39 serotipos reconocidos para 1988, 25 habían sido aislados en el Nuevo Mundo, siendo éste un posible reflejo de la diversidad de flebotominos de América ya que aproximadamente 360 especies diferentes de *Lutzomyia* spp. han sido descritas para América, mientras que unas 119 de *Phlebotomus* spp. habrán sido reportadas para el Viejo Mundo (Liu *et al.*, 2003).

Es importante resaltar que de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1967) para el reconocimiento de un artrópodo como vector de un virus se debe cumplir con: 1.- Aislamiento de virus de especies colectadas en campo, 2.- Demostración de habilidades del artrópodo para infectarse por medio de alimentación sobre un hospedador vertebrado virémico o una suspensión artificial de virus, 3.- Demostración de habilidades del insecto de transmitir biológicamente por picada, 4.- Acumulación de evidencias de campo confirmando la asociación del artrópodo con el vertebrado en el cual se sospecha que la infección está ocurriendo. Estas condiciones no se han cumplido en su mayoría debido a restricciones de manejo y mantenimiento de los vectores (Tesh, 1988), por lo cual se ha asumido una relación al cumplirse solo dos o tres de las condiciones.

Los vectores repetidamente incriminados son los flebótomos, invertebrados con más de 800 especies conocidas pertenecientes al Phylum Arthropoda, Clase Insecta, Orden Díptera, Familia Psychodidae, Géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*. Estos insectos terrestres tienen un ciclo de vida holometábolo que comienza como huevos, seguido de cuatro estadios larvales terrestres para dar origen a una pupa y por último, la emergencia del adulto. Este ciclo completo toma entre 5-10 semanas dependiendo en gran medida de la especie y la temperatura ambiental (Tesh, 1988; Tesh, 1989; Feliciangeli, 1990). Las larvas se desarrollan alimentándose de materia orgánica en descomposición como hojas muertas y fragmentos de insectos. Se ubican en microhábitats húmedos, sombreados y cálidos como estiércol, madrigueras de animales, cuevas y grietas en rocas (Tesh, 1989). Los flebotominos suelen ser de actividad nocturna o crepuscular y sólo las hembras ingieren sangre, mostrando variación considerable en la preferencia de sus hospedadores. Algunos se alimentan, principalmente, de animales de sangre fría mientras otros se alimentan de mamíferos y/o aves (Tesh, 1988; Tesh, 1989). Ambos sexos de *Lutzomyia* toman azúcares en su dieta alimenticia para la

supervivencia, vuelo y reproducción, aún así además de los azúcares, las hembras necesitan de sangre para iniciar el desarrollo ovárico (Feliciangeli, 1990).

Las moscas flebotominas habitan diversos biotopos que van desde áreas desérticas del Este Medio hasta los bosques lluviosos tropicales de Sur América. Para sobrevivir en zonas templadas o durante períodos de clima adverso como sequías prolongadas en el trópico húmedo o clima frío, algunas especies diapausan como larva de cuarto instar que emergen como adultos una vez que las condiciones óptimas han sido reestablecidas (Tesh, 1989).

En varias áreas del Sur de Europa y Oriente Medio, la temporada de la fiebre del flebótomo coincide con los períodos de actividad de los flebótomos (Braito *et al.*, 1997; 1998b; Sánchez-Seco & Navarro, 2005). En las áreas tropicales, la densidad de población de la mayoría de las especies de flebotominos se incrementa durante o poco después de la temporada de lluvias. De la misma forma, hay una disminución marcada en la abundancia de adultos flebotominos durante períodos de sequía prolongados, pero esto no es una regla (Tesh, 1988; Tesh, 1989).

Existe una marcada diferencia entre las especies del Viejo Mundo y las del Nuevo Mundo respecto a sus hábitos, los cuales afectan la incidencia de la fiebre de flebótomos. Algunos de los virus comúnmente asociados a humanos en el Viejo Mundo son transmitidos por *Phlebotomus papatasi*, *P. perniciosus*, *P. major* y *P. perfiliewi*. Estas especies de flebótomos son peridomésticas en sus hábitos de crianza, fácilmente entran a las casa para alimentarse y son altamente antropofílicas. En el Nuevo Mundo las especies *Lutzomyia trapidoi*, *L. ylephiletor*, *L. flaviscutellata*, *L. umbratilis*, *L. panamensis* y *L. sanguinaria* han sido reportadas como vectores de flebovirus. En contraste, la prevalencia de la infección humana en la mayor parte del llamado Nuevo Mundo es baja, probablemente debido al hecho de que la mayoría de las especies neotropicales son selváticas (Tesh & Chaniotis, 1975; Tesh, 1988; Tesh, 1989; Tesh *et al.*, 1989; Liu *et al.*, 2003).

Algunas especies de flebótomos también presentan autogenia, la cual representa una ventaja de sobrevivencia ya que asegura el mantenimiento de la especie si se da el caso de que el hospedador vertebrado no está disponible (Tesh, 1988; Tesh, 1989).

RESERVORIOS

Actualmente, es aceptado que debe existir la figura del vertebrado reservorio del virus dentro del ciclo de los flebovirus. Sin embargo, no se encuentran afirmaciones respecto a la identidad del reservorio (Tesh, 1988), sólo se hallan diferentes especies de vertebrados casi en su totalidad roedores, donde se han conseguido anticuerpos contra flebovirus (Javadian *et al.*, 1977). La evidencia de circulación de anticuerpos en roedores capturados en la naturaleza sugiere que éstos albergan el virus. En una revisión sero-epidemiológica realizada en Paquistán se encontraron anticuerpos contra flebovirus (Sicilian, Naples, Karimabad y Salehabad) en nueve especies diferentes de roedores, vacas, búfalos, ovejas y cabras (Darwish *et al.*, 1983). Tanto en Brasil como en Trinidad, el virus Pacui fue obtenido de pequeños roedores, así como de *L. flaviscutellata*, capturada en los bosques de Brasil (Aitken *et al.*, 1975). Fueron recuperadas siete cepas del virus Urucuri, todas ellas provenientes de ratas espinosas del género *Proechimys*, obteniendo, una mayor prevalencia en roedores. Estos resultados serológicos ya son un indicio del papel que juegan los roedores en la ecología del agente infeccioso (Travassos da Rosa *et al.*, 1983).

De los animales examinados durante un estudio epidemiológico en Irán, los gerbos (*Rhombomys optimus*) y las ovejas fueron los únicos en los que se encontró evidencia de infección por flebovirus (Saidi *et al.*, 1977).

Por otro lado, se ha comprobado que *Didelphis opossum* luego de ser inoculado presenta una viremia. El virus es detectado los primeros cuatro días post inoculación, con el mayor título presentado de las viremias siendo 105 PFU/mL. (Tesh *et al.*, 1986). Este hecho implica que los títulos requeridos para que los flebótomos adquieran el virus dada la cantidad de su ingesta sanguínea, son posibles de obtener, al menos experimentalmente. Existe la posible participación de otro animal, el murciélago de la especie *Pipistrellus kuhli* ya que se realizó el aislamiento de TOSV del cerebro de un ejemplar (Verani *et al.*, 1988; Verani *et al.*, 1991), aunque no hay evidencia adicional que incrimine esta especie en la ecología del virus.

Eco-Epidemiología de Phlebovirus

La fiebre de flebótomos está ampliamente distribuida, ocurriendo particularmente en aquellas

partes de Asia, Europa y África entre 20° y 45° de latitud (Sabin, 1955; Jennings & Boorman, 1980). La epidemiología del virus, tanto para el Viejo Mundo como para el Nuevo Mundo, está íntimamente asociada con el vector (Tesh, 1989).

Respecto a las áreas de estudio de flebotominos en el Nuevo Mundo, las localidades son rurales, principalmente boscosas y con una elevación hasta 1000 metros (Tesh *et al.*, 1986). Uno de los aislamientos se realizó en áreas cubiertas de plantas de café y altos árboles dispersos los cuales le dan su sombra. Basada en la clasificación de Holdridge esta región es un bosque húmedo subtropical, aunque poco del bosque original permanece debido al uso en agricultura (Tesh *et al.*, 1986), mientras que en el Viejo Mundo, algunas de las villas de estudio están situadas en un amplio plató a una elevación aproximada de 1500 mts. El área tiene un clima desértico continental, muy caliente en verano y bastante frío en invierno, con temperaturas máximas de 45 °C en verano (Tesh *et al.*, 1977).

Existen varios aspectos importantes en la biología de flebótomos que afecta directamente la epidemiología de las enfermedades virales que ellos transmiten, el primero de ellos es la densidad de población (Tesh, 1989). La actividad de los grupos de virus de la fiebre del flebótomo en cualquier región parece estar directamente relacionada con la abundancia de los vectores de la fiebre del flebótomo (Tesh, 1989; Braito *et al.*, 1998b; Sánchez-Seco & Navarro, 2005).

En áreas tropicales húmedas, la densidad de población de la mayoría de las especies de moscas de la arena se incrementa durante o poco después de la temporada de lluvias. De la misma manera, hay usualmente un decrecimiento marcado en la abundancia de los adultos durante periodos de sequía prolongados. En las regiones templadas las formas inmaduras entran en diapausa antes del invierno y la actividad de los adultos prácticamente cesa. Así, en muchas áreas del sur de Europa y el Oriente Medio la temporada de la fiebre de flebótomos ocurre desde mayo hasta septiembre ya que éste es el período de actividad de flebótomos adultos (Tesh, 1989; Feigin & Cherry, 1992).

En un estudio realizado en 360 sujetos (351 hombres y 9 mujeres entre 25-62 años)

ocupacionalmente expuestos (trabajadores en bosques) a una infección por arbovirus les fueron tomadas muestras de suero, colectadas en julio y agosto del año 2000 (Valassina *et al.*, 2003). Estos sujetos de alto riesgo provenientes de tres áreas geográficas de la zona sur de Toscana: Florencia, Siena y Arezzo presentaron en todos los casos un 77.2 % general de sueros positivos para detección de IgG contra TOSV mientras que en sujetos escogidos aleatoriamente el porcentaje de seropositividad fue de 22.7% (Valassina *et al.*, 2003).

Estudios serológicos entre personas que viven en áreas endémicas de la enfermedad indican que la mayoría de los residentes son infectados temprano en la vida. En estas comunidades, casos esporádicos de fiebre de flebotomos ocurren entre los niños porque la población adulta ya es inmune. Sin embargo, dada la naturaleza benigna de la enfermedad, su ocurrencia esporádica y su similaridad a otras enfermedades virales hace que la mayoría de los casos no sean reconocidos.

En contraste, los resultados de investigaciones seroepidemiológicas llevadas a cabo en 1991 en diferentes regiones de Italia sugieren que la circulación del virus de flebotomos de Sicilia y el virus de flebotomos de Nápoles ha sido recientemente interrumpida en el país, probablemente como consecuencia de la reducción del vector (*P. papatasi*) por rociamiento de insecticida (Verani *et al.*, 1991).

Una segunda consideración biológica importante acerca del vector es su preferencia de hospedador (Tesh, 1989). Como otros insectos hematófagos, los flebotominos muestran una variación considerable en la preferencia de hospedador. Es así como se sugiere que *P. papatasi* es un hematófago oportunista y no es altamente antropofílico (Javadian *et al.*, 1977). Una tercera consideración biológica es el rango de vuelo. Los flebotomos son voladores débiles y usualmente se mueven en saltos cortos, raramente viajan más allá de unos metros desde sus sitios de descanso. Esto obviamente limita su rango de vuelo y cuenta en parte para su distribución focal (Tesh, 1989).

Otro factor importante en determinar la competencia del vector de una determinada especie es su escogencia de sitios de descanso, debido a que estos insectos tienen limitada la distancia de vuelo.

Los más importantes vectores de la enfermedad humana son aquellas especies que son antropofílicas o peridomésticas en sus hábitos de descanso (Tesh, 1989).

Aproximadamente 67% de los grupos de virus de flebotomos han sido aislados en las Américas, sin embargo, la infección humana con esos agentes es poco común en esta parte del mundo. La razón probable es que la mayoría de las especies que ingieren sangre humana en el neotrópico son selváticas en sus hábitos de descanso y raramente están en habitaciones humanas (Tesh, 1989).

Para lugares como Irán los flebotomos han sido colectados durante las primeras horas de la mañana en paredes y en grietas oscuras entre edificaciones (Javadian *et al.*, 1977). Asimismo, vectores tales como *P. papatasi* han sido colectados en comunidades rurales que se caracterizan por poseer edificaciones de paredes de adobe, utilizadas para residencia, áreas de almacenamiento y refugios de animales, con amplios patios traseros, con la presencia de animales tales como ovejas, cabras, vacas, mulas, gallinas, palomas y ratas (Javadian *et al.*, 1977).

Entre los virus aislados en el Nuevo Mundo cuyas colectas se han realizado todos los meses del año, los troncos de árboles y el cebo humano han sido utilizados para la captura de flebotomos, tanto machos como hembras en áreas boscosas y en aldeas ubicadas en habitats riparinos a una altura de 400 m snm (Tesh *et al.*, 1989). Los meses en los cuales fueron colectados los especímenes que arrojaron nuevas cepas virales constituye una de las principales diferencias que presentan los flebovirus provenientes del género *Phlebotomus* y el género *Lutzomyia* ya que los períodos de circulación varían de estar restringido a una época del año a poder circular durante todo el año respectivamente (Tesh, 1989; Tesh *et al.*, 1989). Una característica que llama poderosamente la atención es el aislamiento de cepas virales a partir de flebotomos colectados en áreas endémicas de leishmaniasis, principalmente cutánea. Este hecho ha ocurrido tanto en el Nuevo Mundo como en el Viejo Mundo (Javadian *et al.*, 1977; Tesh *et al.*, 1989).

Profilaxis y control de la fiebre del flebótomo

El control general utilizado para arbovirosis consiste en imposibilitar la cría del vector

modificando (ej: uso de larvicidas) o erradicando los sitios de crías del mismo, así como la eliminación del adulto (OPS, 2001). Sin embargo, los sitios de crías de flebotomos son poco conocidos (Felicangeli, 2004), por tanto en general el control es aplicado solo a la fase adulta. En aquellas especies que son antropofílicas, endofílicas y endofágicas, se emplean insecticidas intradomiciliarios (WHO, 2006). En estudios de leishmaniasis han sido aplicados DDT, Lindano, Malation, Dieldrin, presentando el DDT un efecto comprobable sobre la erradicación temporal de las zonas donde se aplica (Sabin, 1955; Scorza & Márquez, 1989; Scorza & Rojas, 1989; Feigin & Cherry, 1992; Alexander & Maroli, 2003; Kishore *et al.*, 2006). La prevención se basa en la utilización de medidas que minimicen el riesgo de exposición a posibles vectores en zonas de riesgo, entre ellas, las más adecuadas son el uso de repelentes de mosquitos y ropas adecuadas que cubran la mayor superficie corporal posible, evitar salidas al exterior en las horas de la tarde, utilizar mosquiteros para dormir y telas metálicas en puertas y ventanas (Feigin & Cherry, 1992; Alexander & Maroli, 2003; MSDS, 2004; Sánchez-Seco & Navarro, 2005).

CONCLUSIONES

Los virus pertenecientes al género *Phlebovirus* fueron estudiados desde mediados del siglo XX, pero la aparición de nuevos virus del grupo cuyo efecto sobre el ser humano puede llegar a originar patologías graves hace que sea necesario el constante monitoreo de los mismos. Especialmente por el cambio de uso de tierra, deforestación, urbanismo y desarrollo agrícola lo que aumenta los riesgos de emergencia y re-emergencia de arbovirus transmitidos por vectores. En el caso particular de los virus del género *Phlebovirus* (grupo Sandfly fever) los estudios realizados indican patrones de distribución geográfica, temporal y espacial íntimamente asociados con el vector, los flebotominos, lo cual concuerda con la epidemiología de la leishmaniasis. La ecología de las especies vectoras incriminadas en la transmisión de flebovirus en el Nuevo Mundo (género *Lutzomyia*) y del Viejo Mundo (género *Phlebotomus*) han sido claves para explicar las diferencias en la epidemiología de los virus en ambas áreas. Se observa mayor incidencia de flebovirus en humanos en el Viejo Mundo en comparación con el Neotrópico, esto se ha atribuido a las diferencias

entre los hábitos de descanso de los vectores, y a las diferencias en la endofilia y antropofilia de las especies incriminadas. La sintomatología inespecífica y cuadros febriles cortos, y similares a otros arbovirus, tales como el virus del Dengue han limitado los estudios de los virus transmitidos por flebotomos en países latinoamericanos, a diferencias de países del Viejo Mundo, en donde los síndromes son más severos. Esto requiere especial atención dado al desconocimiento de la circulación de este tipo de arbovirus, y a sus características epidemiológicas que van desde lo benigno hasta lo severo, similar al virus Dengue donde a causa de una circulación endémica, corta duración de la viremia e infección primaria por un serotipo es comúnmente no considerada por el paciente como un cuadro clínico de atención médica primaria, lo cual trae como consecuencia la circulación de varios serotipos y genotipos del virus que han agravado el cuadro clínico de virus catalogados en un inicio como benignos o poco patogénicos. Por tanto, los aspectos ya resaltados resultan claves en países donde nunca han sido reportados, por la carencia de estudios bases eco-epidemiológicos.

AGRADECIMIENTOS

Subvencion Fonacit S1-2001000923. A Lilian Spencer, Solage Issa, Arelis Lares de Acevedo y Jeannette Vargas por sus valiosos comentarios.

Eco-epidemiology of *Phlebovirus* (Bunyaviridae, *Phlebovirus*) transmitted by *Phlebotomus* (Phychodidae, Phlebotominae)

SUMMARY

Currently, the emergence and re-emergence of new arboviruses are of great importance in public health, the *Phlebovirus* genus (Bunyaviridae) is an important part of this group of viruses constituted at present of 68 serotypes. The infection caused by *Phlebovirus* creates clinically common symptoms of fever, headache, and rarely presents meningitis or meningoencephalitis, known for its symptoms as "*Phlebotomus* fever." These viruses are transmitted mainly by Diptera, Psychodidae belonging to *Phlebotomus* and *Lutzomyia* genera. The population dynamics of *Phlebovirus* indicates that its presence is closely associated with the sites where the vector is distributed in parts of Asia, Africa and Europe between 20° and 45° latitude, as well as in the

Americas associated mainly in the woodlands. The females of this genus are hematophages and capable of transmitting the virus in a transovarian way. The cycle is not limited to the transmission-reservoir host-vector, and coupled with this, the fourth-instar larvae in diapause retain their infectivity. The diagnosis may be made by a variety of molecular and serological techniques for some viruses of this group, but since they are not performed often, many cases are often overlooked.

Key Words: arbovirus, *Phlebovirus*, *Phlebotomus*, *Lutzomyia*, Bunyaviridae, sandfly fever.

REFERENCIAS

- Aitken T., Woodall J., De Andrado A., Bensabath G. & Shope R. (1975). Pacui virus, Phlebotomine flies and small mammals in Brazil; an epidemiological study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **24**: 358-367.
- Alexander B. & Maroli M. (2003) Control of phlebotomine sandflies. *Med. Vet. Entomol.* **17**: 1-18.
- Bartelloni P. & Tesh R. (1976). Clinical and serologic responses of volunteers infected with *Phlebotomus* fever virus (Sicilian type). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **25**: 456-462.
- Beisel W., Herman Y., Sauberlich H., Heman R., Bartelloni P. & Canham J. (1972). Experimentally induced sandfly fever and vitamin metabolism in man. *Am J Clin Nutr.* **25**: 1165-1173.
- Bellanti J., Krasner R., Bartelloni P., Yang M. & Beisel W. (1972). Sandfly Fever: Sequential Changes in Neurophil Biochemical and Bactericidal Functions. *J Immunol.* **108**: 142-151.
- Braitto A., Corbisiero R., Corradini S., Marchi B., Sancasciani N., Fiorentini C. & Ciufolini M. (1997). Evidence of Toscana virus infections without central nervous system involvement: A serological study. *Eur J Epidemiol.* **13**: 761-764.
- Braitto A., Corbisiero R., Corradini S., Fiorentini C. & Ciufolini M. (1998a). Toscana virus infections of the central nervous system in children: A report of 14 cases. *J. Pediatr.* **132**: 144-148.
- Braitto A., Ciufolini M., Pippi L., Corbisiero R., Fiorentini C., Gistri A. & Toscano L. (1998b). *Phlebotomus*-transmitted Toscana Virus Infections of the Central Nervous System: A Seven-Year Experience in Tuscany. *Scand. J. Infect. Dis.* **30**: 505-508.
- Calisher C., McLean R., Smith G., Szmyd D., Muth D. & Laznick J. (1977). Rio Grande – A New *Phlebotomus* Fever Group Virus from South Texas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **26**: 997-1002.
- Ciufolini M., Maroli M., Guandalini E., Marchi A. & Verani P. (1989). Experimental Studies on the maintenance of Toscana and Arbia viruses (Bunyaviridae: *Phlebovirus*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **40**: 669-675.
- Cruz C. (2001). Estandarización de la prueba de Ensayo Inmunoenzimático para la detección de anticuerpos IgG en sueros de humanos para el virus *Phlebotomus* fever. Tesis. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Darwish M., Hoogstraal H., Roberts T., Ghazi R. & Amer T. (1983). A sero-epidemiological survey for Bunyaviridae and certain other arboviruses in Pakistan. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **77**: 446-450.
- Eitrem R., Niklasson B & Weiland O. (1991) Sandfly Fever Among Swedish Tourists. *Scand. J. Infect. Dis.* **23**: 451-457.
- Feigin R. & Cherry J. (1992). Section 17 Viral Infections en: *Textbook of pediatric infectious diseases*. Volumen II. Tercera ed. W. B. Saunders Company. Mexico. pp 1464-1465.
- Feliciangeli M. D. (1990). Actualización sobre aspectos de biología y ecología de *Lutzomyia* spp. en las Americas. Memorias del I Simposio Latinoamericano sobre Biología y Control de Enfermedades Tropicales. *Bol. Dir. Malariol. y San. Amb. Suppl.* **1**: 36-52.
- Feliciangeli M. D. (2004). Natural breeding sites of phlebotomine sandflies. *Med. & Vet. Ent.* **18**: 71-80.
- Fleming J., Bignall J. & Blades A. (1947). Sand-fly fever. Review of 664 cases. *Lancet.* **1**: 443-445.

- Fontenille D., Traore-Lamizana M., Trouillet J., Leclerc A., Mondo M., Ba Y., Digoutte J. & Zeller H. (1994). First Isolations of arboviruses from phlebotomine sand flies in West Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **50**: 570-574.
- Gaidamovich S., Kurakhmedova S. & Melnikova E. (1974). Aetiology of *Phlebotomus* fever in Ashkhabad studied in retrospect. *Acta virol.* **18**: 508-511.
- Gaidamovich S., Baten M., Klisenko G. & Melnikova Y. (1984). Serological studies on sandfly fevers in the Republic of Banladesh. *Acta Virol.* **28**: 325-328.
- ICTVdB Management. 2006. 00.011.0.04. *Phlebovirus*. En: ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. ICTVdB - The Universal Virus Database, version 4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>. Consultado el 30 de Mayo de 2007.
- Javadian E., Tesh R., Saidi S. & Nadim A. (1977). Studies on the epidemiology of sandfly fever in Iran. III. Host-feeding Patterns of *Phlebotomus papatasi* in an endemic area of the disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **26**: 294-298.
- Jennings M. & Boorman J. (1980). The susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva), Diptera, Phlebotomidae, to artificial infection with three viruses of the Phlebotomus fever group. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **74**: 455-461.
- Kishore K., Kumar V., Kesari S., Dinesh D., Kumar A., Das P. & Bhattacharya S. (2006). Vector control in leishmaniasis. *Indian. J. Med. Res.* **123**: 467-472.
- Kuhn J., Bewermeyer H., Hartmann-Klosterkoetter U., Emmerich P., Schilling S. & Valassina M. (2005). Toscana virus causing severe meningoencephalitis in an elderly traveller. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* **76**: 1605-1606.
- Labuda M. (1991). Arthropod vectors in the evolution of Bunyaviruses. *Acta Virol.* **35**: 98-105.
- Liu D. Y., Tesh R., Travassos da Rosa A., Peters C., Yang Z., Guzman H. & Xiao S. (2003). Phylogenetic relationships among members of the genus Phebovirus (Bunyaviridae) based on partial M segment sequence analyses. *J. Gen. Virol.* **84**: 465-473.
- MSDS (2004). Manual para Vigilancia Epidemiológica y Control de la Fiebre Amarilla. pp 44. www.msds.gov.ve/ms/Boletines/MANUAL_FIEBRE_%20AMARILLA%20II_ACTUALIZADO.pdf. Consultado el 10 de Junio de 2007.
- OPS (2001). Marco de Referencia. Nueva Generación de Programas de Prevención y Control del Dengue en las Américas. Programa de Enfermedades Transmisibles. División de Prevención y Control de Enfermedades. Washington, D.C. Octubre. pp 27. www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/dengue-nueva-generacion.htm. Consultado el 10 de Junio de 2007.
- Robeson G., El Said L., Brandt W., Dalrymple J. & Bishop D. (1979). Biochemical Studies on the *Phlebotomus* Fever Group Viruses (Bunyaviridae Family). *J Virol.* **30**: 339-350.
- Sabin A. (1955). Recent Advances in our knowledge of Dengue and Sandfly fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **4**: 198-207.
- Saidi S., Tesh R., Javadian E., Sahabi Z & Nadim A. (1977) Studies on the epidemiology of sandfly fever in Iran. II. The Prevalence of Human and Animal Infection with Five *Phlebotomus* Fever Virus Serotypes in Isfahan Province. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **26**: 288-293.
- Sánchez-Seco M. & Navarro J. (2005). Infecciones por el virus de Toscana, el virus del Nilo Occidental y otros arbovirus de interés en Europa. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **23**: 560-568.
- Schwarz T., Gilch S., Pauli C. & Jäger G. (1996). Immunoblot Detection of Antibodies to Toscana Virus. *J. Med. Virol.* **49**: 83-86
- Scorza J. & Márquez M. (1989). Control de *Lutzomyia youngi* en el área endémica venezolana de leishmaniasis tegumentaria. *Bol. Dir. Malarial. y San. Amb.* **29**: 35-41
- Scorza J. & Rojas E. (1989). DDT acuosa contra *Lutzomyia youngi* en cafetales del estado Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malarial. y San. Amb.* **29**: 42-46.

- Tesh R. & Chaniotis B. (1975). Transovarial transmission of viruses by phlebotomine sandfly. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **266**: 125-134.
- Tesh R., Peralta P., Shope R., Chaniotis B. & Johnson K. (1975). Antigenic Relationships among *Phlebotomus* fever group arboviruses and their implications for the epidemiology of sandfly fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **24**: 135-144.
- Tesh R., Saidi S., Javadian E. & Nadim A. (1977). Studies on the epidemiology of sandfly fever in Iran. I. Virus isolates obtained from *Phlebotomus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **26**: 282-287.
- Tesh R., Peters C. & Meegan J. (1982). Studies on the antigenic relationship among *Phleboviruses*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **31**: 149-155.
- Tesh R., Boshell J., Young D., Morales A., Corredor A., Modi G., Ferro C., Rodriguez C. & Gaitan M. (1986). Biology of Arboledas virus, a new *Phlebotomus* fever serogroup virus (Bunyaviridae: *Phlebovirus*) isolated from sand flies in Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **35**: 1310-1316.
- Tesh R. & Duboise M. (1987). Viremia and immune response with sequential *Phlebovirus* infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **36**: 662-688.
- Tesh R. & Modi G. (1987). Maintenance of Toscana virus in *Phlebotomus perniciosus* by vertical transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **36**: 189-193.
- Tesh R. (1988). The genus *Phlebovirus* and its vectors. *Ann. Rev. of Entomol.* **33**: 169-181.
- Tesh R. (1989). The epidemiology of *Phlebotomus* (sandfly) fever. *Isr. J. Med. Sci.* **25**: 214-217.
- Tesh R., Boshell J., Young D., Morales A., Ferro C., Corredor A., Modi G., Travassos da Rosa A., McLean R., Rodríguez C. & Gaitan M. (1989). Characterization of five new *Phleboviruses* recently isolated from sand flies in tropical America. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **40**: 529-533.
- Tesh R., Lubroth J. & Guzman H. (1992). Simulation of arbovirus overwintering: survival of Toscana virus (Bunyaviridae: *Phlebovirus*) in its natural sand fly vector *Phlebotomus perniciosus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **47**: 574-581.
- Travassos da Rosa A., Tesh R., Pinheiro F., Travassos da Rosa J. & Peterson N. (1983). Characterization of eight new *Phlebotomus* fever serogroup arboviruses (Bunyaviridae: *Phlebovirus*) from the Amazon region of Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **32**: 1164-1171.
- Valassina M., Cusi M. & Valensin P. (1996). Rapid Identification of Toscana Virus by Nested PCR during an Outbreak in the Siena Area of Italy. *J. Clin. Microbiol.* **34**: 2500-2502.
- Valassina M., Valentini M., Valensin P. & Cusi M. (2002). Fast duplex one-step RT-PCR for rapid differential diagnosis of enter or Toscana virus meningitis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **43**: 201-205.
- Valassina M., Valentín M., Pugliese A., Valensi P. & Cusi M. (2003). Serological Survey of Toscana Virus Infections in a High-Risk Population in Italy. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **10**: 483-484.
- Vasconcelos P., Travassos da Rosa A., Rodrigues S., Travasso da Rosa E., Dégallier N. & Travassos da Rosa J. (2001). Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. *Cad. Saúde Pública.* **17 (Supl.)**: 155-164.
- Verani P., Ciufolini M., Caciolli S., Renzi A., Nicoletti L., Sabatinelli G., Bartolozzi D., Volpi G., Amaducci L., Coluzzi M., Paci P. & Balducci M. (1988). Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterization of a new *Phlebovirus* (*Arbiavirus*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **38**: 433-439.
- Verani P., Nicoletti L., Ciufolini M. & Balducci M. (1991). Viruses transmitted by sandflies in Italy. *Parassitologia* (Suppl. 1). **33**: 513-518.
- WHO (1967). Arboviruses and human disease. Report of a WHO scientific group. *World Health Organization Technical Report Series.* **369**: 1-84
- WHO (2006). Control of Leishmaniasis. Executive Board. Report by the Secretariat. 118 th. Session 11 de Mayo. EB 114/4.

Recibido el 03/03/2008
Aceptado el 09/05/2008

Contaminación bacteriológica en los sistemas de distribución de agua potable: Revisión de las estrategias de control

Cristina De Sousa*, María Cristina Colmenares & Angelina Correia

La presente investigación tuvo como propósito un análisis de las estrategias para el control de la contaminación bacteriológica, basado en los factores que afectan el deterioro de los sistemas de distribución de agua potable, así como su influencia sobre la calidad del agua suministrada al consumidor. El sistema de distribución es de vital importancia para establecer la calidad final del agua, siendo las biopelículas que se forman en las paredes de las tuberías la causa de su deterioro. La agrupación de los diferentes microorganismos en colonias se considera como un mecanismo de defensa; estos se benefician de los nutrientes y se hacen fuertes frente a los desinfectantes. Se concluye y se recomienda que como estrategias para controlar la contaminación bacteriológica se debe establecer un programa de mantenimiento en todo el sistema e incluso en los tanques de almacenamiento. También es necesario el control de la corrosión y de los niveles de nutrientes y realizar prácticas apropiadas de desinfección; estas medidas deben ser aplicadas por un personal capacitado, el cual debe mantenerse en constante entrenamiento.

Palabras clave: Red de distribución, agua potable, contaminación bacteriológica.

INTRODUCCIÓN

La presencia de microorganismos en el agua potable y la formación de biopelículas en los sistemas de distribución produce la contaminación bacteriológica. Las biopelículas se forman en las tuberías de los sistemas de distribución cuando las células microbianas se adhieren a las superficies de las tuberías y se multiplican para formar una capa de limo, las cuales son microambientes dinámicos, con procesos tales como metabolismo, crecimiento y formación de productos. La tasa de formación de las biopelículas dependen de las propiedades fisicoquímicas de la interfase, rugosidad de la superficie y los factores fisiológicos de los microorganismos fijados, como: bacterias heterotróficas (coliformes totales y fecales), oportunistas, resistentes a los antibióticos y a los desinfectantes, pigmentadas, hongos, protozoarios y otros invertebrados. (USEPA, 1992).

El crecimiento bacteriano en los sistemas de almacenamiento y distribución de agua potable produce un deterioro del índice de calidad del agua (ICA), modificando su sabor y olor aumentando su turbidez e incluso llegando a afectar su conformidad con las normas microbiológicas de calidad. Además, la película bacteriana formada en las paredes de las tuberías puede reducir la capacidad hidráulica de las mismas, acelerar su corrosión y hacer más difícil el mantenimiento de una concentración residual de desinfectante (Knobelsdorf & Mujeriego, 1997).

Estudios realizados utilizando microscopía electrónica de las tuberías de un sistema de distribución de agua mostraron comunidades complejas de microorganismos. Los investigadores concluyeron que aún cuando las bacterias se desactivan en la planta de tratamiento, algunas células logran sobrevivir y adaptarse a la red de distribución (Allen *et al.*, 1979; Tuovinen *et al.*, 1980; Ridgway & Olson, 1981). Es importante resaltar que el crecimiento de las bacterias en las paredes de las tuberías también puede considerarse como un hábitat para las bacterias potencialmente patógenas (Van der Kooij, 1992).

Universidad de Carabobo. Valencia, Edo Carabobo. Venezuela.

*Autor de correspondencia: cristydsousa@hotmail.com

La presencia de bacterias coliformes en el agua potable representa una amenaza potencial a la salud pública, y esto podría indicar que la desinfección no fue suficiente para eliminar todos los organismos patógenos asociados con los desperdicios de origen humano y animal. La permanencia y posible crecimiento de microorganismos en las tuberías de la red son influenciadas por una variedad de condiciones ambientales, que incluyen las características físicas y químicas del agua, tiempo de operación del sistema, material de la red y la disponibilidad de los sitios aptos para la colonización, los cuales con frecuencia están localizados en secciones de flujo lento, porciones de tubería con agua estancada y áreas de tuberías con actividad corrosiva (USEPA, 1992).

Por lo anteriormente expuesto, es importante conocer cuáles son los factores que afectan el deterioro físico de los sistemas de distribución de agua potable, así como, su influencia sobre la calidad del agua suministrada al consumidor, a fin de poder realizar un mejor control de la estabilidad del agua y del crecimiento de microorganismos en la red, y garantizar que el consumidor obtenga un agua de alta calidad, de acuerdo, a la “Ley Orgánica para la Prestación de los Servicios de Agua Potable y Saneamiento” (Gaceta Oficial N° 5.568, 2001) y a las “Normas Sanitarias de Calidad del Agua Potable” (Gaceta Oficial N° 36.395, 1998), a fin de reducir posibles daños a la salud pública.

Es importante señalar que la Constitución Bolivariana de Venezuela (Gaceta Oficial N° 5.453, 2000), en su Artículo 83, establece que la salud es un derecho social fundamental, obligatorio del Estado, que lo garantizará como parte del derecho a la vida; y en el Artículo 84, se garantiza el derecho a la salud y la prevención de enfermedades, garantizando tratamiento oportuno y de calidad. También cabe mencionar que el Artículo 6 de la “Ley Orgánica para la Prestación de los Servicios de Agua Potable y Saneamiento” (Gaceta Oficial N° 5.568, 2001), garantiza la entrega de agua a los usuarios mediante la utilización de tuberías de agua apta para el consumo humano, incluyendo su conexión y medición, así como los procesos de captación, conducción, almacenamiento y potabilización. Igualmente, las “Normas Sanitarias de Calidad del Agua Potable” (Gaceta Oficial N° 36.395, 1998), en el Capítulo II “De los Aspectos Microbiológicos” y en el Capítulo III “De los Aspectos Organolépticos, Físicos y

Químicos” indican los valores máximos aceptados bajo los cuales deben mantenerse los parámetros de calidad para que el agua se encuentre apta para el consumo humano.

ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN BACTERIOLÓGICA

Después de determinar que existe un problema de biopelículas, el personal responsable del mantenimiento de la red de distribución no debe suponer que todas las coliformes son debido a las biopelículas. Las coliformes en el agua podrían indicar una deficiencia importante en el mantenimiento del sistema de distribución o del tratamiento, y por lo tanto, una amenaza potencial a la salud pública. Si las muestras de agua potable son positivas para coliformes totales, particularmente si el sistema no ha tenido problemas en el pasado, se debería investigar la posibilidad de una ruptura en las tuberías o de conexiones cruzadas. El conocimiento de los factores que contribuyen al crecimiento de las biopelículas ofrece a las empresas abastecedoras de agua potable una ventaja para asegurar que el crecimiento bacteriano esté limitado en el sistema de distribución. La compañía abastecedora puede considerar el establecimiento de un plan para el control de las biopelículas de coliformes antes de que se verifiquen las pruebas positivas (USEPA, 1992). A continuación se describen las estrategias o medidas que deben incluirse en un plan para prevenir y controlar las biopelículas.

PROGRAMA DE MANTENIMIENTO

Enjuague, Limpieza y Desinfección de los Sistemas de Distribución

Un programa de mantenimiento es vital para controlar y prevenir el crecimiento de las biopelículas. El enjuague regular ayuda a distribuir el desinfectante residual por todo el sistema y arrastrar las biopelículas existentes. El enjuague y la limpieza mecánica en las líneas del sistema de distribución pueden ser procedimientos preventivos efectivos, pero podrían no ser suficientes para resolver el crecimiento biológico una vez que el problema ha llegado a ser severo (USEPA, 1992).

Muñoz (2001), de la Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia, resalta que el Método Hidráulico o “Flushing” se utiliza en la limpieza de

las redes de distribución, el cual se realiza dentro de la red con el fin de desprender o controlar la biopelícula, evitando así su desarrollo y adherencia a las superficies de la tubería por medio de la fricción entre el agua y las paredes. Para la realización de este método es preciso conocer el estado y las características de la red de distribución con el fin de determinar las condiciones óptimas de lavado como: velocidades, frecuencia y duración, y de esta manera potenciar la efectividad del método, el cual consta de dos tipos: a) Lavado Convencional, donde se abren las válvulas e hidrantes de un determinado sector sin seguir ningún orden específico. El porcentaje de remoción que se puede alcanzar es bajo, y debido a que no es un proceso esquemático se pueden presentar retornos de flujo a zonas ya lavadas. b) Lavado Unidireccional, el cual sigue un orden con rutas y sectores establecidos. De acuerdo con las velocidades determinadas para el arrastre de sedimentos se hacen los lavados. Para la realización del lavado se operan las válvulas e hidrantes de manera secuencial, de tal modo que el lavado comience en la planta de tratamiento o en un lugar cercano y se empieza a recorrer la red de manera ordenada. El recorrido se hace desde los diámetros mayores hacia los diámetros menores y desde las zonas limpias hacia las sucias para ir evacuando el agua no potable, evitando que ésta se devuelva. Se emplea una velocidad aproximada de 1,8 m/s, para remover la biopelícula, los sedimentos y los tubérculos presentes en la red.

Carvajal *et al.* (2006), también señalan que el Lavado Hidráulico (LH) y el Lavado Hidráulico Unidireccional (LHU) son técnicas disponibles para mejorar la calidad del agua y la capacidad hidráulica del sistema de distribución, quitando la arena, los sedimentos, y la biopelícula de las paredes de la tubería. Las ventajas del LHU con respecto al LH son: se puede llegar ahorrar hasta un 40% de agua y se estandarizan procedimientos para comparar con LHU futuros. El Lavado Hidráulico y en especial el Unidireccional ha mostrado gran ventaja desde el punto de económico y de implementación en campo. La eficacia del LH es inversamente proporcional a la longitud de la tubería, mientras más corta sea ésta las pérdidas de presión son menores, mejorando el resultado del lavado. La duración del LH es variable y particular para cada caso, este termina cuando se alcanzan los parámetros de calidad del agua deseados; además presenta buenos resultados si se realizan periódicamente.

Reyes del Toro & Saldarriaga (2005), destacan que la velocidad del crecimiento y regeneración de las biopelículas es directamente proporcional al diámetro de las tuberías; entre mayor sea el diámetro es menor el esfuerzo cortante y, por lo tanto, las bacterias pueden adherirse con mayor facilidad a la pared interna de la tubería. Luego de un desprendimiento de biopelículas, debido a lavados, la biopelícula continua aumentando su espesor pero no alcanza nuevamente la cantidad de biomasa acumulada antes de dicho evento. La eficiencia de los lavados y el control de las biopelículas a través de lavados sucesivos, demuestran que el lavado con agua a presión es una herramienta efectiva para realizar un mantenimiento rutinario de las redes de distribución.

En otro orden de ideas, cabe destacar que, la American Water Works Association (AWWA, 2002) señala, que cuando se reemplazan secciones viejas en un sistema de distribución, se debe usar el siguiente procedimiento estándar:

- Escoger materiales para unir las tuberías que no sean porosos y usar lubricantes no nutritivos.
- Mantener las nuevas secciones de tuberías, accesorios y válvulas cubiertas mientras estén almacenados para protegerlos de la contaminación de la tierra, escurrimiento y fugas de líneas de agua o cloacas.
- Antes de usar nuevos materiales: Enjuagar todas las tuberías con agua limpia para remover los desechos y tierra visibles. Llenar las tuberías con agua que contenga 50mg/L de cloro libre y dejarla entre 24 a 48 horas. Los niveles de cloro no deben ser menores de 25mg/L durante el período de espera. Realizar las pruebas para coliformes totales y bacterias heterotróficas. Repetir la desinfección hasta que no se detecten las coliformes y que las bacterias determinadas por el método de Conteo de Placas Heterotróficas (CPH) estén por debajo de 500/ml.

Eliminación de Áreas con Bajo Flujo y con Agua Estancada.

La eliminación de áreas con bajo flujo y porciones de tuberías con agua estancada puede mejorar la hidráulica del sistema de distribución, reduciendo de esta manera, la supervivencia de los microbios y formación de biopelículas. Las zonas de estancamiento pueden ser eliminadas empleando válvulas, mientras que las áreas de bajo flujo pueden ser eliminadas recalculando el diámetro y longitud de la tubería. En los sistemas de distribución debe evitarse los aumentos de flujo imprevistos o

disturbios hidráulicos, ya que éstos pueden hacer que las biopelículas acumuladas se desprendan. Se recomienda una presión positiva continua por todo el sistema de distribución (USEPA, 2002a).

Eliminación de las Conexiones Cruzadas y Prevención de Reflujo.

La USEPA (2002b) indica que el reflujo en los sistemas de distribución de agua pública puede ser prevenido eliminando las conexiones cruzadas o protegiendo los suministros de agua potable usando dispositivos y montajes de prevención de reflujo. Como puede suceder con cualquier dispositivo mecánico, los equipos de reflujo pueden deteriorarse y fallar con el tiempo. Los intervalos para realizar las pruebas son anual, semi-anual o basados en el riesgo. Es importante señalar que el mantenimiento de una presión estable y positiva reduce el reflujo. Minimizando los picos de presión a través del uso de bombas de velocidad variable y los procedimientos adecuados de abertura y cierre de válvulas podría reducirse la frecuencia de rupturas en las tuberías principales y de este modo operar preventivamente.

Las acciones correctivas que se deben realizar luego de detectar un incidente (en áreas con bajo flujo, agua estancada y conexiones cruzadas) son: el aislamiento o separación del área contaminada (inutilización temporal del área); notificación pública, si la contaminación ha ocurrido y no pudo ser aislada antes de llegar a los consumidores; enjuague o limpieza del sistema y reemplazo de la línea de tubería, cuando los contaminantes no puedan ser removidos por una limpieza física.

MANTENIMIENTO DE LOS DEPÓSITOS

Para reducir la presencia de patógenos y el desarrollo de biopelículas, las compañías de abastecimiento deben tener un programa planificado para rehabilitar todas las instalaciones de almacenaje de agua. Los tanques de almacenaje y las columnas de regulación deben enjuagarse a presión o limpiarse con vapor, y luego ser desinfectados antes de retornar al servicio, preferiblemente con una solución desinfectante. Las operaciones físicas y procesos químicos apropiados a los tanques de almacenaje también reducen los tiempos de residencia excesivos, los cuales pueden llevar a la supervivencia y crecimiento microbiano y formación de biopelículas. El reemplazo apropiado del agua

en las instalaciones de almacenaje de agua potable elimina las porciones de tubería con agua estancada y puede reducir el desarrollo de las biopelículas, minimizar la disponibilidad de nutrientes y prevenir la acumulación de sedimentos. Para lograr esto las compañías suplidoras de agua realizan instalaciones de válvulas en los sistemas de distribución para reducir el estancamiento y eliminar el almacenaje en exceso (USEPA, 2002a).

CONTROL DE LA CORROSIÓN

Limitando cualquier tipo de corrosión en las tuberías de los sistemas de distribución también se limita el crecimiento de las biopelículas al reducir los números de sitios disponibles para la adherencia de los microorganismos (Le Chevallier *et al.*, 1987). La corrosión se puede monitorear por métodos directos e indirectos. Los métodos directos incluyen: Inspección Física, la observación microscópica y microscópica en el interior de las tuberías proporciona un diagnóstico del grado de la corrosión; Pruebas de Inmersión en el Laboratorio, útil para realizar una evaluación inicial de la eficiencia de los inhibidores; Análisis Químico, indica información sobre el tipo o causa de la corrosión. El monitoreo indirecto podría extraer información de los Reclamos de los Clientes, en cuanto a las características organolépticas del agua; así como también de los Índices de Corrosión, tales como el Índice de Langelier y el Potencial de Precipitación de Carbonato de Calcio, que determinan la estabilidad del agua y la formación de una capa protectora sobre las superficies metálicas de las tuberías, mientras que, el Índice de Ryznar, Corrosión por Riddick y Relación Larson, miden el potencial corrosivo del agua; o de los análisis de las muestras de agua de varios puntos en los sistemas de distribución. Debido a que la corrosión puede ser muy lenta, los métodos de monitoreo indirecto requieren una base de datos acumulada en un largo periodo de tiempo (Letterman, 2001).

Cabe destacar que Mora & Cedeño (2005) realizaron un estudio sobre calidad y corrosión en aguas de las plantas de tratamiento Angostura y Guri del estado Bolívar, donde evidenciaron que las aguas provenientes de los ríos Orinoco y Caroní son corrosivas, lo cual fue comprobado de acuerdo a los valores de los Índices de Langelier & Ryznar para las aguas cruda y tratada en ambas plantas. Conforme a este estudio, se puede inferir que valores bajos de pH y de carbonato en el agua impiden la formación

de incrustaciones protectoras presentándose una tendencia corrosiva (picaduras) en los materiales metálicos. Los valores de las tasas de corrosión para las aguas de la red de ambas plantas pueden relacionarse con los cambios fisicoquímicos y bacteriológicos en los estanques elevados de almacenamiento y redistribución con escaso mantenimiento, la selección del material inadecuado para tuberías y/o la combinación erróneas de materiales, produciendo corrosión en la red.

Se ha demostrado que las medidas para el control de la corrosión tales como el uso de inhibidores químicos (ortofosfatos, polifosfatos y silicatos) y los ajustes de pH aumentan la eficiencia del cloro libre para la desinfección de las biopelículas en las tuberías de hierro. Cabe señalar que la aplicación de polifosfato, ortofosfato de zinc y los ajustes de la alcalinidad y del pH arrojó como resultado un mejoramiento (de 10 a 100 veces) en la desinfección de las biopelículas con el uso de cloro libre. Sin embargo, existe cierto riesgo, ya que las biopelículas simplemente podrían desprenderse y causar la existencia de coliformes si las dosis o tipo de químicos para el control de la corrosión se aplican inapropiadamente. Cuando los químicos para controlar la corrosión se aplican por periodos cortos de tiempo, los efectos no son observados de inmediato. Si la aplicación es continua, se eliminan los medios microbianos y el sistema es capaz de mantener los residuales desinfectantes mas fácilmente (USEPA, 1992).

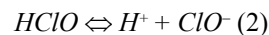
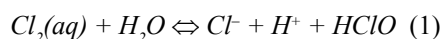
Es importante mencionar que Ríos *et al.* (2008), diseñaron un sistema piloto de distribución para el estudio de la corrosión de las tuberías, destacándose que estos sistemas tienen varias características que permiten su utilización en los estudios actuales y son los reactores mas comúnmente usados para estudios de corrosión. Entre sus ventajas se tienen: las variables que afectan la corrosión pueden ser sistemáticamente controladas y evaluadas; suministran datos acerca de la velocidad de corrosión del material, efectos de fluctuaciones o modificaciones de calidad del agua o tratamientos alternativos. Las variables del sistema piloto se clasifican en tres grupos: las características físicas (material, diámetro y longitud de la sección del ensayo), las hidrodinámicas (configuración de flujo, tiempo de retención, velocidad de flujo y tiempo de estancación) y las técnicas que aseguren la calidad (medición de la calidad del agua y duración de estudio). En los sistemas pilotos de distribución

es importante tener como base los objetivos del estudio para la definición de las variables antes mencionadas.

PRÁCTICAS APROPIADAS DE DESINFECCIÓN

Se debe evaluar cuidadosamente el desinfectante seleccionado para el control de las bacterias que se encuentran en las superficies de las tuberías del sistema. El problema requiere un desinfectante capaz de penetrar la biopelícula e inactivar el ataque de los microorganismos, también debe ser relativamente estable para poder persistir en el sistema de distribución, debe ser puro y no producir productos secundarios peligrosos. Por ultimo, podría necesitarse una alternativa mas estable que el residual de cloro libre (por ejemplo, cloroaminas) para ayudar al control del crecimiento bacterial (Le Chevallier *et al.*, 1988b).

Es importante mencionar que el cloro gaseoso disuelto reacciona con el agua para formar ácido hipocloroso, iones cloruro y protones, como se indica en la reacción 1. El ácido hipocloroso es un ácido débil y se ioniza para formar ion hipoclorito (reacción 2). La suma de las tres especies químicas Cl_2 , $HClO$ y ClO^- , se refieren comúnmente como cloro libre y su concentración se expresa en unidades mg/L como Cl_2 .

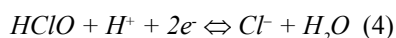
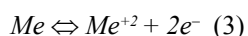


Las cantidades relativas de ácido hipocloroso e ion hipoclorito formado dependen del pH. Por ejemplo, a pH 6 una solución de cloro es aproximadamente 95 % $HClO$, a pH 8 baja a 20 % y cuando el valor del pH es de 7,5 las concentraciones se igualan (Sawyer *et al.*, 2001).

La práctica en los sistemas de distribución que experimentan problemas de recrecimiento de coliformes es mantener altos residuales de cloro libre en todo el sistema para controlar la existencia bacterial. En general, fue necesario el uso de residuales de cloro libre de 3,0 a 6,0 mg/L para controlar el recrecimiento de coliformes. No obstante, se reportó la recuperación de 51 bacterias coliformes/100ml en muestras que contienen entre 10 y 12 mg/L de cloro libre. Si los residuales mas altos no son eficientes;

o si los residuales efectivos no se pueden mantener por todo el sistema de distribución, el servicio debe considerar el uso de un desinfectante alternativo. Algunas compañías de la industria del agua han notado que aplicando un segundo desinfectante tal como un residual de cloro combinado justo antes de que el agua entre al sistema de distribución puede controlar efectivamente los niveles de las bacterias en el sistema. Aunque no hay desinfectante perfecto, recientes investigaciones han sugerido que la monocloroamina puede ser mas efectiva para el control de las biopelículas que el cloro libre. Los resultados de estudios mas recientes sugirieron que se puede lograr el control de las biopelículas usando cloroamina en el rango de 2,0 a 4,0 mg/L (USEPA, 1992). Le Chevallier *et al.* (1990b) indicaron que fue necesario un residual de monocloroamina de 2,0 mg/L para inactivar el ataque de las bacterias. En la práctica la concentración mínima variará dependiendo de la calidad del agua y características de la tubería.

Cabe señalar que la USEPA (2002a), indica que entre las razones para la desinfección secundaria están la inactivación de coliformes y patógenos, que entran a través de las conexiones cruzadas y rupturas en las líneas; y la supresión del crecimiento bacterial y biopelículas en las áreas de agua estancada. El nivel de Carbono Orgánico Asimilable (COA), el tipo y concentración del desinfectante, temperatura del agua, material de la tubería y la hidráulica del sistema son factores que influyen en la concentración del desinfectante en la red de distribución; y por tal razón la prevención del crecimiento y supervivencia de patógenos requiere de una atención estricta del desinfectante residual en todo el sistema. La existencia de corrosión en las tuberías disminuye la cantidad de cloro residual y en consecuencia la penetración de éste a las biopelículas, debido a que se producen reacciones entre los residuales y los productos de la corrosión, puesto que en la tubería (metálica) ocurre la reacción de oxidación la cual esta acoplada con la reducción de un agente oxidante, como las especies de cloro disuelto (reacciones 3 y 4).



A medida que baja el pH (aumenta la concentración de iones hidrogeno H^+) se favorece la reacción de reducción, lo cual requiere del flujo de

electrones de la superficie metálica, ocasionando su oxidación (Sawyer *et al.*, 2001).

Los tipos de cloroaminas presentes también influyen en su efectividad, siendo las monocloroaminas menos efectivas que las dicloroaminas, pero mas efectivas que tricloroamina. Las monocloroaminas son mas ampliamente usadas, mientras que las dicloroaminas tienen una intensidad mas baja de olor, son mas corrosivas y disminuye en predominancia a valores de pH de 7 – 8. Wolfe *et al.* (1985) encontraron que ni los residuales de cloro ni los de cloroaminas solos fueron capaces de controlar el desarrollo de las biopelículas, sin embargo, cuando éstos fueron combinados si lograron controlarlas.

CONTROL DE LOS NIVELES DE NUTRIENTES

El control de los niveles de nutrientes disponibles para el crecimiento bacterial es la forma mas directa de resolver los problemas de las biopelículas, aunque desafortunadamente, también es el mas difícil. Para controlar los nutrientes bacteriales, los servicios deben adoptar nuevas técnicas de tratamiento y monitoreo. Al reducir el COA en el agua potable, existe doble ventaja: la limitación del crecimiento bacterial y menor consumo de cloro residual en las reacciones químicas laterales con los compuestos orgánicos (Van der Kooij, 1990); ya que la materia orgánica y el cloro libre reaccionan para producir subproductos clorados orgánicos, como trihalometanos (THM) que son de preocupación por sus potenciales efectos sobre la salud. Los THM originados incluyen el cloroformo ($CHCl_3$), el bromodiclorometano ($CHBrCl_2$), el clorodibromometano ($CHClBr_2$) y el bromoformo ($CHBr_3$), todos ellos volátiles. La USEPA ha establecido como valor máximo permisible para la sumatoria de los cuatro THM más importantes un valor 80 mg/L. De hecho, se ha observado una asociación positiva entre la concentración de los productos de la cloración y el riesgo de cáncer de vejiga, colon y recto. Algunos THM, como los que contienen cloro y/o bromo, son cancerígenos y/o teratógenos en bioensayos con animales (Sarmiento *et al.*, 2003).

Una forma de reducir los niveles de COA en el agua es a través del uso de filtros de carbón activado. El carbón activado granulado (CAG) y carbón activado en polvo (CAP) son partículas porosas que adsorben y retienen los contaminantes orgánicos.

Los filtros mixtos de CAG y de arena pueden ser mas efectivos para reducir los niveles de COA que los filtros solamente de arena. Esto es probablemente debido a que el CAG tiene una gran área superficial para soportar el crecimiento biológico y adsorber substratos orgánicos (Van der Kooij, 1990).

Charnock & Kjonno (2.000) reportaron que los filtros de CAG/arena (41cm de CAG sobre 61cm de arena) se desempeñaron mejor que los filtros de arena solamente; ya que tuvieron mejor remoción de la turbidez, mayor duración, menos uso de energía, mayor actividad biológica y fueron menos afectados por los cambios en la temperatura del agua. Aunque estos filtros de doble medio no fueron tan efectivos para la remoción del COA como los sistemas que usan un filtro de arena seguidos por un filtro de CAG, los investigadores concluyeron que los filtros mixtos de CAG/arena son una alternativa más práctica y económica que dos filtros en serie.

USEPA (1992) reporta que la adición de CAP en un reactor de colchones de cieno (reactor en el cual se combinan la coagulación, floculación y sedimentación) se correlacionaba con los niveles mas bajos de COA. Permitir que los microorganismos se adhieran al CAP, produciendo un colchón de cieno “activado biológicamente”, podría reducir aun mas los niveles de COA.

Por otra parte, USEPA (1992) señala la comparación de los efectos del uso del ozono, cloro libre, residual de cloro neutralizado usando tiosulfato de sodio, monoclороamina y la ausencia de predesinfectante sobre la efectividad de los filtros de CAG/arena usados para la remoción del COA. Estos resultados sugieren que muchos filtros de CAG operados convencionalmente podrían ya estar logrando una buena remoción de COA. La preozonación incrementó los niveles de COA en el agua a un promedio de 2,3 veces y los niveles de COA en los efluentes de los filtros siempre resultaron aumentados en relación con el agua no ozonizada. Debido a que el CAG puede rápidamente neutralizar el cloro libre, la aplicación de éste a los filtros de CAG no inhibieron la actividad biológica en el agua. La aplicación de cloroaminas a los filtros de CAG demostró un efecto inhibitorio relativo al cloro libre, y la estabilidad de los residuales de cloroamina permitieron que apareciera un desinfectante residual en el efluente del filtro.

Los niveles de bacterias, determinados por el método de CPH, en los filtros precloraminados fueron 10 veces menores que los valores de colonias encontradas en los filtros preclorinados o preozonados. El tiempo de contacto de los lechos vacíos, o el periodo de tiempo que cada volumen de agua permanece en contacto con el adsorbente, es otra variable a considerar cuando se usa carbón activado biológicamente. LeChevallier *et al.* (1987) reportaron que con un tiempo de contacto de 5 a 10 minutos fue suficiente para reducir la concentración del COA en el agua sin tratar preozonada de un nivel por encima de 450mg/L a un nivel menor de 100mg/L. La USEPA (2002a) menciona que las coliformes y los patógenos oportunistas pueden estar asociados con las partículas de CAG desprendidas de los filtros de CAG. Los procesos de filtración con CAG y CAP requieren un control cuidadoso, así como también un monitoreo cauteloso de la aparición de las partículas de CAG que contienen organismos.

OTROS PUNTOS RELACIONADOS CON EL CONTROL DE LAS BIOPELÍCULAS

Entrenamiento y Mejoramiento del Personal.

La capacidad técnica y el nivel de conocimiento del operador de la planta de tratamiento de agua es muy importante para el éxito de su funcionamiento. Los operadores deben ser responsables de: la protección de la salud pública, mantenimiento del sistema de distribución y del bombeo de las fuentes de agua, calidad del agua de acuerdo a las pruebas y al monitoreo, determinación de las fuentes de contaminación y aplicación de métodos para la eliminación de esas fuentes, realización de los procedimientos de emergencia, llevar archivos y reportes según las regulaciones estatales y nacionales (USEPA, 1992).

Aplicación de la Mejor Tecnología Disponible.

Las Mejores Tecnologías Disponibles (MTDs) son seleccionadas por la EPA, basándose en la efectividad para la remoción o tratamiento de los contaminantes y su eficacia en el cumplimiento de las regulaciones. Las MTDs son propuestas con el Nivel Máximo de Contaminante (NMC) para cualquiera de ellos. Bajo la Regulación de Coliformes Totales, las MTDs para el control de coliformes en el agua potable incluyen: 1.- Protección de las fuentes de la contaminación de coliformes a través de la ubicación y construcción apropiadas de las mismas.

- 2.- Mantenimiento de un residual de desinfección de al menos 0,2 mg/L en todo el sistema de distribución.
- 3.- Mantenimiento apropiado del sistema de distribución incluyendo reparación y reemplazo de la tubería, operación de programas de lavado de las tuberías principales de agua, operación y mantenimiento apropiados de los depósitos y tanques de almacenaje y el mantenimiento de una presión de agua positiva continua en todas las partes del sistema.
- 4.- Filtración y/o desinfección del agua superficial según la Reglamentación del Tratamiento de Aguas Superficiales, o desinfección del agua subterránea.

Estas técnicas fueron escogidas por la EPA ya que tienen la capacidad de cumplir con los NMC para coliformes totales. Las MTDs anteriormente mencionadas podrían no ser adecuadas para resolver presencia de coliformes en sistemas con problemas de biopelículas. Una vez que todas las MTDs están instaladas, el servicio podría controlar las variaciones de los NMC por coliformes totales. El plan de control de las biopelículas, en efecto se convierte en la MTD para ese sistema (USEPA, 1992).

Monitoreo Efectivo

Contempla los siguientes tópicos:

- a)** Frecuencia del Muestreo. El análisis de los requerimientos del monitoreo para el cumplimiento bacteriológico con las regulaciones involucra un estudio de la existencia de coliformes en un lapso de tiempo específico. Tales datos pueden ser obtenidos de las pruebas bacteriológicas convencionales usando una prueba de presencia / ausencia (P/A), el método de filtro de membrana o el procedimiento de fermentación en tubos múltiples. Cualquier conteo de coliformes o resultado positivo es interpretado como una existencia de coliformes en la muestra. Cuando la prueba P/A excede el 5%, se necesita un monitoreo mas intenso del sistema y es obligatorio realizar una búsqueda de coliformes fecales o *E. coli* para ubicar cualquier evento fecal contaminante que pudiera estar encubierto por la presencia de bacterias coliformes de la biopelícula (Letterman, 2001).
- b)** Selección del Sitio de Muestreo. La estrategia para la selección de un sitio de muestreo debe incluir el diseño de un programa de muestreo para monitorear todas las partes del sistema de distribución. Indistintamente del tamaño del sistema, un porcentaje de muestras debe ser recolectado en ciertos puntos establecidos, tales como: las estaciones de muestreo construidas en la red de tuberías, estaciones de

bombeo, tanques de almacenaje y en los sitios con un historial de presencia de coliformes. Otros sitios deben ser seleccionados al azar en todo el sistema (Letterman, 2001).

c) Selección de la Prueba Bacterial. La selección de pruebas bacteriales para la calidad del agua distribuida puede considerar tres enfoques diferentes, los cuales son: a) prueba de rutina para el cumplimiento del estándar de coliformes, b) inspecciones estacionales para el crecimiento microbiano en las tuberías y c) protocolos investigativos especiales para verificar la contaminación fecal o desarrollo de biopelículas. La prueba de coliformes totales ha sido la prueba bacterial tradicional. En consecuencia, la ausencia de coliformes es una medida indirecta o indicador del riesgo de la salud pública. La revelación de coliformes en las muestras del suministro de agua puede ser realizada por alguno de los siguientes procedimientos de laboratorio: Procedimiento de fermentación de tubo-múltiple, Método de filtro de membrana o Prueba de medio cromogenico. Todos los procedimientos pueden ser configurados para proporcionar un conteo por cada 100ml o una determinación de presencia – ausencia (Letterman, 2001).

d) Interpretación de los Resultados. Cuando las coliformes son detectadas, los hallazgos del laboratorio se deben verificar por los procedimientos descritos en los Métodos Estándares. Posteriormente, se debe solicitar otra muestra del mismo sitio, e incluso aguas arriba y aguas abajo para una repetición de los análisis de coliformes y confirmar si aún existe el evento de contaminación. Los resultados positivos de coliformes subsiguientes deben activar una investigación en los protocolos del tratamiento y en las actividades del manejo de la distribución del agua para buscar la causa de la contaminación. El método de CPH suministra una medida general de la calidad bacterial del agua en el sistema de distribución y puede llegar a ser un signo anticipado del crecimiento microbiano en las paredes de las tuberías del sistema de distribución y en los sedimentos. Las medidas de CPH para las muestras de la distribución pueden ser usadas para monitorear la calidad del agua durante los periodos de ajuste o modificación del proceso de desinfección (Letterman, 2001).

CONCLUSIONES

La formación de las biopelículas causa deterioro en los sistemas de distribución de agua potable, específicamente en las tuberías y tanques

de almacenamiento. Para detectar los problemas de contaminación bacteriológica en las redes de distribución se sugiere una evaluación periódica de bacterias coliformes en diferentes secciones del sistema y de esta manera controlar la calidad de agua potable y en consecuencia reguardar la salud pública. El desarrollo bacteriano depende de la disponibilidad de carbono orgánico asimilable y de nutrientes inorgánicos, de la eficiencia del desinfectante residual, de la temperatura y pH del agua, del tiempo de permanencia del agua en las tuberías y depósitos así como también de las características hidráulicas del sistema.

Como estrategias para el control de la contaminación bacteriológica se recomienda la implantación de un plan para controlar las biopelículas, el cual contempla un programa de mantenimiento, control de la corrosión, prácticas de desinfección, mantenimiento de los depósitos y el control de los niveles de los nutrientes. En el programa de mantenimiento se sugiere mantener una presión positiva en todo el sistema, evitar las conexiones cruzadas, realizar lavados sistemáticos de rutina e incluso limpiezas mas profundas en las tuberías cuando éstas lo ameriten, realizar las pruebas de coliformes totales y bacterias heterótrofas, eliminar áreas con bajo flujo y extremos muertos, entre otros. También cabe resaltar que las Mejores Técnicas Disponibles (MTDs), determinadas por la EPA, son con la finalidad de remover o tratar los contaminantes, las cuales se basan en el Nivel Máximo de Contaminante (NMC) presentes.

Bacteriological contamination of the drinking water distribution systems: revision of control strategies

SUMMARY

The purpose of this investigation was an analysis of the strategies employed to control bacteriological contamination, based on the factors that affect the deterioration of the drinking water distribution systems, as well as their influence on the quality of the water supplied to the consumers. The distribution system is of vital importance to establish the final quality of the water and the biofilms that form on the tube walls are the cause of their deterioration. The grouping of different microorganisms in colonies is considered a defense mechanism; these

colonies benefit from the nutrients and develop resistance to disinfectants. The conclusion and the recommendation is that a maintenance program covering the complete system, including the storage tanks, must be established as a strategy for controlling bacteriological contamination. It is also necessary to control corrosion and the level of nutrients and to perform adequate disinfection procedures; these measures must be applied by constantly trained personnel.

Key Words: Distribution network, potable water, bacteriological contamination.

REFERENCIAS

- AWWA (2002). With assistance from Economic and Engineering Services, Inc. Finished Water Storage Facilities. [On-line]. Consultado en: [http:// www.google.com](http://www.google.com)
- Allen M., Geldreich E. & Taylor R. (1979). *The occurrence of microorganisms on water main encrustations*. Proceedings of the Water Quality Technology Conference, Philadelphia. PA. American Water Works Association, Denver, CO.
- Carvajal L., Gómez A. & Ochoa S. (2006). Simulación de un Lavado Hidráulico en Tuberías para el Control del Crecimiento de Biopelícula. *Dyna Rev. Fac. Nac. minas*. **74**: 63-72.
- Charnock C. & Kjonno O. (2000). Assimilable Organic Carbon and Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Norwegian Raw and Drinking Waters. *Wat. Res.* **34**: 2629-2642.
- Gaceta Oficial de la República de Venezuela. Año CXXV-Mes V. N° 36.395. Decreto MSAS N° SG-018-98. Normas Sanitarias de Calidad de Agua Potable (1998). Capítulo II. Art. 8 hasta 13. Capítulo III. Art. 14, Caracas. Disponible en: <http://www.defensoria.gov.ve>
- Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 5.453. Extraordinaria (2000). Constitución de la República Bolivariana de Venezuela. Capítulo V. Art. 83,84, Caracas, 97 pp. Disponible en: <http://www.defensoria.gov.ve>.
- Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 5.568. Extraordinario (2001). Ley

- Orgánica para la Prestación de los Servicios de Agua Potable y de Saneamiento, Caracas. Disponible en: <http://www.defensoria.gov.ve>.
- Knobelsdorf J. & Mujeriego R. (1997). Crecimiento Bacteriano en las Redes de Distribución de Agua Potable: Una Revisión Bibliográfica. *Ingeniería del Agua*. **4**: 17-28.
- Le Chevallier M., Babcock T. & Lee R. (1987). Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 2714-2724.
- Le Chevallier M., Cawthorn C. & Lee R. (1988b). Inactivation of biofilm bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 2492-2499.
- Le Chevallier M., Lowry C. & Lee R. (1990b). Desinfection of biofilms in a model distribution system. *J. AWWA*. **82**: 87-89.
- Letterman R. (2001). *Water Quality and Treatment*. 5th edition. Ed. McGraw-Hill, INC., New York.
- Mora V., Cedeño J. & García A. (2005). Calidad y Corrosión en Aguas de las Plantas de Tratamiento Angostura y Guri del Estado Bolívar, Venezuela. *Bol. Malariol. y Sal. Amb.* **45**: 127-137.
- Muñoz L. F. Velocidad de Desprendimiento de las Biopelículas en Tuberías de Distribución de Agua Potable. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. [On-line]. Consultado en: <http://www.googole.com>
- Reyes del Toro P. & Saldarriaga J. (2005). Comportamiento de Biopelículas luego de Lavados Sucesivos en Tuberías de Agua a Presión. *Revista de Ingeniería. Universidad de los Andes*. **22**: 142-150.
- Ridgway H. & Olson B. (1981). Scanning electron microscope evidence for bacterial colonization of a drinking water distribution system. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**: 274-287.
- Ríos J., Calderón J., Echeverría F. & Peñuela G. (2008). Diseño de un Sistema Piloto para el Estudio de la Corrosión del Material de Tuberías y su Contribución en el Deterioro de la Calidad del Agua Potable. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*. **43**: 102-113.
- Sarmiento A., Rojas M., Medina E., Olivet C. & Casanova J. (2003). Investigación de Trihalometanos en Agua Potable del Estado Carabobo. *Venezuela. Gac. Sanit.* **17**: 137 – 143.
- Sawyer C., McCarty P. & Parkin G. (2001). *Química para Ingeniería Ambiental*. (4ª ed.) McGraw-Hill Interamericana, S. A. Bogotá, Colombia.
- Tuovinen O., Button K., Vuorinen A. Carson L., Mair D. & Yut L. (1980). Bacterial, chemical and mineralogical characteristics of tubercles in distribution pipelines. *J. AWWA*. **72**: 626-635.
- USEPA (1992). Control of Biofilm Growth in Drinking Water Distribution Systems. EPA/625/R-92/001. Office of Research and Development, Washington, DC. [On-line]. Consultado en: <http://www.epa.gov>
- USEPA (2002a). Health Risks from Microbial Growth and Biofilms in Drinking Water Distribution Systems. [On-line]. Consultado en: <http://www.epa.gov>
- USEPA (2002b). Potential Contamination Due to Cross-Connections and Backflow and the Associated Health Risks. EPA's Office of Ground Water and Drinking Water. [On-line]. Consultado en: <http://www.epa.gov>
- Van der Kooij D. (1992). Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth. *J. AWWA*. **84**: 57-65
- Van der Kooij D. (1990). Assimilable organic carbon (AOC) in drinking water. *Drinking Water Microbiology* Springer-Verlag, New York.
- Wolfe R., Ward N. & Olson B. (1985). Inactivation of heterotrophic bacterial populations in finished drinking water by chlorine and chloramines. *Water Res.* **19**: 1393-1403.

Recibido el 03/06/2007
Aceptado el 28/04/2008

Artículos Originales //

Disposición farmacocinética de las especies de antimonio en perros después de una dosis de antimoniato de meglumina (Glucantime®)

Laura Vásquez de Ricciardi^{1,2,*}, Nelson Vicuña-Fernández¹, Yaneina Petit de Peña³, Sabrina López³, José V. Scorza², José V. Scorza-Dager², Elsy Villegas^{1,2} & Belén Pérez⁴

Se estudiaron los parámetros farmacocinéticos de las especies de antimonio (pentavalente y trivalente) presentes en el antimoniato de meglumina (Glucantime®), en cuatro perros sanos, después de la administración subcutánea de una dosis única de 90 mg/kg⁻¹. Las muestras sanguíneas fueron analizadas por espectroscopia de absorción atómica. Después de la administración de Glucantime®, el antimonio pentavalente mostró un decaimiento en dos fases, la vida media de eliminación fue de 13,18 h, el volumen aparente de distribución de 30,65 Lkg⁻¹, el área bajo la curva (0-24h) 48,25 µg.h mL⁻¹ y el área bajo la curva (0-∞) µg.h mL⁻¹. Mientras que el antimonio trivalente mostró una fase bien distinguida, con una vida media de eliminación de 16,10 h, un volumen aparente de distribución de 126,5 Lkg⁻¹, valores de el área bajo la curva (0-24h) 10,35 µg.h mL⁻¹ y el área bajo la curva (0-∞) 17,35 µg.h mL⁻¹. El porcentaje de conversión sistémica de antimonio pentavalente hacia antimonio trivalente a las 24 horas fue de 23,62%. A pesar del reducido tamaño de la muestra, los resultados obtenidos presentan desigualdad en la farmacocinética de las especies de antimonio en perros, estas podrían explicar, al menos parcialmente, las diferencias en la eficacia terapéutica atribuidas a las especies por separado.

Palabras clave: Glucantime®, farmacocinética, disposición, SbV, SbIII, perros.

INTRODUCCIÓN

Las leishmaniasis en el Nuevo Mundo son causadas por protozoarios parásitos del género *Leishmania*, pertenecientes a los subgéneros *Leishmania* y *Viannia*. La afección canina se comporta como una severa enfermedad zoonótica, con pronóstico reservado, porque es muy resistente a la terapia y la mayoría de los perros infectados sufren recaídas durante los dos años

siguientes después de la infección inicial (Valladares *et al.*, 1996; 2001). Los antimoniales pentavalentes permanecen en el ámbito terapéutico como droga de elección, a pesar de los reportes de toxicidad y falla terapéutica, sin olvidar la amplísima variabilidad individual a la respuesta, condicionada por diferencias inmunológicas, fisiológicas, nutricionales, genéticas y de orden farmacocinético/farmacodinámico (distribución y acumulación de la droga en el hospedero / exposición de los parásitos a dosis sub-inhibitorias).

Los datos acerca del tratamiento de esta enfermedad en perros son limitados, el tratamiento usual consiste en 2 o 3 regímenes de tratamiento de 10 a 15 días, separados por un intervalo de descanso de 10 días.

Los estudios farmacocinéticos desarrollados en perros con el antimoniato de meglumina Glucantime®

¹ Laboratorio de Farmacología, Escuela de Medicina Extensión Valera, Venezuela.

² Instituto de Investigaciones Parasitológicas "José Witremundo Torrealba" NURR Trujillo, Venezuela.

³ Laboratorio de Espectroscopia Molecular. Facultad de Ciencias Mérida. Universidad de Los Andes, Venezuela.

⁴ Servicio de Análisis de Fármacos. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra, España.

*Autor de correspondencia: lauravas@ula.ve

(una mezcla compleja que se encuentra en equilibrio en solución acuosa) (Tassi *et al.*, 1994; Belloli *et al.*, 1994; Goodwin 1995; Valladares *et al.*, 1998, 2001; Roberts *et al.*, 1998; Belloli *et al.*, 1999) han reportado exclusivamente la disposición del antimonio pentavalente, a pesar de que el antimonio trivalente se considera mas activo y tóxico que la forma pentavalente (Frézard *et al.*, 2001). Los antimoniales pentavalentes relativamente atóxicos actúan como pro fármacos que son reducidos a la especie trivalente mas toxica y eficaz pues destruye los amastigotes dentro de los fagolisosomas macrofágicos. Tal reducción surge preferentemente en la etapa de amastigote intracelular, en fecha reciente se identificó una enzima, la reductasa de AsV con capacidad de reducir SbV a la forma SbIII. La hiperexpresión de dicha enzima en los promastigotes incrementó su sensibilidad a los fármacos (Zhou *et al.*, 2004).

Después de la administración intramuscular en humanos, se han encontrado que los datos son descritos adecuadamente con un curva de tres fases exponenciales, una fase de absorción rápida con una vida media $t_{1/2\alpha} = 0,85$ horas, y dos fases durante las cuales la concentración de antimonio disminuye con $t_{1/2\beta} = 2$ horas y $t_{1/2\gamma} = 76$ horas (Chulay *et al.*, 1988). La excreción es principalmente urinaria y más del 80% de la droga es excretada en las primeras 6 horas (Rees *et al.*, 1980). Chakravarti & Sen Gupta (1950) encontraron que aproximadamente $\frac{3}{4}$ del antimonio era excretado en 12 horas y que en 24 horas mas del 80% había sido eliminado. Pequeñas cantidades de antimonio fueron excretadas hasta 48 horas después de su administración.

En perros, el porcentaje de antimonio excretado durante las primeras 6 horas, alcanzó el 93% de la dosis después de la administración intravenosa y el 90% después de la administración intramuscular (Tassi *et al.*, 1994). Los mismos autores encontraron las siguientes vidas medias $t_{1/2iv} = 20,5$ min, $t_{1/2im} = 42,1$ min y $t_{1/2sc} = 126,6$ min. Después de la administración intramuscular la máxima concentración se alcanzó después de 90 a 129 minutos, y después de la administración subcutánea esta se alcanzó entre los 210 y 240 minutos.

Con el presente trabajo investigamos el perfil farmacocinético del antimonio pentavalente SbV y del antimonio trivalente SbIII, después de una dosis única de 90 mg.kg⁻¹ administrados por vía subcutánea a perros sanos. Adicionalmente, determinamos la cantidad de antimonio pentavalente que puede ser sometido a reducción hacia la forma trivalente después de 24 horas de administración.

La definición del perfil farmacocinético de las especies de antimonio en perros podría sugerir un mejor protocolo terapéutico para la dosis, el intervalo de administración y la duración de la terapia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fármacos

Glucantime® Specia Rhone-Poulenc Rorer Francia (ampollas 5mL con 1,5 g de N-metilglucamina 427,5 mg SbV)

Animales

Se emplearon 4 perros (*Canis familiares*) sanos (hembras) de dos años aproximadamente y peso 15 kg. Previo al tratamiento, los animales fueron sometidos a evaluación veterinaria y soporte nutricional durante cuatro semanas. Tres días previos al inicio de las prueba se les practicó pruebas hematológicas y química sanguínea con el fin de determinar los valores hematimétricos habituales, funcionalismo hepático, renal, glicemia y análisis coproparasitológico. El Comité de Bioética del Centro de Investigaciones Parasitológicas de la Universidad de Los Andes aprobó los procedimientos aplicados en este estudio.

Diseño Experimental

Los animales fueron inyectados con una dosis única subcutánea en la región prescapular de 90 mg kg⁻¹, equivalente a 25,65 mg antimonio kg⁻¹). Se colectaron muestras de sangre completa (2mL) de la vena braquial a las 0,25 - 0,75 - 1 - 2 - 4 - 8 - 12 - 24 horas después de la administración de la droga. Las muestras se almacenaron a 4°C hasta su análisis.

Métodos Analíticos

La concentración de SbV y SbIII se determinó en muestras de sangre completa liofilizada mediante espectroscopia de absorción atómica, empleándose un sistema combinado de inyección en flujo con generación de hidruros y espectroscopia. Los limites de detección (tomando tres veces la desviación estándar relativa al blanco) fueron de 1,02 y 0,58 µg L⁻¹ para antimonio trivalente y antimonio pentavalente (Petit de Peña *et al.*, 2001).

Análisis farmacocinético

Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos: la constante de absorción (K_a), el área bajo la curva versus tiempo (AUC_{0-24}), la cual fue calculada usando la regla trapezoidal en el intervalo

de 0-24 h, el área bajo la curva de concentración versus tiempo desde 0 a infinito ($AUC_{0-\infty}$), la vida media ($t_{1/2}$) determinada como $\ln 2/\beta$, donde β es calculada a partir de la pendiente de la línea de regresión lineal, la constante de eliminación (K_{el}), el volumen aparente de distribución ($Vd_{\text{área}}$) calculado mediante la fórmula $Dosis/AUC \times \beta$. La concentración máxima observada (C_{max}) y el tiempo en que se alcanzó la máxima concentración plasmática (T_{max}) fue calculado directamente a partir de las curvas individuales.

Análisis Estadístico

Se determinaron las curvas de concentración plasmática versus tiempo para cada animal, y los valores alcanzados se analizaron usando un modelo no compartimental basado en la teoría de momento estadístico (Wagner, 1993) y el Programa computarizado PK Solutions versión 2.0 software (Farrier, 1977). Las diferencias en los parámetros farmacocinéticos de las especies de antimonio se analizaron estadísticamente usando la prueba de Wilcoxon, una prueba no paramétrica. Se consideró significativo a todo valor de $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

La Tabla I muestra las concentraciones plasmáticas promedio de SbV y SbIII y su respectiva desviación estándar, observadas después de la admi-

nistración de Glucantime® entre 0,25 y 24 horas en perros, la concentración promedio del antimonio pentavalente fue de 6,94 $\mu\text{g/mL}$, similar a la concentración pico (7,25 $\mu\text{g/mL}$), detectada 2 horas después de la inyección a (rango 1 a 4 horas), las concentraciones máximas alcanzadas en los cuatro animales estuvieron entre 2,14 y 12,71 $\mu\text{g/mL}$. Para el antimonio trivalente la concentración máxima fue de 0,62 $\mu\text{g/mL}$, alcanzada en 4,0 horas, rango entre 0,25 a 12 horas, las concentraciones pico para los cuatro animales estuvieron entre de 0,54 y 1,03 $\mu\text{g/mL}$.

La Tabla II presenta la conversión sistémica de antimonio pentavalente hacia antimonio trivalente a las 24 horas la cual resultó en 23,62%. La proporción promedio de antimonio trivalente/pentavalente para los cuatro animales a las 24 horas fue de 0,32.

Las curvas de concentración plasmática de antimonio pentavalente y trivalente versus tiempo se muestran en la Fig. 1. Después de la administración de Glucantime®, el antimonio pentavalente decae en dos fases. En las primeras cuatro horas la concentración plasmática desciende desde $6,94 \pm 4,46 \text{ mg/mL}^{-1}$ a $4,18 \pm 2,77 \text{ mg/mL}^{-1}$, indicando una distribución rápida. En la segunda fase la concentración cae mas lentamente y el metal fue aun detectable 24 horas post administración ($0,80 \mu\text{g/mL}^{-1} \pm 0,09$). La vida media ($t_{1/2}$) fue 13,18 h. y mostró un aparente volumen de

Tabla I. Concentraciones ($\mu\text{g/mL}$) promedio (DE)* de antimonio trivalente (SbIII) y pentavalente (SbV) en sangre de cuatro perros sanos.

Perro	Sb	Tiempo							
	(µg/mL)	0,25	0,75	1,0	2,0	4,0	8,0	12,0	24,0
1	III	0,76	0,41	0,43	0,21	0,24	0,40	0,35	0,15
2	III	0,24	0,28	0,34	0,53	0,33	0,48	0,54	0,17
3	III	0,27	0,50	0,45	0,45	1,02	0,29	0,33	0,40
4	III	0,19	0,47	0,46	0,66	0,92	1,03	0,48	0,34
Promedio		0,36	0,41	0,42	0,46	0,62	0,55	0,42	0,26
DE		0,22	0,08	0,04	0,16	0,34	0,28	0,08	0,10
1	V	1,77	2,39	3,78	2,97	2,29	2,14	1,02	0,74
2	V	1,58	1,33	1,42	1,82	2,14	1,18	0,76	0,71
3	V	4,13	6,26	10,42	-	3,40	1,47	1,52	0,84
4	V	2,33	6,94	12,16	12,71	8,92	2,27	1,94	0,94
Promedio		2,45	4,23	6,94	5,87	4,18	1,76	1,31	0,80
DE		1,00	2,41	4,46	5,96	2,77	0,45	0,45	0,09

DE: Desviación Estándar

Tabla II. Conversión de antimonio pentavalente hacia trivalente en sangre de cuatro perros sanos que recibieron una dosis única subcutánea de Glucantime®.

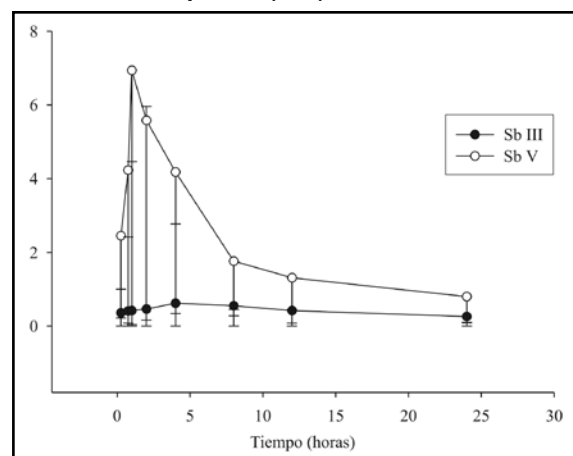
Glucantime®						
Perro	Tiempo (Hs)	Sb total	SbV	SbIII	SbIII / SbV	%
1	24	0,89	0,74	0,15	0,20	16,85
2	24	0,88	0,71	0,17	0,23	19,3
3	24	1,24	0,80	0,40	0,50	32,0
4	24	1,29	0,94	0,34	0,36	26,35
$\bar{x}$					0,32	23,62%

distribución (Vd) de 30,65 Lkg⁻¹. La diferencia entre AUC_{0-24h} (48,25 µg.h mL⁻¹) y AUC_{0-∞} (63,55 µg.h mL⁻¹) fue de 75,92 %, resultado un 24,08% de droga que aun no ha sido eliminada (Tabla III).

El antimonio trivalente mostró una C_{max} de 0,8 mg mL⁻¹ y un T_{max} 6,0 hs, permitiendo distinguir claramente una fase, donde la concentración plasmática cae muy lentamente. Para el antimonio trivalente se encontró una vida media (t_{1/2β}) de 16,10 horas y un volumen of distribución (Vd) de 126,5 Lkg⁻¹. Una diferencia entre AUC_{0-24h} (10,35 µg.h mL⁻¹) y AUC_{0-∞} (17,35 µg.h mL⁻¹) resultando en un 40,35% de droga que debe ser eliminado (Tabla IV).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos comparados, usando el test no paramétrico de Wilcoxon's (P= 0,068).

Fig. 1. Perfil farmacocinético del Sb III y Sb V después de administrar 90 mg/kg Glucantime vía subcutánea en perros (n=4).



DISCUSIÓN

La farmacocinética de los compuestos antimoniales empleados usualmente en medicina humana y veterinaria es compleja e impredecible, modificando la respuesta individual, el análisis de los datos experimentales podría ayudar a clarificar el comportamiento de las especies de antimonio cuando se administra en perros.

La reducción sistémica hacia la forma trivalente, considerada mas activa, en este ensayo fue de 23,62% a las 24 horas, similar a la reportada por otros autores con Glucantime® y otros preparados pentavalentes en humanos (Chulay, 1988; Vásquez *et al.*, 2006). La concentración de SbIII depende de un proceso de reducción de SbV hacia SbIII. Como se reporta para el estibogluconato de sodio (Tracy & Webster, 2001), un 20% aproximadamente del antimonio plasmático después de administrar Glucantime® permanece en forma trivalente. Resultando un balance positivo de SbIII a partir de la conversión a nivel hepático, sistémico, o intramacrofágico de SbV a SbIII (Tracy & Webster, 2001; Chulay *et al.*, 1988; Zhou *et al.*, 2004). La forma trivalente mostró mayor Vd que la forma pentavalente, debido probablemente a su mayor capacidad de reacción electroquímica. El SbIII ha mostrado marcada afinidad por los eritrocitos donde podría depositarse por 24 a 48 horas, y por los macrófagos donde ha mostrado acumularse por al menos tres días, disminuyendo así el antimonio libre disponible para la excreción (Valladares *et al.*, 1996; Robert *et al.*, 1995). Las características cinéticas previamente citadas las comparte con el Arsénico, cuya forma trivalente ha mostrado capacidad para interactuar con los grupos tiol de las proteínas, este mecanismo contribuiría entonces a incrementar su retención tisular (McKinney, 1992; Frézard *et al.*, 2001; Vasquez *et al.*, 2006). De hecho, este se ha señalado como uno de los mecanismos que contribuye al efecto leishmanicida del antimonio

Tabla III. Parámetros farmacocinéticos de antimonio pentavalente después de la administración subcutánea de una dosis única de Glucantime® 90mg/kg a cuatro perros sanos.

		Animal				
Parámetros		1	2	3	4	$\bar{x}$ (DE)
C_{max}	($\mu\text{g/mL}$)	3,8	2,1	10,4	12,7	7,25 (5,10)
T_{max}	(hr)	1,0	4,0	1,0	2,0	2 (1,41)
K_a	(h^{-1})	1,49	1,69	2,57	1,59	1,65 (0,15)
AUC_{0-24h}	(mg.h mL^{-1})	36,4	26,2	55,8	86,7	48,25 (26,61)
$AUC_{0-\infty}$	(mg.h mL^{-1})	49,3	40,8	77,7	103,4	63,55 (27,78)
$t_{1/2\beta}$	(hr)	12,11	14,29	18,08	12,30	13,18 (1,13)
K_{el}	(h^{-1})	0,057	0,048	0,038	0,056	0,052 (0,004)
Vd_{area}	(L Kg^{-1})	31,8	45,4	30,2	15,4	30,65 (12,27)

Tabla IV. Parámetros farmacocinéticos de antimonio trivalente después de la administración subcutánea de una dosis única de Glucantime® 90mg/kg a cuatro perros sanos.

		Animal				
Parámetros		1	2	3	4	$\bar{x}$ (DE)
C_{max}	($\mu\text{g/mL}$)	0,8	0,5	1,0	1,0	0,8 (0,23)
T_{max}	(hr)	0,3	12,0	4,0	8,0	6,0 (5,04)
K_a	(h^{-1})	0,44	6,42	1,44	0,81	2,27 (2,79)
AUC_{0-24h}	(mg.h mL^{-1})	7,0	9,5	10,5	14,5	10,35 (3,07)
$AUC_{0-\infty}$	(mg.h mL^{-1})	9,2	13,5	24,9	21,8	17,35 (7,25)
$t_{1/2\beta}$	(hr)	9,8	16,4	25,0	13,21	16,10 (6,51)
K_{el}	(h^{-1})	0,071	0,042	0,028	0,052	0,048 (0,018)
Vd_{area}	(L Kg^{-1})	139,0	158,1	130,2	78,8	126,5 (33,88)

(Roberts *et al.*, 1995). El Vd encontrado para el SbV y SbIII fue de 30,7 and of 126,5 l/kg respectivamente, con un valor de $AUC_{(0-24h)}$ de 51,2 $\mu\text{g.h mL}^{-1}$ en SbV y de 10,35 $\mu\text{g.h/mL}$ en SbIII.

Los datos reportados por otros autores que han estudiado la farmacocinética en perros se alcanzaron a partir de muestras de antimonio total, es decir sin separación de especies, en este ensayo, el SbV mostro una rápida distribución y mas lenta eliminación, mientras que las concentraciones de el SbIII ascendieron y descendieron muy lentamente, lo anterior puede demostrarse con las diferencias entre $AUC_{(0-24h)}$ (10,35 $\mu\text{g.h mL}^{-1}$) y $AUC_{(0-\infty)}$ (17,35 $\mu\text{g.h mL}^{-1}$) resultando en un 43,35% de la forma trivalente pendiente por eliminarse y potencialmente terapéutica.

El presente estudio esta limitado por el reducido tamaño de la muestra, particularmente en estudios de farmacocinética donde se esperan razonables variaciones individuales, atribuibles por demás a las diferencias genéticas entre especies. Sin embargo,

los resultados alcanzados muestran desigualdad en la farmacocinética de las especies de antimonio en perros, estas podrían explicar, al menos parcialmente, las diferencias en la eficacia terapéutica atribuidas a las especies por separado.

Pharmacokinetic disposition of antimony species in dogs after a dose of meglumine antimonate (Glucantime®)

SUMMARY

The pharmacokinetic parameters species of antimony present in Glucantime® was studied, in four healthy dogs, following subcutaneous administration of single dose 90 mg/kg⁻¹. Blood samples were analyzed by atomic absorption spectroscopy. After administration, the pentavalent antimony showed decay in two phases, half-life was 13.18 h, volume of distribution Vd of 30,65 Lkg⁻¹, area under curve_(0-24h) 48.25 $\mu\text{g. h mL}^{-1}$ y area under curve_(0-\infty) 63.55 $\mu\text{g.h}$

mL⁻¹. The trivalent antimony showed one phase well distinguished, the half- life was 16.10 h, volume of distribution of 126.5 Lkg⁻¹, area under curve_(0-24h) 10.35 µg.h mL⁻¹ and area under curve_(0-∞) 17.35 µg.h mL⁻¹. The systemic conversion of pentavalent antimony to trivalent antimony at 24 hours was 23.62%. The present study was limited by its small sample size, whatever the results obtained revealed a difference in the pharmacokinetics of pentavalent and trivalent antimony in dogs, this might explain, in part, the therapeutic efficacy differences found with separated species.

Key words: Glucantime®, pharmacokinetic, disposition, SbIII, SbV, dog.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrolla Científico Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes, por el soporte financiero a través del proyecto: NURR-C-271-00-B-7.

REFERENCIAS

- Belloli C., Ceci L., Carlis S., Tassi P., Montesissa C., De Natale G., Marcotrigiano P. & Ormas P. (1994). Disposition of antimony and aminosidine in dog after administration separately and together: implications for the therapy of leishmaniasis. *Res. Vet. Sci.* **58**: 123- 127.
- Belloli C., Crescenzo G., Carli S., Zaghini A., Mengozzi G., Bertini S. & Ormas P. (1999). Disposition of antimony and aminosidine combination after multiple subcutaneous injection in dogs. *Veter. Journal.* **157**: 315-321.
- Chakravarti R. N. & Sen Gupta P. C. (1950). Excretion of antimony after administration of methylglucamine antimoniate. Preliminary observations. *Medical Gazette.* **85**: 388-391
- Chulay L., Fleckenstein L., & Smith D. (1988). Pharmacokinetics of antimony during treatment of visceral leishmaniasis with sodium stibogluconate and meglumine antimoniate. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **82**: 69-72.
- Farrier D. S. (1997) PK Solutions 2.0 Software. Noncompartmental pharmacokinetics data analysis. Summit Research Services. Ashland, USA.
- Frézard F., Demicheli C., Ferreira C. & Costa M. (2001). Glutathione - induced conversion of pentavalent antimony to trivalent antimony in meglumine antimoniate. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**: 913-916
- Goodwin G. (1995). Pentostam® (sodium stibogluconate); a 50 year personal reminiscence. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.* **89**: 339-341.
- McKinney J. D. (1992). Metabolism and disposition of inorganic arsenic in laboratory animals and humans. *Environ. Geochem. Health.* **14**: 43-48.
- Petit de Peña Y., Vielma O., Burguera J., Burguera M., Rondón C. & Carrero P. (2001). On line determination of antimony three (III) and antimony five (V) in liver tissue and whole blood by flow - injection hydride generation - atomic absorption spectrometry. *Talanta.* **55**: 743-754.
- Petit de Peña Y., Galignani M., Burguera M., Burguera J., Añez N. & Lugo Y. (1990). Selective determination of antimony (III) and antimony (V) in blood, serum and urine by hydride generation an atomic absorption spectrometry. *J. Brz. Chem. Soc.* **1**: 72-75.
- Rees P. H. (1980). Renal clearance of pentavalent antimony (sodium stibogluconate). *Lancet.* **2**: 226-229
- Roberts W. L., Berman J. D. & Rainey P. M. (1995). In vitro antileishmanial properties of tri- and antimonial pentavalent preparations. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**: 1076-1082.
- Roberts W. L., McMurray W. & Rainey P. (1998). Characterization of the antimonial antileishmanial agent meglumine antimoniate (Glucantime). *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**: 1234-1239.
- Tassi P., Ormas P., Madonna M., Belloli C., Carli S., De Natale G., Ceci L. & Marcotrigiano G. (1994). Pharmacokinetics of N-methylglucamine antimoniate after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration in the dog. *Res. Veter. Sci.* **56**: 144-150.
- Tracy J. W. & Webster L. T. (2001). Drugs used in the chemotherapy of protozoal infections. pp.

- 1097-1120. En: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eds. Hardman J. G., Limbird L. E., Molinoff P. D., et al. Goddman and Gilman's. McGraw-Hill. New York, NY, USA.
- Valladares J., Alberola J., Esteban M. & Arboix M. (1996). Disposition of antimony after the administration of N-methylglucamine antimoniate to dogs. *Veter. Rec.* **138**: 181-183.
- Valladares J., Riera C., Alberola J., Gallego M., Portus M., Cristofol C., Franquelo C. & Arboix M. (1998). Pharmacokinetics of meglumine antimoniate after administration of multiple dose in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum*. *Veter. Parasitol.* **75**: 33-40.
- Valladares J., Riera C., Gonzalez P., Diez A., Portusb M., Arboix M. & Alberola J. (2001). Long term improvement in the treatment of canine leishmaniosis using an antimony liposomal formulation. *Veter. Parasitol.* **97**: 15-21.
- Vásquez L. C., Scorza D. J. V., Scorza J. V., Vicuña-Fernández N., Petit de Peña Y., López S., Bendezu H., Rojas E., Vásquez L. R. & Pérez B. (2006). Pharmacokinetics of experimental pentavalent antimony after a intramuscular administration in adult volunteers. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* **67**: 193-203.
- Wagner J. G. (1993). *Noncompartmental and system analysis*. Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist Pennsylvania, Technomic Publishing Company, Inc.
- Zhou Y., Messier N., Ouellette M., Rosen B. & Mukhopadhyay R. (2004). *Leishmania major* LmACR2 is a pentavalent antimony reductasa that confers sensitivity to the drug Pentostam. *J. Biol. Chem.* **279**: 37445-37551.

Recibido el 18/10/2007
Aceptado el 10/03/2008

Reacción en cadena de polimerasa (PCR) para detectar formas infectivas de *Onchocerca volvulus* en *Simulium metallicum* s.l. (Diptera: Simuliidae), en áreas endémicas de Venezuela

Alexis Fernández, Jaime Ramírez-Pérez, Harland Shuler & Noris Rodríguez*

Presentamos los resultados obtenidos después de un estudio parasitológico realizado en tres áreas endémicas de oncocercosis localizadas en los focos nor-central y nor-oriental de Venezuela. Durante aproximadamente 1 año, se capturaron hembras de simúlidos posándose sobre atractante humano en las márgenes de los ríos y las proximidades de las viviendas donde habían sido detectados casos de oncocercosis. Se capturaron un total de 95.251 moscas paras; de los cuales solo 0,05% correspondió a *Simulium exiguum* s.l. y el resto a *Simulium metallicum* s.l. Todos fueron sometidos a ruptura mecánica para separar cabezas y cuerpo. Las cabezas fueron separadas en grupos de 50 para la extracción de ADN genómico. El ADN fue utilizado para evaluar la infectividad natural por *Onchocerca volvulus*, mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa con oligonucleótidos especie-específicos. La prevalencia de moscas infectadas fue calculada mediante el programa Poolsreen ó prueba de grupo. Los resultados revelan larvas infectivas de *O. volvulus* en La Cuesta (Foco nor-oriental, estado Anzoátegui) con una prevalencia de 9/10.000; seguido por Santa Rosa (Foco nor-central, Estado Carabobo) con 5/10.000, el menor índice de prevalencia fue encontrado en La Carapa (Foco nor-oriental, Estado Monagas) con 3/10.000 de positividad, calculado con un intervalo de confianza de 95%. Estos resultados demuestran la utilidad de la técnica para estudios entomológicos a gran escala y la detección específica de larvas infectivas de *O. volvulus* causante de la oncocercosis en la población humana.

Palabras clave: Oncocercosis, *Simulium metallicum*, Entomología, PCR, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La oncocercosis o ceguera de los ríos es una enfermedad causada en el humano por el parásito nemátodo del género *Onchocerca*. En las Américas es causada por *Onchocerca volvulus*. Según OEPA (Onchocerciasis Elimination Program for the Americas), en las Américas existen 13 focos de oncocercosis distribuidos en 6 países; siendo éstos en orden de importancia epidemiológica: Colombia, Brasil, Ecuador, Venezuela, México y Guatemala. En Colombia sólo un 0,2% de la población se encuentra expuesta a riesgo mientras que en Guatemala este porcentaje es del 38,8%. Según el mismo reporte de

OEPA (2007) en Venezuela el 22% de la población se encuentra en riesgo en 521 comunidades endémicas.

En Venezuela la oncocercosis está distribuida geográficamente en tres focos (Vivas-Martínez *et al.*, 2007): Nor-Oriental (Sucre, Anzoátegui y Monagas), Nor-Central (Miranda, Carabobo, Guárico, Cojedes y Yaracuy) y el Sur (Bolívar y Amazonas). El primer caso de oncocercosis en el país fue reportado en el año 1948 en el estado Monagas (Potenza *et al.*, 1948). Los vectores de la oncocercosis son dípteros del género *Simulium* de la familia Simuliidae. Las especies comprometidas en la transmisión de la enfermedad son numerosas y varían de un foco a otro (Vivas-Martínez *et al.*, 2007). En el foco norte de Venezuela, el vector más importante es *S. metallicum* s.l. ya que es la única especie que ha sido detectada naturalmente infectada con las formas infectantes de *O. volvulus* (Ramírez-Pérez *et al.*, 1977). Su papel como vector principal de

Instituto de Biomedicina, San Nicolás a Providencia, San José.
Caracas. Apdo Postal 4049 Caracas 1010A. Venezuela

*Autor de correspondencia: nmrodriguez@gmail.com

la oncocercosis en dicho foco, ha sido confirmado ya que dicha especie es predominantemente antropofílica (Lewis & Ibáñez de Aldecoa, 1964; Grillet *et al.*, 1994; Basáñez *et al.*, 2000).

Tradicionalmente la detección de microfilarias en humanos se realiza mediante la búsqueda del parásito en biopsias de piel (WHO, 1995). En los simúlidos (moscas negras), la identificación de larvas del parásito se realiza después de la disección de los insectos y observación minuciosa al microscopio, resultando en un proceso que consume mucho esfuerzo y tiempo, por el gran número de moscas que deben ser disecadas hasta encontrar una positiva. Los nuevos desarrollos en la biología molecular permiten que las técnicas para la detección de *O. volvulus* sean más sensibles y específicas (Erttmann *et al.*, 1987).

La tecnología del ADN recombinante es una herramienta poderosa para el estudio de filariasis (Greene & Unnasch., 1986). La aplicación de esta tecnología ha permitido detectar secuencias repetidas en el genoma de *Onchocerca volvulus*, las cuales fueron designadas como la familia O-150 (Meredith *et al.*, 1989, 1991). La identificación de estas secuencias permitió diseñar una serie de oligonucleótidos específicos para la detección de *O. volvulus*, en cualquiera de sus formas, tanto en el humano como en el vector. El uso de los oligonucleótidos O-150 en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha permitido detectar un sólo individuo infectado en grupos que contenían más de 100 individuos (Zimmerman *et al.*, 1993, 1994; Boatin *et al.*, 1998; Rodríguez-Pérez, 2005). Recientemente, se describió un programa para computadoras con un algoritmo estadístico conocido como "Poolscreen", el cual fue diseñado para calcular el índice de infección en una población de *Simulium* spp. Dicho programa utiliza el tamaño del grupo estudiado y el porcentaje de grupos negativos obtenidos por PCR (Katholi *et al.*, 1995). Este método permite predecir con exactitud el número de individuos infectados en una población de vectores, siendo de singular importancia su aplicación en áreas donde se han aplicado medidas de control y por ende la tasa de infección es baja (Yameogo *et al.*, 1999; Guevara *et al.*, 2003; Rodríguez Pérez *et al.*, 2004).

En el presente trabajo reportamos los resultados obtenidos al realizar un estudio parasitológico, utilizando para ello la técnica de PCR/ Poolscreen, con oligonucleótidos especie-específicos para la detección de infección natural por larvas infectivas (L3) de *Onchocerca volvulus* en *Simulium* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio fue realizado previamente al tratamiento con Mectizan®, en tres comunidades centinelas de tres estados de Venezuela, las cuales se seleccionaron en base al registro de casos humanos; las mismas tienen un seguimiento especial a través de la realización periódica de una evaluación epidemiológica en profundidad. Todas las áreas del estudio son consideradas hiperendémicas con una prevalencia de microfilarias superior al 60% en evaluación epidemiológica rápida realizada mediante la toma de biopsias en ambas escapulas de los pacientes; las biopsias se colocan en placas de ELISA con solución salina para su posterior observación al microscopio. Las capturas fueron realizadas mensualmente en las siguientes comunidades: Santa Rosa (09°54'13" N; 67°31'59" O; 825 m snm en el estado Carabobo en el foco nor-central; con una población de 242 habitantes y prevalencia de microfilarias del 70%; allí la captura se realizó entre Agosto 1998 y Octubre 1999; La Carapa (10°06'06" N; 63°46'36" O; 648 m snm) en el estado Monagas, con una población elegible de 202 habitantes y una prevalencia de 73,3%; en esta comunidad se capturó entre Octubre 1998 y Septiembre 1999 y La Cuesta (10°00'26" N; 64°23'32" O; 239 m snm) en el estado Anzoátegui, con una población elegible de 217 habitantes y una prevalencia de 68,8%, donde las capturas fueron realizadas entre Abril de 1999 y Marzo de 2000; pertenecientes ambas al foco nor-oriental.

Captura de adultos de *Simulium* spp (moscas negras)

Las capturas se realizaron diariamente en horario comprendido entre las 7:00 am y las 4:00 pm durante 5 días a la semana; los insectos fueron capturados siguiendo procedimientos estandarizados (Walsh *et al.*, 1978), con aspiradores manuales al posarse sobre atractantes humanos; todos los participantes recibieron Mectizan® antes de comenzar la colección. Para el estudio se seleccionaron las moscas paras, las cuales fueron seleccionadas en el campo en base a la ingesta de sangre y preservadas inmediatamente en isopropanol al 95%. Posteriormente en el laboratorio, fueron clasificadas entomológicamente siguiendo los criterios descritos por Ramírez-Pérez *et al.* (1982) y Ramírez-Pérez (1983). Una vez identificadas, fueron separadas en grupos de 50 individuos. Seguidamente, las moscas fueron pasadas por un tamiz para separar las cabezas del cuerpo. Solamente se realizó la extracción

de ADN para el análisis de infectividad por PCR a las cabezas (en grupos de 50), garantizando de esta manera detectar las larvas infectivas o formas L3 que son las que poseen la capacidad de infectar al individuo para producir la enfermedad. Los cuerpos (tórax y abdomen) fueron preservados en isopropanol para futuros estudios.

Aislamiento de el ADN genómico

Los grupos de cabezas fueron homogenizados con buffer de lisis {100mM NaCl, 10mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM EDTA, 0,1% SDS, 1% Triton X-100} utilizando un homogenizador eléctrico (Pellet pestle kontes). Posteriormente se le añadió al homogenato proteinasa K (400µg/mL) y se incubó a 55°C durante 2 horas. Seguidamente se realizó una extracción fenol/cloroformo (1:1). La fase acuosa rica en ADN genómico fue purificada por absorción con fibra de vidrio (glass slurry) y tres volúmenes de ioduro de sodio (Meredith *et al.*, 1991). Seguidamente se centrifugó a 12000 rpm por 1min; el sobrenadante se descartó y el sedimento fue resuspendido en 50µL de TE. Las muestras fueron incubadas a 55°C por 5min y luego centrifugadas 2min a 1200rpm. El sobrenadante que contiene el ADN genómico, fue diluido 1/10, luego se calentó durante 5 minutos a 100°C y posteriormente se almacenó a 4°C hasta su uso.

Amplificación por PCR

La mezcla de reacción se realizó con 5µL (100ng) de ADN genómico, 2,5µL buffer 10X PCR (500mM KCl, 100mM Tris-HCl pH 8,4; 15mM MgCl₂, 0,01% gelatina), 5µL de deoxinucleótidos (10mM dATP, 10mM dGTP, 10mM dCTP, 10mM dTTP), 200ng de cada uno de los siguientes primers: Ov1 (5'GATTYTTCCGRCGAAXARCGC3') y Ov2 (5'GCXRTRTAAATXTGXAAATTC3'), y 1U Taq ADN polimerasa (Gibco BRL). La mezcla de reacción fue cubierta con dos gotas de aceite mineral. El proceso de amplificación consistió en un ciclo con denaturación del ADN a 94°C durante 6min, continuando con la alineación de los primers a 37°C por 2min, luego 45 ciclos de amplificación, donde cada ciclo comprende: denaturación a 94°C por 1 min, alineación de los primers a 37°C por 1min, luego la extensión a 72°C por 30seg utilizando un termociclador (Biometra, trio block, UK). La extensión final se realizó durante 10min a 72°C. Para comprobar los resultados de la amplificación, 10µl de los productos de PCR fueron analizados en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. La corrida electroforética se realizó

en buffer TBE 1X a 70V. Posteriormente se visualizó la presencia de bandas de amplificación por medio de luz UV y se tomó un registro fotográfico con una cámara Polaroid con película 665.

Calculo de la prevalencia de infectividad

La prevalencia de infectividad en poblaciones de *S. metallicum s.l.* fue determinada mediante el uso de un programa de computación conocido como Poolscreen (Katholi *et al.*, 1995). El método de Poolscreen ó prueba de grupo está basado en un algoritmo que permite el análisis de grupos de organismos de una misma especie para determinar la proporción de organismos infectados en una población en estudio. Este programa requiere que el número de individuos, en este caso (moscas) utilizadas; sea el mismo en cada grupo. Además se requiere conocer el número total de grupos y el número de grupos negativos analizados por PCR.

La principal suposición en el programa del Poolscreen es que los grupos negativos no contienen ningún individuo infectado. Por lo tanto es necesario que la sensibilidad del ensayo a usar sea lo más cercana al 100%, para evitar los falsos negativos. Por otra parte un grupo positivo por PCR nos indica que al menos una mosca esta infectada con larvas infectivas (L3) de *O. volvulus*. La formula para el cálculo de la prevalencia es:

$$P = 1 - \sqrt[n]{k/m}$$

donde P es la prevalencia, *n* es el número de grupos en estudio, *m* es el número de individuos por grupo y *k* es el número de grupos negativos. El Poolscreen fue utilizado en este estudio, para calcular la prevalencia de moscas infectivas capturadas en las diferentes comunidades utilizando para ello grupos de 50 cabezas; el intervalo de confianza que estima el programa es del 95%.

RESULTADOS

Determinación de la infección natural de S. metallicum s.l. con O. volvulus por PCR

El 99,5% de las moscas capturadas correspondió a la especie *Simulium metallicum s.l.* La Fig. 1 es una muestra de los resultados obtenidos después de la amplificación por PCR con los oligonucleotidos Ov1 y Ov2 en grupos de 50 cabezas

de *S. metallicum* s.l. Las líneas 1 y 2 son grupos donde la reacción fue negativa indicando la ausencia de *O. volvulus*, en cambio las líneas 3 al 10 son muestras de grupos donde se observa la banda diagnóstica de 150 pb para *O. volvulus*, la cual está presente en el control positivo de *O. volvulus* aislada de humano (línea 11).

El número total de grupos de cabezas con PCR positivos en Santa Rosa fue de 25, los cuales corresponden a los meses de Mayo (11), Agosto (1), Septiembre (10) y Noviembre (3) (Tabla 1). En La Cuesta se analizaron 414 grupos de *Simulium metallicum* s.l. durante el año de estudio, determinándose 18 grupos positivos por PCR distribuidos en los meses de Diciembre (1), Febrero (1) y Agosto (16). En La Carapa de un total de 540 grupos estudiados se pudieron detectar 8 grupos positivos por PCR, ubicados en los meses de Abril (1), Mayo (3), Agosto (1), Septiembre (1) y Diciembre (2).

Prevalencia de infectividad calculada mediante el programa Poolscreen

Un total de 95.271 *Simulium* spp. fueron capturados en las tres comunidades estudiadas, los cuales corresponden casi en su totalidad a *S. metallicum* s.l., ya que sólo se capturaron 47 *S. exiguum* s.l. los cuales resultaron negativos por PCR. En la Tabla I se muestra el número de individuos por comunidades, así como el número de grupos evaluados con la respectiva positividad e índice de infección natural calculado según el método descrito. El mayor número de *Simulium metallicum* s.l.

fue capturado en la comunidad de Santa Rosa del Sur en el estado Carabobo, sin embargo el mayor índice de positividad por PCR de las cabezas fue obtenido para la comunidad de La Cuesta en el estado Anzoátegui (0,0009= 9/10.000) en comparación con 5/10.000 para la comunidad de Santa Rosa y 3/10.000 para La Carapa en el estado Monagas. En la Fig. 2 se observa el porcentaje de infección natural por captura mensual, obteniéndose que para la comunidad de La Cuesta el mes de mayor riesgo de infección para humanos es Agosto, donde se obtiene el mayor porcentaje de grupos infectados (3,98%); para Santa Rosa en cambio hay dos picos de mayor riesgo que son Mayo y Septiembre con 1,5% de grupos infectados, mientras que en La Carapa este pico se encuentra en Mayo y Diciembre aunque el número de grupos infectados es menor que en las otras dos comunidades (menor del 1%).

DISCUSIÓN

En este estudio se evaluaron tres comunidades hiperendémicas de los focos nor-central (Santa Rosa del Sur) y nor-oriental (La Carapa y La Cuesta) las cuales fueron elegidas en base a la prevalencia de la infección por microfilarias determinada previo a este estudio (Sección de Oncocercosis, Instituto de Biomedicina), además de otros factores como son accesibilidad al área de estudio y el número de habitantes en la comunidad.

Clásicamente la detección de *O. volvulus* en el vector se ha llevado a cabo mediante la disección

Tabla I. Infección natural de *Simulium* spp. a *Onchocerca volvulus* en diferentes estados de Venezuela.

Comunidad	Nº Total Simulidos	Nº Total Grupos	Grupos Totales/ grupos Negativos	Grupos PCR Positivos	% Grupos PCR Positivos	Prevalencia*
SANTA ROSA DEL SUR Edo. Carabobo	47485	949	949/924	Mayo 11 Agosto 1 Septiembre 10 Noviembre 3 Total 25	2,63	0,0005 (0,0003 ; 0,0008)
LA CUESTA Edo. Anzoátegui	20699	414	414/396	Diciembre 1 Febrero 1 Agosto 16 Total 18	4,35	0,0009 (0,0005 ; 0,0014)
LA CARAPA Edo. Monagas	27077	540	540/532	Abril 1 Mayo 3 Agosto 1 Septiembre 1 Diciembre 2 Total 8	1,48	0,0003 (0,0001 ; 0,0059)

Fig. 1. Productos de amplificación por PCR de muestras de grupos de 50 cabezas de *Simulium metallicum* s.l., utilizando los primers Ov1 y Ov2, separados en gel de agarosa al 3% a 75 Volts. Líneas 1-2.- grupos no infectados; Líneas 3-5.- grupos de Sta. Rosa ; Líneas 6-7.- grupos de La Cuesta; Líneas 8-9.- grupos de La Carapa; Línea 10.- Control Positivo ADN genómico de *Onchocerca volvulus* aislada de paciente; Línea 11.- Control negativo; Línea 12.- 100bp DNA ladder (Gibco-BRL).

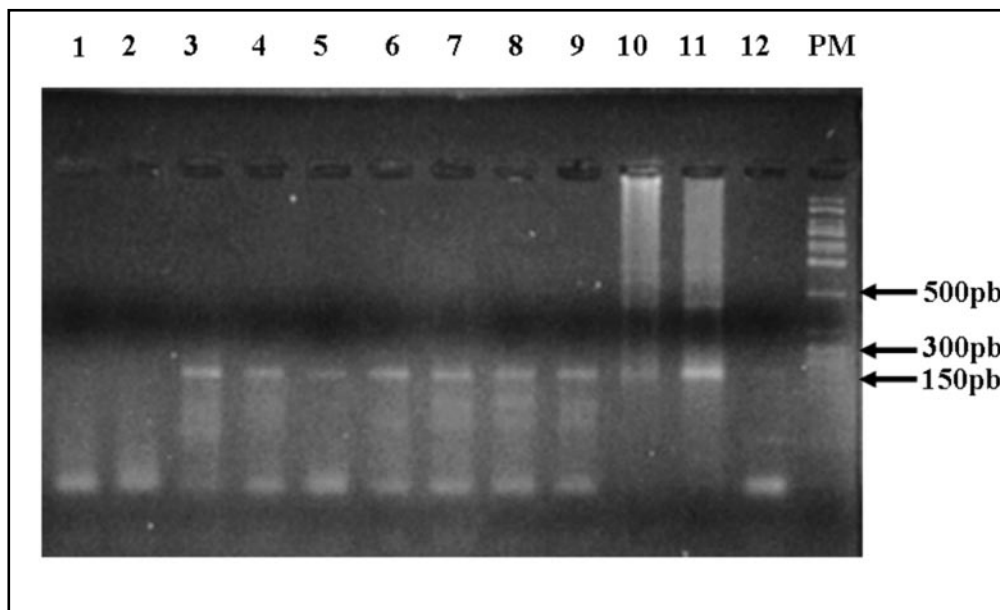
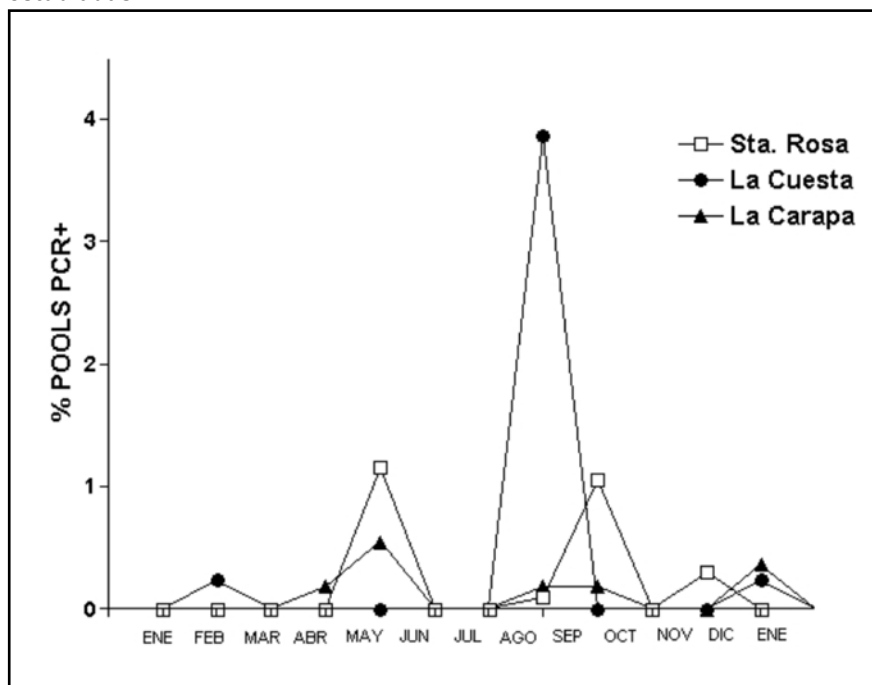


Fig. 2. Porcentaje de positividad a *Onchocerca volvulus* en grupos de *Simulium metallicum* s.l. capturados mensualmente en las tres comunidades estudiadas.



manual de las moscas de la especie involucrada en la transmisión de la oncocercosis. Sin embargo, con el advenimiento de los fármacos microfilaricidas como el Mectizan®, y la consecuente disminución de la infección (Guevara *et al.*, 2003), la disección de moscas es poco eficiente para realizar evaluaciones epidemiológicas en profundidad, sobre todo en América donde las tasas de infección son bajas y sobre todo después del tratamiento masivo con ivermectina, por lo que haría falta la disección de un gran número de individuos para obtener resultados estadísticamente significativos (Oskam *et al.*, 1996). En este sentido, la técnica de PCR con oligonucleótidos específicos es de gran ayuda en los estudios epidemiológicos a gran escala, tal como ha sido demostrado en Ecuador (Guevara *et al.*, 2003) y México (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2004).

En este estudio, los resultados obtenidos mediante PCR utilizando los primers específicos para la identificación de *O. volvulus*, demuestra que en las tres comunidades, *S. metallicum* s.l. resultó infectado con larvas L3 de *O. volvulus*, lo cual confirma su papel como vector de este parásito en la región nor-central y nor-oriental del país, tal como ha sido previamente reportado utilizando otras metodologías (Peñalver, 1961; Lewis & Ibáñez de Aldecoa, 1962; Ramírez-Pérez *et al.*, 1977a; Grillet *et al.*, 1994; Basáñez *et al.*, 2000). Esta especie no ha sido reportada en el foco Sur de Venezuela donde se ha demostrado que *S. guianense* s.l., *S. incrustatum* y *S. oyapockense* s.l. son los vectores más eficientes para la transmisión de *O. volvulus* (Basáñez *et al.*, 1988; Vivas-Martínez *et al.*, 2007). Sin embargo en este estudio también se capturaron algunos ejemplares (47) de *S. exiguum* s.l. los cuales resultaron negativos a la prueba de PCR, por lo que no pudimos demostrar su participación en la transmisión de la oncocercosis en las áreas estudiadas. El método del Poolscreen/PCR es una herramienta útil para el estudio a gran escala de poblaciones de *Simulium* (Guevara *et al.*, 2003; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2004, 2006). En los países de América Latina donde se aplica el programa para la eliminación de la oncocercosis (OEPA), esta metodología es de particular importancia, ya que permite realizar un seguimiento anual del índice de infección y por ende de la transmisión de la oncocercosis en las áreas endémicas donde se aplica el tratamiento masivo con Mectizan®. De acuerdo con lineamientos acordados por la OEPA y la Organización Mundial de la Salud se considerará que se ha alcanzado la supresión de la transmisión cuando la prevalencia de moscas infectivas es menor

que 1/10.000 (WHO, 2001), donde exista una línea de base sobre la infectividad por L3 en *Simulium* spp antes de comenzar el tratamiento. Sin embargo, para obtener el poder estadístico suficiente para realizar comparaciones robustas, la Reunión de Entomólogos celebrada en Guatemala durante 26-27 de Septiembre de 2006, acordó que aunque deben capturarse al menos 10.000 moscas, el criterio para declarar la interrupción de la transmisión debería estar expresado en menos de una mosca infectada por 2000 hembras colectadas (asumiendo una tasa de paridad del 50%). Sin embargo este criterio no ha sido aún incluido en la guía para la certificación de la eliminación de la oncocercosis por la OMS. La técnica PCR/Poolscreen resulta fácil de aplicar, siendo altamente sensible y específica para la detección de larvas L3 de *O. volvulus*, ya que permite la detección hasta de un sólo individuo infectado en un grupo de 50, evitando el laborioso proceso de la disección de las cabezas, donde pueden encontrarse las formas infectivas, lo cual consume mucho tiempo.

Se estima que la disección de 700 moscas negras podría tomar entre 24 y 36 horas (Oskam *et al.*, 1996), en cambio la técnica de PCR del mismo número de moscas puede realizarse en tres horas y con la ventaja de poder confirmar la presencia de formas infectivas y la especie del parásito infectante, sobre todo cuando se trata de bajos niveles de infectividad en la población estudiada, como ocurre en el foco norte de Venezuela y en las poblaciones que están siendo sometidas a tratamiento.

Los resultados obtenidos en este estudio, también permiten inferir las épocas de mayor riesgo para la infección, que es el periodo donde se localizan el mayor número de moscas infectadas con las larvas L3; este periodo es diferente para cada comunidad, lo cual probablemente es dependiente de las épocas de lluvia y sequía en las distintas zonas del país, tal como ha sido reportado por Ramírez Pérez *et al.* (1977) en estudios realizados en el área nor-central del país, incluyendo el foco de Santa Rosa donde reportaron una prevalencia de 13%, en el mes de Marzo, época de máxima sequía; sin embargo no podemos afirmar si esta positividad es alta en comparación con la obtenida en este estudio, ya que el método aplicado nos permite sólo determinar el número de grupos positivos, los cuales se encuentran en el mes de Mayo (11 grupos positivos) y en Septiembre (10 grupos positivos), lo que representa un total de 2,63% grupos positivos, pero no podemos determinar el número exacto de moscas positivas en cada grupo, lo cual es una desventaja para el método. Para la

comunidad de La Cuesta, el mayor número de grupos positivos se encontró en Agosto (4,35% de grupos positivos), hallándose en esta comunidad la mayor prevalencia de infectividad (9/10.000); para La Carapa la mayor positividad también se encuentra en Mayo, en esta comunidad se registró la menor prevalencia de infectividad (3/10.000). Los meses donde se encuentra el mayor número de grupos positivos coinciden con épocas posteriores a las lluvias en cada comunidad, ya que durante el periodo lluvioso no se realizaron capturas. Los resultados de infectividad natural de *S. metallicum* s.l. con *O. volvulus*, obtenidos en este estudio en La Cuesta y La Carapa son los primeros reportados en el país para estas localidades.

Estudios realizados en áreas endémicas de oncocercosis de México, Brasil y Guatemala utilizando la misma metodología (Marchón-Silva *et al.*, 2007; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2006; Lindblade *et al.*, 2007) han contribuido al monitoreo de la transmisión después de la aplicación del tratamiento para cumplir con el programa de la OEPA, habiéndose declarado varias comunidades libre de transmisión, cumpliendo con los requisitos de la WHO (2001) para declarar supresión de la transmisión de oncocercosis. Recientemente se reportó la eliminación de la enfermedad en cinco comunidades centinelas del Ecuador, después de un largo periodo de tratamiento con Mectizan®, no encontrándose microfilarias en la cámara anterior del ojo de las personas tratadas; así mismo la prevalencia de infección en *Simulium* fue 0/10.000 moscas estudiadas, aunque dos comunidades (El Tigre y San Miguel) de las 7 comunidades centinelas en ese país aún poseen una prevalencia de infección de 6,0 y 0,8/10.000 moscas respectivamente, determinada aplicando el PCR/poolscreen (Vieira *et al.*, 2007). Esta técnica ha sido también aplicada al estudio de infección natural de flebotomos, transmisores de *Leishmania*, demostrándose su aplicabilidad a la vigilancia epidemiológica de la leishmaniasis en áreas endémicas (Martín-Sánchez *et al.*, 2006).

Las metas planteadas por la OEPA en cuanto a la eliminación de la oncocercosis en América, deben también ser cumplidas en Venezuela, por lo que los resultados aquí reportados pueden constituir la línea de base para seguir los efectos del tratamiento en el foco norte, mediante el monitoreo de la infección natural de *Simulium* después de la aplicación masiva de Mectizan® en las áreas endémicas, el cual se viene aplicando en los últimos años. Sin embargo para el año 2006 según la relatoría de la XVI Conferencia

Interamericana sobre Oncocercosis celebrada entre el 7-9 de Noviembre en Antigua (Guatemala) se mencionó que aún existe transmisión en varias comunidades de las áreas nor-central donde la prevalencia de microfilarias en piel oscila entre 0,7 y 16,7% y en el foco nor-oriental donde en el 2006 la prevalencia de microfilarias en cámara anterior del ojo fue del 3,3%, aunque en algunas comunidades este parámetro fue cero. Sin embargo aún falta por realizar las evaluaciones entomológicas en esas áreas para evaluar la situación de la transmisión después de la aplicación de varias rondas de Mectizan®.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Control de Enfermedades Endémicas, Proyecto VEN/97/002/02122; a Hecdy M. Rodríguez y Vimerca Oliveros por su asistencia técnica, y a los revisores por sus comentarios.

Polymerase chain reaction (PCR) for detecting infective forms of *Onchocerca volvulus* in *Simulium metallicum* s.l. (Diptera: Simuliidae) in Venezuelan endemic areas

SUMMARY

We present the results obtained after a parasitological study carried out in three onchocerciasis endemic areas located in the North-Central and North-Oriental foci in Venezuela. During one year, adult females of *Simulium* spp. were captured when landing on human attractants along rivers and in the proximity of houses where onchocerciasis cases had been detected. A total of 95,251 black flies were captured, from this total, only 0.05% were identified as *S. exiguum* s.l. and the rest were *Simulium metallicum* s.l. All the specimens were submitted to mechanical disruption for head and body separation. The heads were grouped in pools of 50 for genomic DNA extraction. The DNA was used to evaluate the natural infectivity by *O. volvulus* using the Polymerase Chain Reaction technique with species specific oligonucleotides. The prevalence of infective flies, was calculated using the Poolscreen program; the results indicated a positivity of 9/10,000 flies for the locality of La Cuesta (North-eastern focus, Anzoátegui State), followed for Santa Rosa (North-Central focus, Carabobo State) with a prevalence of 5/10,000, and finally La Carapa (North-eastern focus,

Monagas State) with the lowest index (3/10,000) of infectivity. These results are demonstrating the utility of the technique for large scale entomological studies and the specific detection of *O. volvulus*, infective larvae, the causal agent of human onchocerciasis

Key words: Onchocerciasis, *Simulium metallicum*, Entomology, PCR, Venezuela

REFERENCIAS

- Boatin B. A., Toé L., Alley S., Dembélé N., Weiss N. & Dadzie K. Y. (1998). Diagnostics in onchocerciasis: future challenges. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **92**: 41-45.
- Basáñez M. G., Yarzabal L., Takaoka H., Suzuki H., Noda S. & Tada I. (1988). The vectorial role of several blackfly species (Diptera: Simuliidae) in relation to human onchocerciasis in the Sierra Parima and upper Orinoco regions of Venezuela. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **82**: 597-611.
- Basáñez M.-G., Yarzabal L., Frontado H. L. & Villamizar N. J. (2000). *Onchocerca* – *Simulium* complexes in Venezuela: can human onchocerciasis spread outside its present endemic areas?. *Parasitology*. **120**: 143-160.
- Erttmann K. D., Unnasch T. R., Greene B. M., Albiez E. J., Boateng J., Denke A. M., *et al.* (1987). A DNA sequence specific for forest form *Onchocerca volvulus*. *Nature*. **327**: 415 - 417.
- Greene B. M. & Unnasch T. R. (1986). Molecular biologic approaches to research in onchocerciasis. *J. Infect. Dis.* **154**: 1024-1026.
- Grillet M. E., Botto C., Basáñez M. G. & Barrera R. (1994). Vector competence of *Simulium metallicum* s.l (Diptera: Simuliidae) in two endemic areas of human onchocerciasis in Northern Venezuela. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **88**: 65-75.
- Guevara A. G., Vieira J. C., Lilley B. G., Lopez A., Vieira N., Rumbea J., *et al.* (2003). Entomological evaluation by pool screen polymerase chain reaction of *Onchocerca volvulus* transmission in Ecuador following mass Mectizan distribution. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **68**: 222-227.
- Katholi C. R., Toé L. & Unnasch T. R. (1995). Determining the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in vector populations by PCR screening of pools of black flies. *J. Infect. Dis.* **172**: 1414 - 1417.
- Lewis D.J & Ibañez de Aldecoa R. (1962). Simuliidae and their relation to human onchocerciasis in northern Venezuela. *Bull. World Health Organization*. **27**: 449-464.
- Lindblade K. A., Arana B., Zea-Flores G., Rizzo N., Porter C. H., Domínguez A., *et al.* (2007). Elimination of *Onchocerca volvulus* transmission in the Santa Rosa focus of Guatemala. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **77**: 334-341.
- Marchón-Silva V., Charles Caer J., James Post R., Maia-Herzog M. & Fernández O. (2007). Detection of *Onchocerca volvulus* (Nematode: Onchocercidae) infection in vectors from Amazonian Brazil following mass Mectizan TM distribution. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **102**: 197-202.
- Martin-Sánchez J., Gallego M., Barón S., Castllejo S. & Morillas-Márquez F. (2006). Pool screen PCR for estimating the prevalence of *Leishmania infantum* infection in sandflies (Diptera: Nematocera, Phlebotomidae). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **100**: 527-532.
- Meredith S. E. O., Unnasch T. R., Karam M., Piessens W. F. & Wirth D. F. (1989). Cloning and characterization of an *Onchocerca volvulus* specific DNA sequence. *Mol. Biochem. Parasitol.* **36**: 1-10.
- Meredith S. E. O., Lando G., Gbakima A. A., Zimmerman P. A. & Unnasch T. R. (1991). *Onchocerca volvulus*: application of the Polymerase Chain Reaction to identification and strain differentiation of the parasite. *Exp. Parasitol.* **73**: 335-344.
- OEPA (2007). Noti-oncocercosis: Programa para la Eliminación de la Oncocercosis en las Americas.
- Oskam L., Schoone G. J., Kroon C. C. M., Lujan R. & Davies J. B. (1996). Polymerase Chain Reaction for detecting *Onchocerca volvulus* in pools of blackflies. *Trop. Med. Int. Health*. **1**: 552-527.
- Perler F. B. & Karam M. (1986). Cloning and characterization of two *Onchocerca volvulus* repeated DNA sequences. *Mol. Biochem. Parasitol.* **21**: 171-178.

- Potenza L., Febres-Cordero R. & Andueza P. L. (1948). Oncocercosis humana en Venezuela. *Gaceta Médica de Caracas*. **56**: 219-220.
- Peñalver L. M. (1961). Estudio de un foco de oncocercosis en la región central de Venezuela. Determinación de *Simulium metallicum* y *Simulium exiguum* como transmisores de la enfermedad en Venezuela. *Rev. Ven. San. Asist. Soc.* **26**: 898-912
- Ramírez-Pérez J. (1977). *Estudio sobre la morfología de Simulium metallicum, vector de la oncocercosis humana en Venezuela*. Publicación Científica N° 338. OPS/OMS, Washington, USA.
- Ramírez-Pérez J. (1983). *Los jejenes de Venezuela*. Simposio de Oncocercosis Americana. CAÍCT, Puerto Ayacucho. 1-156.
- Ramírez-Pérez J., Rassi E., Convit J. & Ramírez, A. (1977). Índice de infección natural de *Simulium metallicum* (Diptera: Simuliidae) por formas evolutivas de *Onchocerca volvulus* en Venezuela. *Bo. Oficina Sanit. Panam.* **82**: 322-326.
- Ramírez-Pérez J., Yarzabal L. & Peterson, B. (1982). La simuliofauna del Territorio Federal Amazonas (Venezuela). Publicación Científica 1. Caracas: PROICET Amazonas. 1-104.
- Rodríguez-Pérez M. A., Lilley B. G., Domínguez-Vázquez A., Segura-Arenas R., Lizarazu-Ortega C., Mendoza-Herrera A., Reyes-Villanueva F. & Unnasch T. (2004). Polymerase Chain Reaction monitoring of transmisión of *Onchocerca volvulus* in two endemic states in Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **70**: 38-45.
- Rodríguez-Pérez M. A. (2005). Herramientas moleculares para el combate de la oncocercosis en México. *Rev. Latinoam. Microbiol.* **47**: 112-129.
- Rodríguez-Pérez M. A., Katholi Ch. R., Hassan H. K. & Unnasch T. R. (2006). Large-Scale entomologic assessment of *Onchocerca volvulus* transmission by Poolscreen PCR in Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **74**: 1026-1033.
- Vivas-Martínez S., Grillet M. E., Botto C. & Basáñez M. G. (2007). La oncocercosis humana en el foco Amazónico. *Bol. Malariol. San. Amb.* **47**: 15-46.
- Vieira J. C., Cooper P. J., Lovato R., Mancero T., Rivera J., Proaño R., et al. (2007). Impact of long-term treatment of onchocerciasis with ivermectin in Ecuador: Potential for elimination of infection. *BMC Med.* **23**: 5-9.
- Walsh J. F., Davies J. B. & Garms R. (1978). Standardization of criteria for assessing the effects of *Simulium* control in onchocerciasis control programs. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **72**: 675-676.
- WHO (1995). Onchocerciasis and its control. Report of WHO expert committee on Onchocerciasis Control. Technical Report Series N° 852. Geneva, Switzerland.
- WHO (2001). Criteria for certification of interruption of transmission/Elimination of human onchocerciasis. Geneva, Switzerland.
- Yameogo L., Toe L., Hougard J. M., Boatin B. A. & Unnasch T. R. (1999). Pool Screen Polymerase Chain Reaction for estimating the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in *Simulium damnosum* s.l. Results of a field trial in an area subject to successful vector control. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* **60**: 124-128.
- Zimmerman P. A., Toe L. & Unnasch T. R. (1993). Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Mol. Biochem. Parasitol.* **58**: 259-268.
- Zimmerman P. A., Guderian R. H., Araujo E., Elson L., Phadke P., Kubofcick J. & Nutman T. B. (1994). Polymerase chain reaction-based diagnosis of *Onchocerca volvulus* infection: improved detection of patients with onchocerciasis. *J. Infect. Dis.* **169**: 686-689.

Recibido el 30/10/2007
Aceptado el 25/03/2008

Efectividad de metopreno en el control de *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio: efecto de la densidad larvaria

Edith Navarro¹, Jesús Berti^{*2} & Julio E. González²

Anopheles albimanus Wiedemann ha sido considerado en condiciones naturales como el principal vector de la malaria humana en América Central. Metopreno es un análogo sintético de la hormona juvenil y es muy usado en el control de larvas de mosquitos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la densidad larvaria de *An. albimanus* sobre la eficacia de metopreno (Altosid-G, 1.5%) utilizando larvas de cuarto instar temprano provenientes de una población colonizada de la especie. Se evaluó la efectividad de una formulación granulada del producto (Altosid-G, 1.5%) a la concentración de 0.150 ppm del ingrediente activo y usando diferentes densidades de larvas *An. albimanus*. Las densidades probadas fueron de 20, 40, 80, 100 y 160 larvas por litro de solución de metopreno a 0.150 ppm. Se colocaron las respectivas cantidades de larvas de forma simultánea para todos los tratamientos (densidades) y cada grupo control (sin metopreno). Según los resultados obtenidos el aumento de la densidad de larvas de *An. albimanus* afectó negativamente la efectividad del producto, encontrándose diferencias estadísticas altamente significativas entre diferentes densidades. A medida que aumentó el número de larvas expuestas al producto, disminuyó el porcentaje de mortalidad de pupas. Se observó un aumento de la supervivencia de pupas sobre todo a las mayores densidades probadas (80, 100 y 160 larvas/L). Asimismo, la duración del período larva del 4to instar-pupa, se modificó (alargó) tanto por efecto de la densidad larvaria como del tratamiento con metopreno (0.150 ppm). Se encontró una relación lineal inversa entre la densidad larvaria y la mortalidad de pupas por efecto de metopreno. Asimismo, se presentó una relación lineal directa entre la densidad de larvas y la duración del período larva del cuarto instar-pupa (en el grupo tratado).

Palabras clave: Malaria, metopreno, inhibidores del crecimiento, *Anopheles albimanus*, control bioquímico, larvas, pupas, vectores.

INTRODUCCIÓN

Anopheles albimanus Wiedemann ha sido considerado en condiciones naturales como el principal vector de la malaria humana en América Central (Carrillo *et al.*, 1981). Metopreno es un análogo sintético de la hormona juvenil muy usado en el control de mosquitos vectores. La actividad biológica y química de la hormona juvenil y sus análogos fue ampliamente

discutida por Menn & Beroza (1972). Entre los grupos de insectos contra los cuales, tales productos prometen ser muy exitosos se encuentran los mosquitos de la familia Culicidae, grupo de suma importancia en Salud Pública como vectores de enfermedades tropicales (Mulla *et al.*, 1974).

En los insectos, las mudas tienen lugar de un instar larval al otro, en presencia de altos valores de la hormona juvenil y la ecdisona. Un exceso de ecdisona causa la muda. En cambio, valores muy altos de la hormona juvenil mantienen al mosquito en su estado normal (Arias, 1973). Cuando el insecto alcanza el punto crítico de su metamorfosis para pasar de larva a la fase pupal, los valores de la hormona juvenil bajan (Bower, 1971). En muchos insectos el desarrollo del huevo también está bajo la influencia de la hormona juvenil. Existen evidencias de que esta hormona estimula

¹ Postgrado Entomología. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. UCV, Maracay, estado Aragua. Venezuela.

² Ministerio del Poder popular para Salud. Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon", Centro de Investigación en Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental. Laboratorio Entomológico de Malaria, Las Delicias. Maracay, estado Aragua, Venezuela.

*Autor de correspondencia: jbertimoser@yahoo.com

la vitelogénesis o síntesis del vitelo (Engelmann, 1970; Chen *et al.*, 1976). En el mosquito adulto, el desarrollo de los huevos se produce cuando la hembra realiza su comida sanguínea, esta alimentación estimula la liberación de una hormona del cerebro, llamada hormona neuro-secretora del desarrollo del huevo (Lea, 1972). Esta hormona estimula al ovario para liberar ecdisona (Hagedorn & Fallon, 1973), la cual actúa sobre el cuerpo graso causando la síntesis del vitelo o vitelogénesis (Hagedorn & Judson, 1972).

Delgado (1996, 2005) llevó a cabo estudios con varias formulaciones de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) en larvas de *Anopheles aquasalis*, estos estudios demostraron que al aumentar la densidad de 0,21 larvas/cm² (20 larvas/envase) hasta 0,53 larvas/cm² (50 larvas/envase), el porcentaje de mortalidad provocado por la CL95 de cada formulación (24 horas post-tratamiento), disminuyó en relación al observado a la menor densidad probada (0,21 larvas/cm²). En los tratamientos con Vectobac-G y Tecknar, la reducción de la mortalidad fue muy significativa a las densidades de 40 y 50 larvas/envase, bajando del 100 % al 73,0 y 86,0 % respectivamente. Este autor concluyó que al aumentar la densidad larvaria de *An. aquasalis*, se observó una clara reducción en la eficacia de ambas formulaciones (Delgado, 1996, 2005).

El efecto del aumento de la densidad larval sobre la eficacia de *Bacillus thuringiensis israelensis* ha sido estudiado para varias especies de mosquitos. Al respecto, Mulla (1990) obtiene resultados similares a los señalados por Delgado (1996, 2005), al evaluar el efecto del aumento de la densidad de larvas de *Culex quinquefasciatus* sobre la eficacia de Bactimos (Bti a 3.000 uti/mg). Igualmente, Aly *et al.* (1988) encontraron una disminución en la mortalidad larval de *An. albimanus*, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* tratadas con *Bacillus thuringiensis israelensis* a medida que aumentó la densidad de las mismas. En este caso, la reducción de la efectividad se observó más drásticamente cuando los factores introducidos modificaron el comportamiento alimenticio de las larvas; factores tales como: incremento en la edad de la larva, variación en la densidad larval, presencia o ausencia del alimento. En cuanto a estudios del efecto de la densidad larvaria de *An. albimanus* sobre la eficacia de metopreno, puede afirmarse que la disponibilidad actual de referencias es inexistente, no encontrándose hasta al presente ninguna cita bibliográfica al respecto.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la densidad larvaria de *An. albimanus* sobre la eficacia de metopreno, utilizando larvas provenientes de una población colonizada de *An. albimanus*, mantenida durante cinco años en el Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon" de Maracay, adscrito al Ministerio del Poder Popular para la Salud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los experimentos del estudio fueron realizados en el Laboratorio Entomológico del Centro de Investigación en Enfermedades Endémicas del Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon" en Maracay, Venezuela. Las condiciones ambientales para la cría de larvas de *An. albimanus* y para la realización de cada ensayo fueron las siguientes: temperatura de $29,0 \pm 1,0$ °C; humedad relativa de $80,0 \pm 5,0$ % HR y un foto-período de 12:12 horas (luz/oscuridad). En cada ensayo se utilizaron larvas del IV estadio temprano (entre 0 - 16 h después de la muda) las cuales se obtuvieron de la progenie de hembras provenientes de una población colonizada de *An. albimanus* mantenida durante cinco años en el Centro de Investigación antes mencionado.

La población inicial de esta colonia proviene de hembras *An. albimanus* capturadas en Caño Rico, localidad adyacente al Lago de Valencia, a 30 km de la ciudad de Maracay, estado Aragua. Para el establecimiento y el mantenimiento de la colonia de esta especie se siguió la metodología descrita por Zerpa *et al.* (1997). En la cría de las larvas y la preparación de todas las soluciones o concentraciones se utilizó agua mineral de consumo humano embotellada en envases de plástico de 18 litros de capacidad. La formulación granulada de metopreno evaluada tiene 1,5 % de ingrediente activo.

Durante cada experimento, las larvas fueron alimentadas con la misma fórmula usada por Delgado (2005) en la cría de *Anopheles aquasalis* Curry. Este alimento fue una mezcla de Ictiosan® (alimento para peces, 55,0 %), levadura de cerveza (15,0 %), avena (7,5 %), germen de trigo (7,5 %) e hígado de res deshidratado en polvo (15,0 %). Se suministraba el alimento diariamente, entre las 8:00 y 8:30 horas; para lo cual se agregaban 20 mg de la mezcla en cada envase con larvas, tanto tratados como no tratados (controles).

Obtención de las larvas experimentales.

Se colocaron machos y hembras provenientes de la colonia, dentro de cestos o jaulas de metal de 19 x 29 x 32 cm, se suministró un algodón empapado en miel de abeja diluida en agua como fuente de alimento. En estas jaulas se llevó a cabo el apareamiento de adultos de ambos sexos. Las mismas están recubiertas casi totalmente de tela metálica, salvo en la parte superior, que cuenta con una malla fina de tul, donde se inmovilizó una paloma que se colocó con la parte dorsal descubierta, de modo que se permitiera su contacto a través del tul con las hembras y poder llevar a cabo su alimentación. Una vez alimentadas y apareadas, en el fondo de estas jaulas se colocaron pedazos de papel de filtro humedecido con agua para mantener la humedad relativa y estimular la oviposición. Después se esperó cuatro días para iniciar el retiro y conteo de huevos. Cada día se extraía el papel de filtro con las posturas, se procedía al conteo de huevos y se sustituía este papel por uno limpio. Las larvas de *An. albimanus* emergidas de estos huevos eclosionados, fueron utilizadas para la realización de los respectivos ensayos para determinar el efecto de la densidad larvaria sobre la eficacia de metopreno.

Determinación del efecto del aumento de la densidad larvaria sobre la eficacia.

Larvas de *An. albimanus* del cuarto instar temprano fueron expuestas o tratadas a la concentración de 0.150 ppm. Esta cantidad de metopreno en mg (0.150) fue pesada y se colocó en envases plásticos circulares de 20 cms de diámetro y 5 cms de altura junto con 1 lt de agua mineral. Las densidades de larvas probadas fueron 20, 40, 80, 100 y 160 larvas/L (1 L / envase a 0.150 ppm). Se colocaron de forma simultánea las respectivas cantidades de larvas para todos los tratamientos y cada grupo control; el cual solo contenía la respectiva cantidad de larvas (20, 40, 80, 100 y 160) en 1L de agua mineral no tratada. Se aplicó un diseño experimental completamente aleatorio (aleatorizado). Se prepararon tres repeticiones por tratamiento, con igual número de repeticiones tanto en el control como en cada tratamiento (densidad). La mortalidad de pupas solo fue registrada a partir del tercer día de exponer las larvas al producto. Diariamente, entre las 14:00 y 14:30 horas, se registró el número de pupas formadas, pupas muertas y adultos emergidos por cada envase tratado y su respectivo control. Se efectuaron dos ensayos sucesivos aplicando la misma metodología

anterior. La temperatura promedio en ambas pruebas fue de $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y la humedad relativa fue de $80\% \pm 5\%$. En cada tratamiento y control se determinó el porcentaje de mortalidad de pupas y se aplicó un análisis de varianza con un solo criterio de clasificación o de una vía. Estos porcentajes fueron transformados a arcoseno a fin de normalizar los datos y luego aplicar las pruebas estadísticas de Duncan y del mínimo rango significativo con un nivel de significancia del 5 %. La mortalidad observada fue corregida con la mortalidad del control, solo en los casos en que ésta excedió del 5 % y según la fórmula siguiente: % Mortalidad corregida = $(X - Y / X) \times 100$, donde X = Porcentaje de larvas vivas en el control, e Y = Porcentaje de larvas vivas en el tratamiento (Abbott, 1925).

El nivel del agua en cada envase, tanto control como tratado, se mantuvo igual durante la duración del ensayo; para ello fue necesario colocar otro envase con la misma cantidad de agua y diariamente se vaciaba su contenido en un cilindro graduado, lo cual permitía obtener el volumen exacto de agua (que se evaporaba) a ser agregada; manteniéndose así la concentración inicial del producto en cada envase tratado (0.150 ppm).

RESULTADOS

Según los resultados obtenidos en ambos ensayos, el aumento de la densidad larvaria afectó negativamente la efectividad del producto (Tablas I y II). Al analizar el porcentaje de mortalidad de pupas en función del aumento de la densidad larvaria, en ambos ensayos se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas entre tratamientos o densidades (Tablas I y II). Asimismo, puede observarse como a medida que aumentó la densidad larvaria disminuyó el porcentaje de pupas muertas, es decir, disminuyó la efectividad del producto; sobre todo a las mayores (80, 100 y 160 larvas) densidades probadas (Tablas I y II). Las pruebas de análisis de correlación y regresión entre la densidad de larvas y la mortalidad de pupas (Fig. 1 y 2) confirmaron la presencia de una relación lineal e inversa entre en ambas variables (en ambos ensayos), es decir, que a mayor densidad larvaria menor porcentaje de mortalidad por efecto de metopreno ($y = 87.08 - 0.3605 x$; $y = 86.393 - 0.421 x$; x = densidad larval). Asimismo, en ambos casos se observó una alta correlación negativa ($r = - 0.96641$; $y r = - 0.93456$ respectivamente) entre las dos variables (Fig. 1 y 2).

Tabla I. Porcentajes de mortalidad de pupas de *Anopheles albimanus* a diferentes densidades de larvas del IV instar temprano expuestas a una concentración de 0.15 ppm de metopreno (Primer ensayo).

Densidad Larvas/litro	Densidad Larvas/cm ²	% Mortalidad por replicación	% Mortalidad Promedio *
20	0,063694	65 - 90 - 95	83,3 a
40	0,127388	77,5 - 77,5 - 55	70,0 a
80	0,254777	46,3 - 51,3- 56,3	51,3 b
100	0,318471	31- 61 - 81	57,6 b
160	0,509554	17,5 - 40,6	29,0 c

* Porcentajes de mortalidad seguidos por letras distintas difieren entre si ($p < 0.05$), al aplicar las pruebas de Duncan y del mínimo rango significativo con un nivel de significancia del 5 %. Los datos originales fueron transformados a arcoseno y corregidos según la fórmula de Abbott. Promedios de tres repeticiones por tratamiento, salvo con la densidad de 160 larvas (2 repeticiones).

Tabla II. Porcentaje de mortalidad de pupas de *An. albimanus* a diferentes densidades de larvas del IV instar temprano expuestas a una concentración de 0.15 ppm de metopreno (Segundo ensayo).

Densidad Larvas/litro	Densidad Larvas/cm ²	% Mortalidad por replicación	% Mortalidad Promedio *
20	0,063694	77-85-65	75,6 a
40	0,127388	67,5 -80 -70	72,5 a
80	0,254777	22,5 -51,3- 66,3	46,7 b
100	0,318471	37- 62 - 61	53,3 b
160	0,509554	13,1 -11,9 -22,5	15,8 c

* Porcentajes de mortalidad seguidos por letras distintas difieren entre si ($p < 0.05$), al aplicar las pruebas de Duncan y del mínimo rango significativo, con un nivel de significancia del 5 %. Los datos originales fueron transformados a arcoseno y corregidos según la fórmula de Abbott. Promedios de tres repeticiones por tratamiento (densidad).

Fig. 1. Relación lineal entre la mortalidad de pupas de *An. albimanus* y la densidad larvaria de esta especie en el grupo tratado con metopreno.

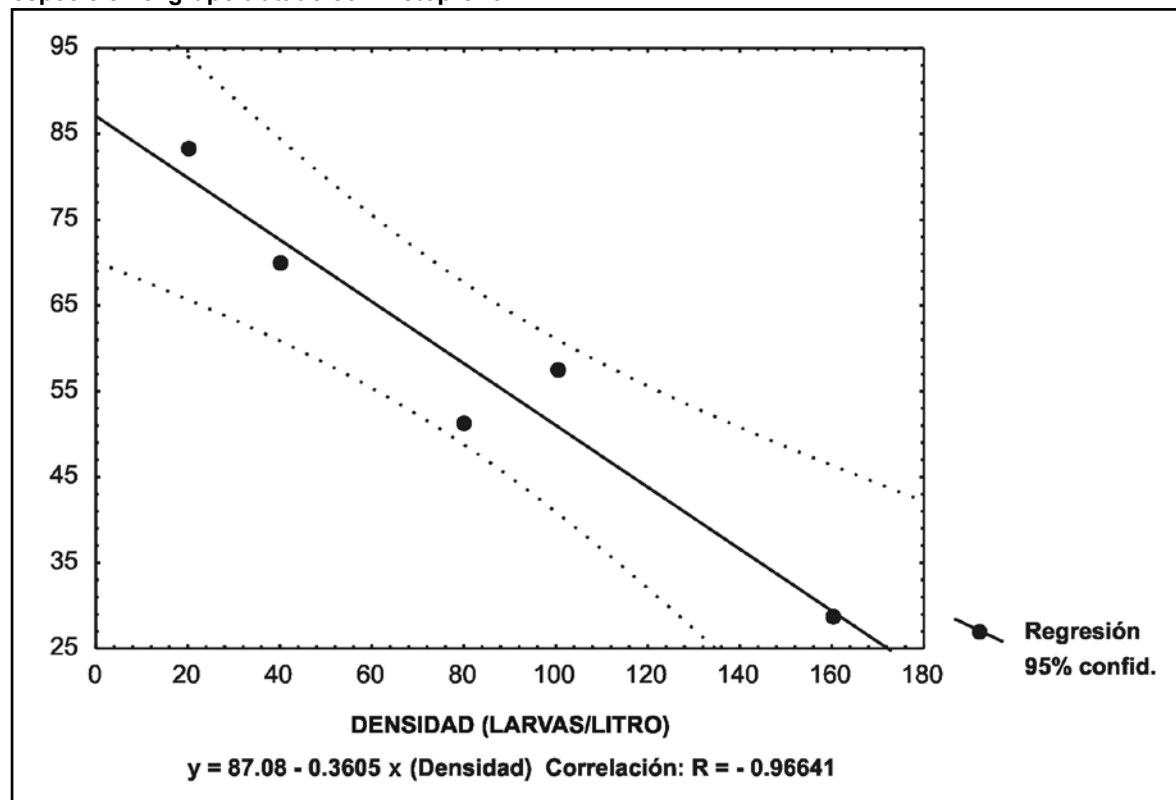


Fig. 2. Relación lineal entre la mortalidad de pupas de *An. albimanus* y la densidad larvaria de esta especie en el grupo tratado con metopreno.

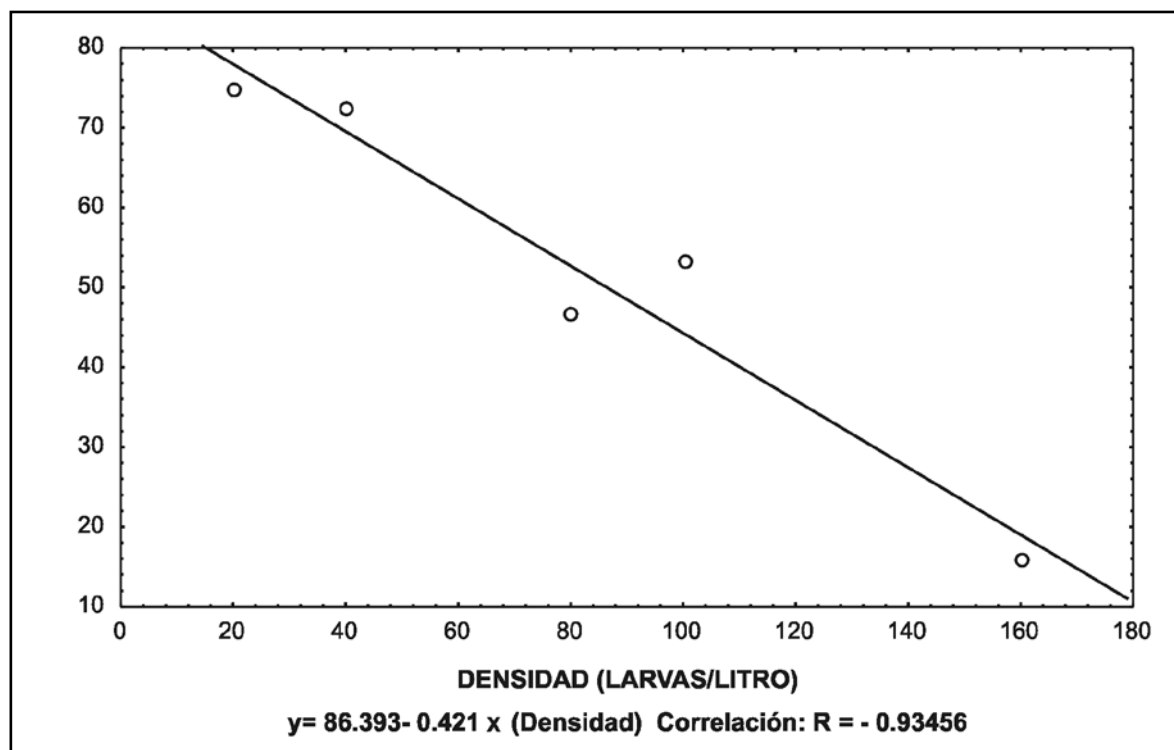


Fig. 3. Duración promedio del periodo (días) de larva del IV instar-pupa a diferentes densidades larvarias tanto en el grupo control como el grupo tratado con metopreno.

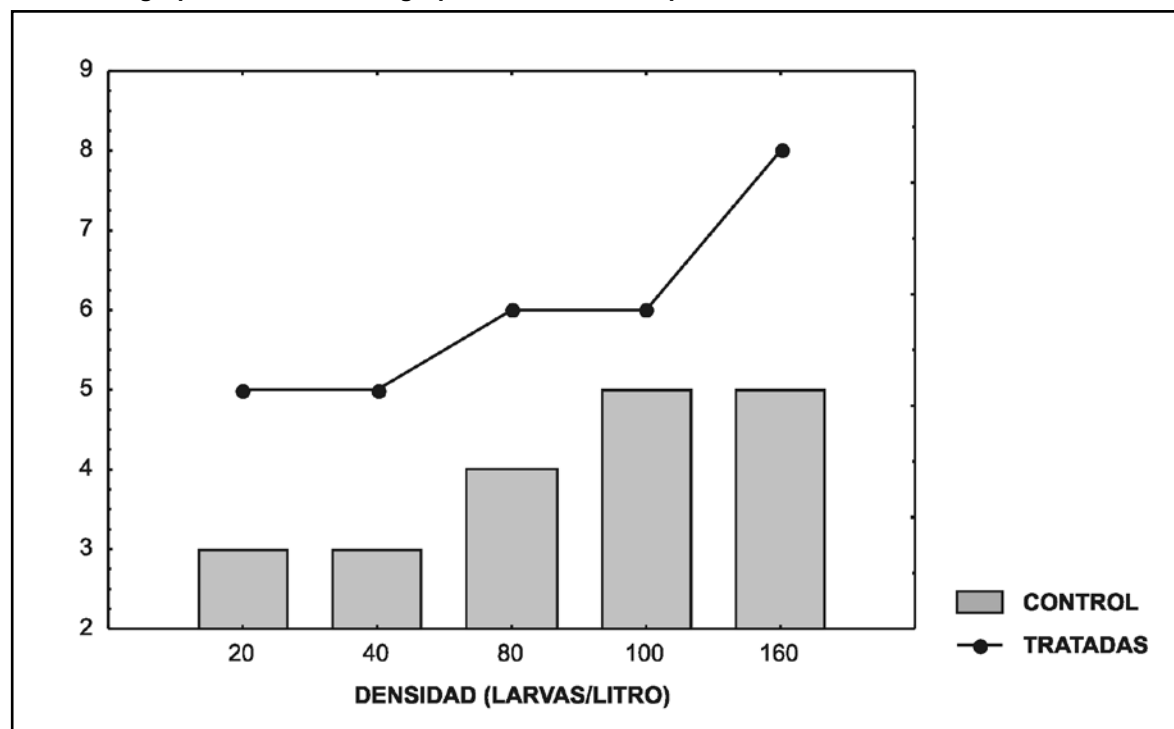
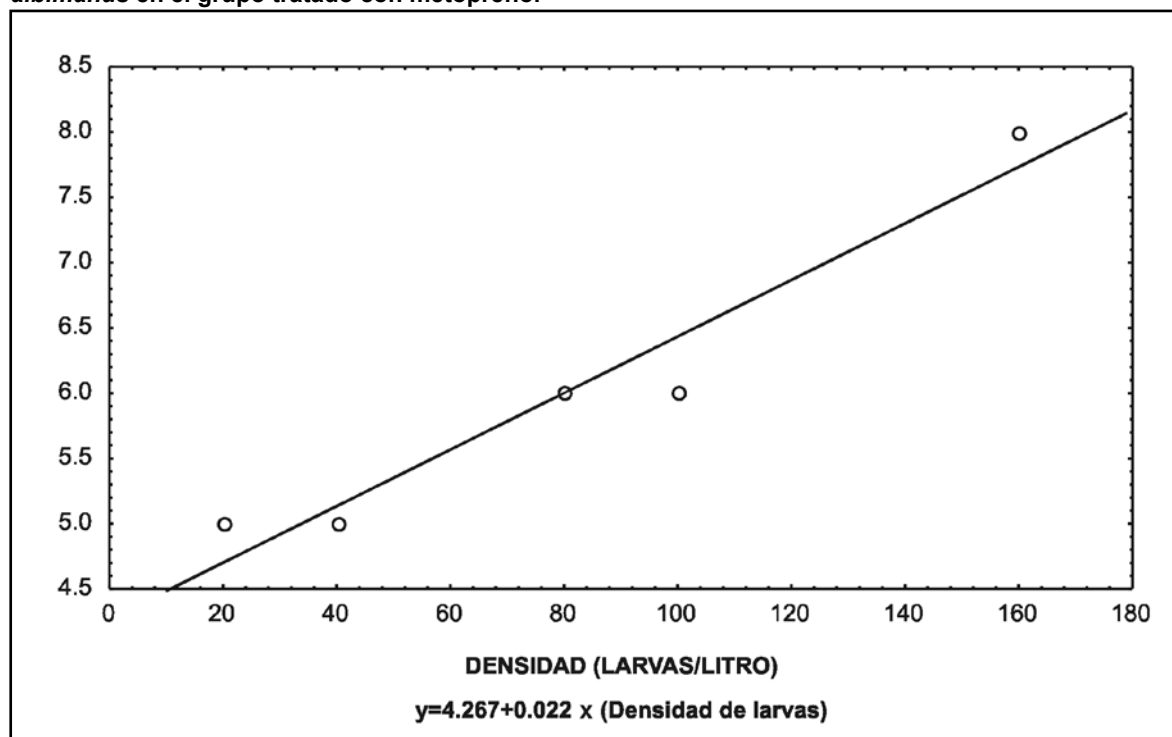


Fig. 4. Relación lineal entre la duración del periodo larva del IV instar-pupa y la densidad larvaria de *An. albimanus* en el grupo tratado con metopreno.



Por otro lado, también se pudo determinar que tanto en el grupo tratado como en el control, a medida que aumentó la densidad de larvas aumentó la duración del periodo larva del cuarto instar-pupa (Fig. 3); aunque este aumento fue mucho más evidente en el grupo tratado que en el control (Fig. 3). Según este resultado, tanto el aumento de la densidad larvaria como el tratamiento con metopreno afectaron (alargaron) la duración del periodo larva del cuarto instar-pupa. Asimismo, entre la densidad de larvas y la duración del periodo larva del IV instar-pupa, en el grupo tratado, se presentó una relación lineal directa entre las variables mencionadas (Fig. 4).

DISCUSIÓN

Varias citas señalan la presencia de una relación lineal e inversa entre la densidad larvaria de *Culex pipiens* y *Aedes vexans* y la mortalidad larval, causada por *Bacillus thuringiensis israelensis* o *B. sphaericus* (Becker *et al.*, 1992, 1993); sin embargo no existen referencias en relación a este aspecto y la utilización de metopreno con especies de *Anopheles*, *Culex* o *Aedes*.

El comportamiento gregario en insectos acuáticos es una estrategia para favorecer la supervivencia durante las etapas inmaduras, sobre todo frente a las condiciones climáticas adversas y/o los enemigos naturales. Esto se puede evidenciar en el campo en los criaderos naturales de muchas especies de mosquitos (Mogi, 1984; Service, 1985, 1993; Sandoski *et al.*, 1987). Tal comportamiento puede afectar negativamente la eficacia de este producto (metopreno) en condiciones naturales, debido a que su modo de acción es por contacto y no por ingestión como es el caso de las toxinas estomacales de *Bacillus thuringiensis israelensis* y *B. sphaericus* (Aly *et al.*, 1988). Existen límites de densidad máxima en la cual la supervivencia de larvas será nula o muy baja, sobre todo cuando se trabaja con larvas de mosquitos en condiciones de laboratorio. Esto se llegó a evidenciar en ambos ensayos, ya que cuando se aumentó la densidad de 160 a 320 larvas por litro, la supervivencia del grupo control fue sumamente baja (casi nula) muy probablemente debido a la competencia por alimento y espacio.

Efficacy of metopreno for the control of *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) in laboratory conditions: effect of larval density.

SUMMARY

Anopheles albimanus Wiedemann has been considered under natural conditions as the main vector of human malaria in Central America. Metoprene is a synthetic juvenile hormone which is used in the larval mosquito control. The aim of this study was to evaluate the efficacy of metoprene in relation to the larval density of colonized *An. albimanus*. A concentration of 0.15 ppm active ingredient of metoprene was evaluated at five larval densities: 20, 40, 80, 100 and 160 larvae/lit. According to the results obtained the increase of the larval density reduced the mortality of pupae and negatively affected the product's efficacy. Significant differences occurred between treatments (densities) and as the number of larvae increased, the percentage of dead pupae diminished. Increase of pupae survival was observed, especially in the major densities (80, 100 and 160 larvae/lit). The duration of the larva IV instar-pupa period was modified (lengthened) due to the larval density and metoprene effects. The statistical analysis revealed a negative relationship between the mosquito larval density and mortality of pupae; while there was a positive relationship between the mosquito larval density and the duration of the larva IV instar-pupa period.

Key words: Malaria, metoprene, growth inhibitors, *Anopheles albimanus*, biochemical control, larvae, pupae, vectors.

REFERENCIAS

- Abbott W. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Ent.* **18**: 265-267.
- Arias J. (1973). Biophysiological activity of insect growth regulators against mosquitoes (Dissertation of PhD). Riverside California Univ. 100 pp.
- Aly C., Mulla M., Xu B. & Schnettre W. (1988). Rate of ingestion by mosquito larvae (Diptera: Culicidae) as a factor in the effectiveness of a bacterial stomach toxin. *J Med Entomol.* **35**: 191-196.
- Becker N., Zgomba M., Ludwing M., Petric D. & Rettich F. (1992). Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *J Amer Mosq Control Assoc.* **8**: 285-289.
- Becker N., Ludwing M., Beck M. & Zgomba M. (1993). The impact of environmental factors on the efficacy of *Bacillus sphaericus* against *Culex pipiens*. *Bull Soc Vector Ecol.* **18**: 61-66.
- Bower W. S. (1971). Insect hormones and their derivatives as insecticides. *Bull World Health Org.* **44**: 381-89.
- Carrillo, M., Suárez, M., Morales, A. & Espinal, C. (1981). Colonización y mantenimiento de una cepa colombiana de *Anopheles albimanus* Wiedemann. *Biomédica.* **1**: 64-66.
- Chen T., Couble P., De Lucca F. & Wyatt G. (1976). *The Juvenile Hormones*. New York: Plenum Press, 529 p.
- Delgado N. (1996). *Implicaciones ecofisiológicas de la introducción de Bacillus thuringiensis var. israelensis como controlador biológico de Anopheles aquasalis (Diptera: Culicidae)*. [Tesis de grado]. Maracay: Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. 245 p.
- Delgado N. (2005). Factores que afectan la eficacia y persistencia de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sobre *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae), vector de malaria en Venezuela. *Entomotopica.* **20**: 213- 233.
- Engelmann F. (1970). *The physiology of insect reproduction*. New York: Pergamon Press, 312 p.
- Hagedorn H. & Judson C. (1972). Purification and site of synthesis of *Aedes aegypti* yolk proteins. *J Exp Zool.* **182**: 367-77.
- Hagedorn H. & Fallon A. (1973). Ovarian control of vitellogenin synthesis by the fat body in *Aedes aegypti*. *Nature.* **244**: 103-05.
- Lea A. (1972). Regulation of egg maturation in the mosquito by the neurosecretory system: the role of the corpus cardiacum. *Gen Comp Endocrin.* **8** (Suppl. 3): 602-08.

- Menn J. J. & Beroza M. (1972). *Insect juvenile hormones, chemistry and action*. Academic Press. New York. 341 pp.
- Mogi M. (1984). Distribution and overcrowding effects on mosquito larvae (Diptera: Culicidae) inhabiting Taro axils in the Ryukus, Japan. *J. Med. Entomol.* **21**: 3-8.
- Mulla M. S., Norland R., Ikeshoji T. & Kramer W. L. (1974). Insect growth regulators for the control aquatic midges. *J. Econ. Entomol.* **67**: 165-70.
- Mulla M. (1990). *Activity, field efficacy, and use of Bacillus thuringiensis israelensis against mosquitoes*. pp:134-160. In: *Bacterial Control of Mosquitoes & and Black Flies*. H. de Barjac and D. Sutherland Editors. Rutgers Univ. Press.
- Service M. (1985). *Some ecological considerations basic to the biocontrol of Culicidae and other medically important insects*. pp: 9-30. In: *Intregrated mosquito Control Methodologies. Volume 2*. M. Laird and J. Miles Editors. Academic Press, London.
- Service M. (1993). *Mosquito Ecology. Field Sampling Methods*. 2nd. Edition. Elsevier Science Publishers, LTD. 988 p.
- Sandoski, C., Kring, T. Yearian, W. And Meisch, M. (1987). Sampling and distribution of *Anopheles quadrimaculatus* immatures in rice field. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* **3**: 611-615.
- Zerpa N, Moreno J, González J, Noya, O. (1997). Colonization and laboratory maintenance of *Anopheles albimanus* Wiedemann in Venezuela. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* **40**: 173-76.

Recibido el 15/06/2007
Aceptado el 25/03/2008

Percepciones y comportamiento de la población de un área endémica de Argentina en relación a la transmisión de *Tunga penetrans* (Siphonaptera: Tungidae)

Elena Beatriz Oscherov^{1*}, Alicia María Francisca Milano¹ & Aníbal Roque Bar²

El objetivo de este trabajo fue conocer las percepciones y conductas respecto a *Tunga penetrans* de los habitantes de la localidad de Santa Ana de los Guácaras, Corrientes, Argentina. Se relevaron 46 hogares seleccionados de modo accidental, donde se aplicó una encuesta semiestructurada. En 182 personas evaluadas, se registró una infestación de 68,1%, siendo niños y mujeres los más afectados, con lesiones en pies y manos más frecuentemente. 98% (n=63) de los perros evaluados estaban infestados. 34,8% de las personas reconoció a "tunga" como una pulga, aunque nadie conocía el ciclo de vida ni el mecanismo de transmisión. Los pobladores usan un instrumento punzante para extraer la pulga de la piel y 47,8% se desinfecta posteriormente. La persistencia de tungiasis en el área puede atribuirse a diseminación por animales, falta de su valoración como problema de salud, desconocimiento de métodos de combate y falta de planificación comunitaria para adoptar medidas de control.

Palabras clave: *Tunga penetrans*, transmisión, percepciones, conductas.

INTRODUCCIÓN

Tunga penetrans (Linnaeus, 1758) (Siphonaptera: Tungidae) es una pulga que se encuentra distribuida en América del Sur, Islas del Caribe y África y es endémica en muchas regiones (Heukelbach *et al.*, 2001). En Argentina es conocida con los nombres de "pique", "vigua", "pulga de la arena", "tunga", etc.; es común en las provincias del norte, especialmente en áreas rurales (Soria & Capri, 1953). En Corrientes se colectaron ejemplares en localidades situadas en la costa del Río Paraná y en la capital de la provincia desde 1994 en el ámbito urbano, en barrios con calles de tierra (comunicación personal).

La tungiasis es una zoonosis que afecta al hombre, al perro y otros animales (Carvalho *et al.*,

2003; Muehlen *et al.*, 2003). La presencia de casos se verifica en los miembros de una misma familia y está relacionada con las características del suelo y condiciones climáticas favorables. Si bien las larvas se crían en diferentes tipos de suelos, los secos y arenosos favorecen su desarrollo (Carvalho *et al.*, 2003). También se encuentran en los pisos de cobertizos, viviendas y establos de animales (Maguiña-Vargas *et al.*, 2005). *T. penetrans* se asocia con una alta morbilidad. Su actividad produce una intensa irritación que puede ocasionar deformaciones de los dedos y pérdida de los mismos (Klimpel *et al.*, 2005). Asimismo, las lesiones producidas por este parásito pueden infectarse con bacterias patógenas (Feldmeier *et al.*, 2002).

En el campo de la salud, emerge la necesidad de indagar sobre una patología a través de la perspectiva subjetiva. Las cuestiones médicas precisan del acompañamiento humanístico para no dejar de lado los problemas sociales y psicológicos relacionados a las situaciones de enfermedad; de ahí la importancia del abordaje antropológico que investiga al hombre desde su forma de pensar y de hacer (Magnani *et al.*, 2007). En este sentido, los hábitos culturales y las representaciones que tienen las personas sobre una determinada enfermedad muchas veces favorecen, no solamente la

¹ Biología de Parásitos. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Avenida Libertad 5470 (3400) Corrientes, Argentina.

² Epistemología y Metodología de la Ciencia. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

*Autor de correspondencia: eboscherov@yahoo.com.ar

transmisión del patógeno, sino su permanencia en el lugar. Al respecto, los casos de tungiasis se relacionan con poblaciones de escasos recursos, con factores medio-ambientales y humanos y donde los profesionales de la salud dan poca importancia a esta patología (Feldmeier *et al.*, 2003). En esta línea de estudio, existen escasos trabajos publicados en Argentina y no se encontraron referencias acerca de la problemática relacionada con la tungiasis.

El objetivo del presente trabajo fue conocer las percepciones y el comportamiento respecto a *T. penetrans* y tungiasis de los habitantes de Santa Ana de los Guácaras, Corrientes, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en la localidad de Santa Ana de los Guácaras, situada a 27° 27' S y 58° 45' W. Dista 12 Km de la ciudad de Corrientes, capital de la provincia de Corrientes, Argentina. El suelo se caracteriza por ser arenoso y se observa la presencia de dos lagunas en el ejido urbano. En la región existe una escasa variación anual entre las temperaturas estivales (media: 27°C) e invernales (media: 16°C) y en el año hay cinco a seis días de heladas, lo que determina un clima mesotermal. El régimen pluvial es de aproximadamente 1500 mm anuales, con precipitaciones máximas en otoño y escasas en enero (Carnevali, 1994). Es un centro urbano que se caracteriza por sus calles sin pavimentar. Cuenta con 870 habitantes permanentes distribuidos en 273 viviendas.

El presente trabajo está enmarcado dentro de un estudio integral que aborda aspectos biológicos y socioculturales de las parasitosis urbanas (Milano *et al.*, 2007a; Milano *et al.*, 2007b). El contacto con la población se realizó desde la Institución Escolar N° 105 Pedro Matoso, donde se informó y explicó sobre el trabajo de investigación, a los directivos, docentes, alumnos y tutores a fin de generar interés e inducir a la participación. Se entregó a los tutores un formulario sencillo solicitando autorización por escrito para visitar sus viviendas. Se incluyeron todas las unidades domésticas de cuyos moradores se obtuvieron respuestas positivas.

Se relevaron 46 hogares seleccionados de modo accidental, valor suficiente para resumir las respuestas y detectar patrones generales de variación dentro de la comunidad, ya que a partir del mismo

no se obtuvieron respuestas diferentes por lo que se consideró saturada la muestra.

La obtención de datos se efectuó mediante encuestas semiestructuradas a los jefes de hogar. La encuesta constó de dos secciones; la primera incluyó interrogantes sobre aspectos biológicos relacionados con el parásito: infestación en humanos, localización del pique en el hospedador, época de abundancia, infestación en los animales domésticos y relación de presencia de tunga con los pisos de tierra. La segunda parte estuvo destinada a identificar diferentes aspectos socio-culturales: escolaridad y edad del encuestado, determinación taxonómica del pique, formas de contagio, forma de evitarlos y métodos de cura, técnicas de control, importancia del uso de calzado y propuestas de acción comunitaria.

Con la finalidad de organizar los datos para su tratamiento estadístico, se consideró persona expuesta a la que no poseía estudios formales (escolaridad) y a la que poseía estudios hasta el nivel primario, en tanto que a las restantes se consideró no expuestas. Asimismo las personas cuyas respuestas estuvieron en las categorías imprecisa, otros y no sabe se consideraron como desacertadas mientras que a las restantes se las trató como acertadas.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa Epidat 3.1. Se utilizó Odds Ratio (OR) para medir el grado de asociación estadística; el intervalo de confianza (IC) fue 95%.

Los estudios realizados se ajustaron a las condiciones establecidas por la Declaración Universal de los Derechos Humanos de 1948, las normas éticas instituidas por el Código de Núremberg de 1947, la Declaración de Helsinki de 1964 y sucesivas enmiendas y a lo normado por la Ley Nacional 25326 de protección de datos de las personas (Regulación Jurídica de las Biotecnologías).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aspectos biológicos

En las 46 viviendas encuestadas, habitaba un total de 182 personas, con un promedio de cuatro habitantes por domicilio (rango de 1 a 10 personas). En el momento de efectuada la encuesta se verificó infestación activa o cicatrices en 24 cohabitantes, de

los cuales 19 eran menores de 14 años. Se registró como caso también a las infestaciones previas, de acuerdo a referencias verbales de lo expresado por los encuestados. De este modo el total de afectados por *T. penetrans* fue 124 personas (68,1%). El porcentaje de infestación fue mayor en las mujeres (58,1%, n= 72) y fueron afectados tanto niños como adultos. Cabe aclarar que estos datos fueron obtenidos en forma indirecta por lo tanto los valores pueden estar subestimados o sobreestimados en su representatividad de la localidad de Santa Ana.

En 44 viviendas se verificó la presencia de perros (n= 63) los que estuvieron infestados en un 96,8%. Todos los encuestados aportaron datos precisos sobre tungiasis en perros, 10 de ellos refirieron haber observado en gatos, cuatro en cerdo, uno en gallina y uno en caballo, todos los casos registrados en el área de estudio.

Esta investigación reveló una alta infestación humana y de los animales de compañía, tal como ocurre en áreas endémicas donde los animales domésticos, especialmente perros y gatos, están frecuentemente infestados y la prevalencia es comparable a la de los humanos (Heukelbach *et al.*, 2004). El número promedio de piques por persona fue dos, con un mínimo de uno y un máximo de 13 ejemplares parasitando en forma simultánea. La localización más frecuente fue en los pies (63,2%) seguida por las manos (29,9%) y en menor proporción en piernas (n= 2), tobillos (n= 2), brazo (n= 1) y cabeza (n= 1). La infestación en los dedos de las manos se verificó especialmente en niños y en adultos que trabajaban la tierra en huertas familiares. Sin embargo, de acuerdo con la clasificación dada por Muehlen *et al.* (2003) se puede considerar que la frecuencia de lesiones atribuidas a *T. penetrans* por persona es baja. Este hecho podría deberse a que tanto las personas adultas como los niños tienen la práctica de extraer a las hembras de tunga en una etapa temprana de penetración, lo que impediría que se establecieran muchos ejemplares.

En los perros el promedio de piques fue cinco, con un máximo de 20 ejemplares al mismo tiempo, localizados en las patas. En los cerdos la infestación fue intensa siendo las patas y el vientre los sitios de penetración de preferencia de las pulgas.

Se comprobó que la localización en los miembros inferiores de las personas es la más frecuente, en coincidencia con trabajos llevados a cabo en Argentina

y otros países (Coscarón *et al.*, 2002; Njeumi *et al.*, 2002). La localización preferencial en los dedos, observada en los animales, coincide con otros trabajos (Klimpel *et al.*, 2005; Njeumi *et al.*, 2002).

La frecuencia de infestación fue mayor en las mujeres que en los hombres, a semejanza de lo citado por otros autores (Carvalho *et al.*, 2003; Muehlen *et al.*, 2003). Otros investigadores, sin embargo, obtuvieron una relación inversa (Njeumi *et al.*, 2002; Heukelbach *et al.*, 2005a). Njeumi *et al.* (2002) atribuyen esta diferencia a la costumbre de los hombres de jugar descalzos al fútbol. La divergencia de resultados podría deberse a que, en Santa Ana de los Guácaras, las niñas caminan descalzas o usan sandalias con mayor frecuencia que los niños, calzado que no representa una barrera para el acceso y penetración de la pulga en la piel.

Aspectos socio-culturales

Respecto al grado de instrucción, 50% (23/46) de los jefes de familia encuestados tenía estudios primarios, en su mayoría incompletos; 41,3% (n= 19) asistió a la escuela media y solamente cuatro poseían estudios superiores.

Del total de encuestados 8,7% (n= 4) dijo que el pique es una plaga, 19,6% (n= 9) desconoce que es el pique, el 37,0% (n= 17) expresó que es un "bicho" y 34,8% (n= 16) que es una pulga o algo parecido. En este último grupo, la identificación del organismo como pulga y parásito se relaciona con las siguientes propiedades: el salto, el ingreso a la piel en forma activa y el tamaño pequeño, destacándose la respuesta acertada de una encuestada sobre tunga como una pulga hembra (Tabla I).

Con estos resultados se establecieron tres niveles de conocimiento de los encuestados sobre la identificación del parásito: escaso, para quienes solo sabían que se trata de un animal pequeño, medio para quienes además opinaron que es una plaga o parásito vinculándolo con enfermedades y suficiente para quienes lo ubicaron entre las pulgas o insectos.

No se observó asociación estadísticamente significativa entre el nivel de instrucción de los entrevistados y las respuestas sobre la variable referida a la identificación del pique y la forma de transmisión (OR=0,98; IC 95% y OR=0,91; IC 95% respectivamente).

Ninguno de los entrevistados supo responder sobre el ciclo de vida de tunga y como se transmite. Solamente conocen el estado adulto, formas que para el 37,0% (n= 17) de los encuestados se originan de los

perros y la arena, para otro 37,0% (n= 17) solo de la arena y únicamente de los perros para el 19,6% (n= 9). Dos entrevistados admitieron no saberlo y uno de ellos afirmó que vienen de las plantas (Tabla II).

Tabla I. Concepciones de los pobladores de Santa Ana de los Cuácaras, Corrientes, Argentina sobre lo que es *Tunga penetrans*.

Categoría	Género	Escolaridad	Frecuencia	Respuestas
Imprecisa	F	Primaria	4	bicho, bichito, bicho chiquito, bichito negro
	M	Primaria	4	
	F	Secundaria	2	
	F	Secundaria	1	bichito plaga
	F	Secundaria	1	bichito muy chiquito, salta
	M	Secundaria	1	bichito chiquito que entra
Subtotal			13	
Aproximada	F	Primaria	1	bicho ponzoñoso semejante a una pulga porque salta
	F	Primaria	1	más chica que una pulga
	F	Secundaria	2	plaga, forma de pulga
	F	Secundaria	1	bicho raro, tipo pulga
	F	Terciaria	1	microbio, insecto tipo pulga
	M	Primaria	1	bichito chiquito, parecido a una pulga
	M	Terciaria	1	bicho, pulga o garrapata
Subtotal			8	
Precisa	F	Primaria	3	bicho pulga, pulga chiquita
	F	Secundaria	1	
	F	Terciaria	1	
	M	Primaria	4	
	M	Secundaria	2	pulga hembra
	F	Secundaria	1	
	F	Primaria	1	bichito que pica, pulga porque salta
Subtotal			13	
Otros artrópodos	F	Secundaria	1	piojos
	F	Primaria	1	bicho garrapata
Subtotal			2	
Otras	F	Primaria	1	una cosa que cuando entra se prende fuerte
	F	Secundaria	1	parásito
	F	Universitaria	1	
Subtotal			3	
No sabe	F	Primaria	3	lo ignoro
	F	Secundaria	2	
	M	Secundaria	2	
Subtotal			7	
Total			46	

Tabla II. Creencias de los pobladores de Santa Ana de los Cuácaras, Corrientes, Argentina sobre la transmisión de *Tunga penetrans*.

Categoría	Género	Escolaridad	Frecuencia	Respuestas
Del ambiente	F	Primaria	4	arena, tierra, polvo
	F	Secundaria	4	
	M	Primaria	1	
	M	Terciario	1	
	F	Secundaria	1	se hace, nacen de la arena
	M	Primaria	2	
	F	Primaria	1	de la arena, según el veterinario
	M	Primaria	1	basura, arena, agua
	F	Primaria	1	por la sequía
	Subtotal		16	
De los animales	F	Primaria	3	de los perros
	F	Secundaria	2	
	F	Universitaria	1	
	M	Secundaria	2	
Subtotal			8	
Del ambiente y los animales	F	Primaria	5	perro, arena
	F	Secundaria	6	
	F	Terciario	1	
	M	Primaria	2	
	M	Secundario	2	
	F	Primaria	1	perro, gato, tierra
	FF	PrimariaTerciario	11	perros que tiran en la arena; tierra, el perro disemina
Subtotal			19	
Otras	M	Primaria	1	del musgo, de las flores
	M	Primaria	1	nacen de algún lado
	M	Secundario	1	no sabe
Subtotal			3	
Total			46	

Algunas respuestas curiosas sobre el origen del pique fueron: “proviene de la basura y del agua”, “nacen de la arena”, “nacen de algún lado”, “proviene del polvo”, “nacen del musgo y de las flores”, demostrativas del desconocimiento sobre el ciclo de vida del parásito.

Respecto a la transmisión, 94,6% de los entrevistados percibe que algunas de las condiciones del entorno favorecen el establecimiento de la parasitosis. Relacionaron la presencia de tunga con los meses de calor y principalmente con la sequía, así como asociaron su desaparición con el comienzo de la estación

lluviosa. Acorde con esto 75,9% trata de combatirlas mediante el riego de viviendas y patios con agua y desinfectantes. En coincidencia, en Brasil se comprobó que la prevalencia de esta parasitosis es mayor durante la estación seca (Heukelbach *et al.*, 2005a).

Queda de manifiesto el conocimiento de los pobladores de Santa Ana sobre la preferencia de *T. penetrans* por suelos secos y arenosos. En consecuencia el riego con agua y algún producto desinfectante representa una práctica espontánea, útil como medida de prevención. En este sentido, si se tiene en cuenta que la mayor parte del ciclo biológico tiene lugar en el

suelo, mantener el suelo húmedo creando un ambiente poco propicio para el desarrollo de la pulga sería un mecanismo apropiado para su control (Atías, 1991).

También la población encuestada identificó a los perros como fuentes de contagio. Sin embargo no declararon adoptar alguna medida para proteger a los canes, si bien el 79,3% se ocupa de curarlos. Los perros tienen libre acceso a la calle y casas vecinas. A los dos perros libres de tunga no se les permitían salir del domicilio. Solo uno de los encuestados mencionó al gato como probable fuente de contagio.

El uso del calzado, apreciado como una forma de evitar al pique, fue señalado por 33,3% (n= 13) de los encuestados. Por otra parte 76,7% (n= 33) coincidieron en que no es una medida suficiente ya que fueron parasitados a pesar de estar siempre calzados. En la localidad, la mayoría de los niños no usan calzado para jugar en patios o veredas. Si bien el uso de zapatos o calzados cerrados se promueve como la mejor forma de evitar la infestación con *T. penetrans* (Brothers & Hickmann, 1980), la presente investigación revela que el pique es capaz de establecerse aun en estas condiciones según también lo comprueban Njeumi *et al.* (2002). Por otra parte, 37,0% (n= 17) de los encuestados no adopta ninguna medida de prevención por considerar que no se puede evitar la presencia de tunga.

Para extraer la pulga de la piel todos los pobladores manifiestan usar una aguja o espina de naranjo (*Citrus* sp.) y solo 47,8% (n= 22) se desinfecta posteriormente con alcohol o yodo. Únicamente acudieron a un centro de salud cuando se produjo una infección post extracción. En ningún caso se verificaron complicaciones graves. Los perros fueron curados lavándoles las patas con kerosén, gasoil o creolina y en un solo caso recibieron tratamiento de un profesional.

El uso de elementos punzantes (aguja o espina) sin desinfección previa o posterior a la extracción manual del parásito incrementa la posibilidad de contraer infecciones secundarias, lo que podría dar lugar a complicaciones extremas como el tétanos y la gangrena (Feldmeier *et al.*, 2003; Douglas *et al.*, 1995). En esta investigación no se comprobaron casos severos, pese a que menos de la mitad de los encuestados manifestaron desinfectarse, pero compensaron esta falta de cuidados con la consulta al centro de salud en casos de infección.

Respecto al concepto de salud ambiental, ninguno de los entrevistados tenía conocimiento o había escuchado alguna vez el término. Al indagar sobre técnicas de control y propuestas de acción comunitaria, se pudo detectar que los pobladores no asumen la tungiasis como un problema de salud ni se plantean la necesidad de emprender actividades de control en forma sistematizada y comunitaria.

Una perspectiva interesante de control es la propuesta por Klimpel *et al.* (2005), quienes sostienen que el tratamiento de los perros con químicos (Imidacloprid y Permetrina) disminuye la incidencia de tungiasis en humanos, al evitar la propagación de tunga en el entorno. Por otra parte el tratamiento con Ivermectina en humanos no solamente es un método eficaz para el control de las parasitosis, sino también presenta la ventaja de poder usarlo en forma masiva (Heukelbach *et al.*, 2005b).

En este sentido, es necesario intensificar las investigaciones acerca de la eficacia del tratamiento químico en el ambiente. Se comprobó que en aquellas regiones donde se fumigaron los suelos con insecticidas, en campañas antimaláricas, la presencia de *T. penetrans* disminuyó (Argumosa Valdés, 1959).

En conclusión, la permanencia de tungiasis en los habitantes del área de estudio se puede atribuir a los siguientes factores:

- la mayoría de los patios y veredas son de tierra arenosa, lo que favorece el desarrollo larval de *T. penetrans*.
- la diseminación efectuada por los perros u otros animales dificulta el control ambiental.
- la falta de valoración de la tungiasis como un problema de salud lleva a la población a la aceptación de la parasitosis como parte de las contingencias que les toca vivir.
- el desconocimiento de métodos efectivos de combate y la falta de una planificación desde la comunidad para adoptar medidas de control.

Por otra parte, es fundamental incorporar en la población el concepto de promoción de la salud y salud ambiental. Tal como se expresa en la Carta de Ottawa para la promoción de la salud (1986), “la participación efectiva y concreta de la comunidad en la fijación de prioridades, la toma de decisiones y la elaboración y puesta en marcha de estrategias de planificación para alcanzar un mejor nivel de salud es reforzar la

promoción de la salud". Por lo tanto, el acceso a la información y a la instrucción sanitaria estimularía la participación pública en la autogestión de la salud.

A partir del conocimiento sobre las percepciones y las conductas que tienen los pobladores sobre el "pique", es posible implementar una estrategia de educación sanitaria, que incluya conceptos sobre la identificación de *T. penetrans*, el desarrollo de su ciclo biológico y de transmisión, la patología que produce, el reconocimiento como un problema de salud y la importancia de la participación del conjunto de la comunidad en las medidas de prevención y control.

Este trabajo es un aporte al conocimiento de la compleja problemática de las parasitosis relacionadas con el ambiente, en el que emerge la importancia de aplicar métodos alternativos para explorar los conocimientos, las prácticas y el comportamiento humano.

AGRADECIMIENTOS

A los habitantes de Santa Ana de los Guácaras por su colaboración. A los licenciados Augusto Catalá y Mirta Almirón por su ayuda en la aplicación de las encuestas y a Milagros Barrios por su colaboración en la traducción del resumen. Este trabajo contó con el subsidio otorgado por la Secretaría General de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional del Nordeste. PI 050/07.

Perceptions and behaviour about the transmission of *Tunga penetrans* (Siphonaptera: Tungidae) in a population from an endemic area of Argentina

SUMMARY

The aim of this work was to know the perceptions and behaviour of the inhabitants of Santa Ana de los Guácaras, Corrientes, Argentina with regard to *Tunga penetrans*. Forty-six homes were selected and studied. The information was obtained by means of structural surveys. Infestation was 68.1% over one hundred and eighty two people. The major frequency was in children and women. Feet and hands were the most frequent sites of infestation. Of the evaluated dogs (n= 63), 96.8% were infested. 34.1% of people recognized the "tunga" as a flea and none of them knew its life cycle or how it was transmitted. The citizens use a sharp element to extract the flea from the skin

and 47.0% of them disinfect the wound afterward. The permanency of tungiasis in the area can be attributed to dissemination carried out by animals, to the lack of understanding and importance of the tungiasis as a health problem, the ignorance of methods to combat it and the lack of an adopted community plan of control measures.

Key words: *Tunga penetrans*, transmission, perceptions, behaviour.

REFERENCIAS

- Argumosa Valdés J. A. (1959). Enfermedades importadas: Tungiasis. En: *Medicina Neotropical Afroamericana*. Madrid: Editora Paz Montalvo. p. 180-2.
- Atías A. (1991). *Parasitología Clínica*. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago, Chile.
- Brothers W. S. & Hickmann R. A. (1980) Tungiasis in North America. *Cutis*. **25**: 636-8.
- Carnevali R. (1994). Fitogeografía de la Provincia de Corrientes. Gobierno de la Provincia de Corrientes. Inst Nac Tecnol Agrop.
- Carta de Ottawa para la promoción de la salud, Primera Conferencia Internacional sobre la Promoción de la Salud. Ottawa 1986; 21 nov.
- Carvalho R. W., Almeida A. B., Barbosa-Silva S. C., Amorin M., Ribeiro P. C. & Serra-Freire N. M. (2003). The patterns of tungiasis in Araruama Township, State of Río de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. **98 (Suppl 1)**: 31-6.
- Coscarón M. P., González A., Villalobos C. & Ranalletta M. A. (2002). Aportes al conocimiento de *Tunga penetrans* (Linné, 1758) (Siphonaptera): su bionomía, clínica, tratamiento y prevención en la República Argentina. En: *Salomón OD, compilador. Actualizaciones en Artrópodosología sanitaria argentina*. Serie Enfermedades Transmisibles. Fundación Mundo Sano, Ciudad de Buenos Aires, Argentina Publicación Monográfica 2: 249-52.
- Douglas Jones A. G., Llewelyn M. B. & Mills C. M. (1995). Cutaneous infections with *Tunga penetrans*. *British J Dermatol*. **133**: 125-7.

- Feldmeier H., Eisele M., Sabóia-Moura R. C. & Heukelbach J. (2003). Severe tungiasis in underprivileged communities: case series from Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* **9**: 949-55.
- Feldmeier H., Heukelbach J., Eisele M., Sousa A. Q., Barbosa L. M. & Cavalho C. B. (2002). Bacterial superinfection in human tungiasis. *Trop. Med. Int. Health.* **7**: 559-64.
- Heukelbach J., Costa A.M.I., Wilcke T., Mencke N., Feldmeier H. (2004). The animal reservoir of *Tunga penetrans* in severely affected communities of Northeast Brazil. *Med. Vet. Entomol.* **18**: 329-35.
- Heukelbach J., Oliveira F. A. S., Hesse G. & Feldmeier H. (2001). Tungiasis: a neglected health problem of poor communities. *Trop. Med. Int. Health.* **6**: 267-72.
- Heukelbach J., Wilcke T., Harms G. & Feldmeier H. (2005a). Seasonal variation of tungiasis in an endemic community. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **72**: 145-9.
- Heukelbach J., Wilcke T., Winter B. & Feldmeier H. (2005b). Epidemiology and morbidity of scabies and pediculosis in resource poor communities in northeast Brazil. *Br. J. Dermatol.* **153**: 150-6.
- Klimpel S., Mehlhorn H., Heukelbach J., Feldmeier H. & Mencke N. (2005). Field trial of the efficacy of combination of imidacloprid and permethrin against *Tunga penetrans* (sand flea, jigger flea) in dogs in Brazil. *Parasitol. Res.* **97**: 5113-20.
- Magnani C., Guimarães Oliveira B. & Dias Gontijo E. (2007). Representações, mitos e comportamentos do paciente submetido ao implante de marcapasso na doença de Chagas. *Cad. Saúde Pública.* **23**: 1624-32.
- Maguiña-Vargas C. J., Osorio F., Farías H., Torrejón D. & Alcorta T. (2005). Enfermedades por ectoparásitos. Segunda parte. *Dermatol. Peruana.* **15**: 38-50.
- Milano A. M. F., Oscherov E. B., Palladino A. C. & Bar A. R. (2007a). Enteroparasitosis infantil en un área urbana del nordeste argentino. *Medicina (Buenos Aires).* **67**: 238-42.
- Milano A. M. F., Oscherov E. B. & Legal A. Z. (2007b). Pediculosis y otras ectoparasitosis en una población infantil urbana del nordeste argentino. *Parasitol. Latinoam.* **62**: 83-8.
- Muehlen M., Heukelbach J., Wilcke T., Winter B., Mehlhorn H. & Feldmeier H. (2003). Investigations on the biology, epidemiology, pathology and control of *Tunga penetrans* in Brazil. II. Prevalence, parasite load and topographic distribution of lesions in the population of a traditional fishing village. *Parasitol. Res.* **90**: 449-55.
- Njeumi F., Nsangou C., Ndjend A. G., Koga, Ostanello F. & Pampiglione S. (2002). *Tunga penetrans* au Cameroun. *Rev. Méd. Vét.* **153 Suppl 3**: 176-80.
- Regulación Jurídica de las Biotecnologías. <http://www.biotech.bietica.org/bio-etica> (acceso el 01/Mar/2005).
- Soria M. J. & Capri J. J. (1953). Tétanos y piques. *Prensa Med. Arg.* **40**: 5-11.

Recibido el 20/02/2008
Aceptado el 24/04/2008

Conocimientos, prácticas y percepciones sobre malaria en la parroquia Yaguaraparo, estado Sucre, Venezuela, 2004

Mayira Sojo-Milano^{1*}, José Luis Cáceres G.², Eliecer Sojo-Milano³, Leticia Rondón⁴, Carlos González⁴ & Néstor Rubio⁴

El conocimiento sobre malaria es producto del aprendizaje en la experiencia individual, grupal y social. Para explorar el nivel de conocimientos, prácticas, opiniones y percepciones sobre salud local y malaria (causa, diagnóstico, prevención) en la población de la Parroquia Yaguaraparo, estado Sucre, Venezuela, se desarrolló un estudio cuali-cuantitativo, naturalista, de corte transversal, aplicando una encuesta individual con preguntas abiertas y cerradas sobre 123 individuos ubicados al azar. Los patrones obtenidos en palabras de los encuestados se cuantificaron en porcentajes. 92,7% consideró que su comunidad tenía problemas de salud y 88,8% citó malaria en primer lugar empleando la palabra paludismo. Como causa, 68,3% señaló al mosquito y 11,5% "aguas estancadas y basuras". El diagnóstico local en mayor frecuencia incluyó fiebre (30%) y dolor de cabeza (21,3%). La primera acción ante la fiebre fue "ir a tomarse la lámina" (57,7%). 84,5% respondió que la malaria se cura con el antimalárico oficial. 77,2% consideró que la malaria es evitable, mencionando 47,1%, "mantener la casa y el ambiente limpios" y 19,7% el "uso de antimaláricos" y "eliminación del vector". 86,2% de los encuestados negó usar mosquitero. 43% opinó que el insecticida aplicado por Malariología no era efectivo. 48,3% calificó como bueno el servicio local de salud y 93,2% declaró usarlo. Los resultados señalan la necesidad de implementar estrategias efectivas de comunicación en salud, sobre malaria, el mosquito vector y el mecanismo de transmisión, para que los habitantes se vinculen al control de la enfermedad.

Palabras clave: malaria, conocimientos, creencias, percepciones, prácticas.

INTRODUCCIÓN

La malaria o paludismo es una de las enfermedades más antiguas. Existen datos que sugieren su presencia en el hombre prehistórico y se describe en papiros egipcios y en los mitos chinos, donde se define como la acción conjunta de tres demonios: uno con un martillo (símbolo de la cefalea), otro con un cubo de agua helada (representativo de los escalofríos) y otro con un horno ardiente (la fiebre) (Ondasalud, 2003).

Las zonas endémicas de la enfermedad ocupan más de 100 países de África, Asia, Oceanía, Oriente Medio, América Latina y algunas islas del Caribe. Se calcula que causa entre 300 y 500 millones de casos por año con una mortalidad alrededor de 1,5 millones de personas. Noventa % de las cifras citadas corresponden al continente africano, afectando de forma inaceptable la salud y el bienestar económico de las comunidades más pobres del mundo (Gascón, 2006). A finales de 2004 había zonas de riesgo de transmisión de malaria en 107 países y territorios, y unos 3.200 millones de personas vivían en zonas de riesgo de transmisión (WHO, 2005).

El estado Sucre, donde se produce la mayoría de los casos en el foco malárico oriental del país, la malaria sigue siendo un problema importante de salud pública (Cáceres & Sojo-Milano, 2001), reportando durante el período 1999-2003, un acumulativo de 50.327

¹ Dirección Nacional de Epidemiología Ambiental. Ministerio del Poder Popular para la Salud.

² Departamento de Salud Pública. Universidad de Carabobo, Sede Aragua, Venezuela.

³ Fundación Venezolana para la Investigación Multidisciplinaria (FUNINVEST).

⁴ Fundación para la Salud del Estado Sucre - FUNDASALUD.

*Autor de correspondencia: msojom@yahoo.es

casos, 37,2% de la malaria de Venezuela en el lapso, con dos grandes episodios epidémicos en los años 2000 y 2002, los cuales determinaron a su vez el comportamiento de la enfermedad en el país. Con la incidencia reportada, el estado Sucre pasó del primer lugar de la casuística de la enfermedad y un estado de epidemia en el año 2002, al tercer puesto y una ubicación en el área de “seguridad” en la curva endémica del estado en el año 2003, representando 16,9 % de la casuística nacional. Esta drástica e importantísima disminución de casos alcanzó 68,6 % entre los dos periodos, luego de una intervención de alto impacto (Cáceres, 2004).

La experiencia a nivel mundial muestra que la malaria se perpetúa como resultado de la pobreza, fenómenos culturales, procesos migratorios y condiciones de vida insalubres que favorecen la transmisión (Carrasquilla, 2001; Sachs & Manaley, 2002). De allí que los modelos de intervención orientados solamente a los aspectos biológicos o ambientales, sin tener en cuenta las creencias y prácticas de los pobladores de las regiones endémicas, se traducen en medidas de control que no están acordes con las condiciones y necesidades locales, lo que en parte puede explicar por qué los programas de control no alcanzan la meta de erradicación de la malaria (Najera-Morrondo, 1979; Rojas *et al.*, 1992).

El conocimiento que las personas tienen de la malaria es el producto de lo aprendido en su experiencia individual, grupal y social. Este aprendizaje ocurre dentro de una comunidad y un marco cultural o contexto de vida que brindan las pautas para que las personas actúen o tengan una percepción frente a la malaria (Tanner & Vlassoff, 1998; Bonilla *et al.*, 1991).

Reconociendo la abundancia relativa de estudios cuantitativos con enfoque biologicista sobre la malaria del Estado Sucre, en el marco de un estudio con enfoque ecosistémico para valorar el aporte del comportamiento humano al perfil local de riesgo para malaria, así como por la necesidad de documentar referencias para definir estrategias de comunicación y promoción de la salud, se desarrolló el objetivo de explorar el nivel de conocimientos, prácticas, opiniones y percepciones sobre salud local y malaria en la población de la Parroquia Yaguaraparo, un área históricamente endémica de malaria, incluyendo causa, diagnóstico y medidas preventivas de la misma.

METODOLOGÍA

Para desarrollar el estudio de factores individuales relacionados con el comportamiento humano, vinculados al riesgo de enfermar por malaria en el Municipio Cajigal, se seleccionó la Parroquia Yaguaraparo (104 Km² y unos 11.000 habitantes) como área de estudio. En ésta se había comprobado la intensidad y persistencia de la transmisión malárica en distintas localidades, durante el decenio 1994-2003. En el Municipio, la red asistencial se compone de 1 Ambulatorio Urbano, 7 Ambulatorios Rurales, donde se ubican 9 centros de diagnóstico de malaria, soporte de la búsqueda pasiva de febriles en complemento de la actividad de trabajadores de campo (cazadores de malaria y visitantes rurales) asignados por localidad, encargados de la búsqueda activa de febriles, casa por casa, siendo administrado el tratamiento antimalarico gratuitamente y en presencia, por dicho personal.

El diseño del estudio tuvo carácter mixto, combinando elementos cualitativos y cuantitativos. Siguiendo a Patton (1987), se diseñó una encuesta estructurada con una serie de preguntas elaboradas con el propósito de conducir a cada participante por la misma secuencia de ellas, y empleando las mismas palabras, para reducir sesgos tanto por parte del encuestado como del encuestador. El instrumento de recolección de la información se estructuró a partir de trabajos previos realizados con informantes claves y grupos de discusión locales identificados por una sectorización geográfica con referencia en los centros de salud de Cajigal. Estos momentos metodológicos igualmente exploraron conocimientos, prácticas y percepciones sobre la causa, diagnóstico, tratamiento y prevención de la malaria (Sojo-Milano *et al.*, datos no publicados), para decidir cómo y cuáles preguntas elaborar, en formato cerrado y abierto. Las técnicas citadas permitieron listar las alternativas en el caso de las preguntas cerradas y, por su lado, las preguntas abiertas permitieron respuestas donde el participante empleaba sus propias palabras (enfoque naturalista) y el encuestador las registraba en el orden declarado, lo cual en conjunto hizo “abierto” al instrumento, aunque la estructura de las preguntas estuviera predeterminada (Patton, 1987). Antes de su aplicación definitiva, se hizo validación por expertos (sociólogos y malariólogos) y finalmente un estudio piloto (n=20; población El Paujil, Cajigal), el cual ayudó a hacer más claras las preguntas y a identificar la propiedad local en el uso de la palabra paludismo, en lugar de malaria. La

encuesta incluyó cinco tipos de preguntas, de los seis habituales (Patton, 1987), es decir, demográficas, de conocimiento, sobre experiencias/conductas, sobre opiniones/creencias y sentimientos.

Un censo de población, tanto para el casco (20 sectores, 5.432 habitantes) como para los alrededores (17 localidades, 4.774 personas) de la Parroquia, proporcionó el marco muestral requerido para ubicar a los participantes. Una vez completo el censo, se pudo asignar proporcionalmente, la cantidad adecuada de personas a ser encuestadas en cada estrato, a partir del tamaño mínimo de muestra (n) de 120 individuos, seleccionados al azar, empleando tablas de números aleatorios. La relación entre el tamaño de la muestra y el tamaño de la población determinó que la probabilidad que tuvo cada individuo censado en la Parroquia, de ser seleccionado por el azar para participar en el estudio fue de 0,01. Cuando los individuos seleccionados fueron identificados como no habitantes actuales en el área, estos fueron reemplazados por el habitante siguiente inmediato registrado en el censo. De esta manera, el diseño del estudio se ajustó como de corte transversal.

De cada participante se obtuvo el Consentimiento Informado, luego de explicar la razón, utilidad y beneficios del estudio. Esto se hizo tanto para los participantes adultos como para aquellos representantes de los menores. La frecuencia de no respuesta por renuencia fue de 0,8 %.

Las encuestas fueron revisadas dos veces, por omisiones o inconsistencias: primero en el campo, inmediatamente después de realizadas y luego, por el coordinador del trabajo, horas después, el mismo día. La calidad de esta revisión se verificó en la etapa de limpieza de la base de datos, misma que se trabajó en el programa EpiInfo versión 6.0. El análisis de las distribuciones permitió elaborar tablas y discriminar porcentajes.

RESULTADOS

Demográficos

La edad del grupo bajo estudio osciló entre 2 meses y 78 años, con mediana de 18 años. Los menores de 15 años representaron 42 % y los menores de 20 años, 52 % de los encuestados. El grupo de edad más frecuente fue el de 10 a 14 años, que reunió 20,3 % de los participantes. En el caso de los menores de 10

años, un representante respondió la encuesta. Hubo predominio del sexo masculino (53 %) entre los encuestados, 92 % de los cuales declararon ser naturales del Estado Sucre.

El nivel primario de instrucción fue hallado en 60 % de la población, aún cuando sólo 35 participantes tenían edades comprendidas entre 7 y 14 años. 26 % declaró tener instrucción con nivel medio y 5 % nivel superior. La muestra no incluyó personas de nivel técnico y la frecuencia de analfabetas estuvo en el orden de 9 %. La ocupación predominante de la muestra fue ser estudiante (37 %) y esta frecuencia estuvo seguida por los agricultores (18 %) y por el grupo dedicado a oficios del hogar (14 %).

La población reflejó baja movilidad hacia afuera del Municipio, al momento de la encuesta, pues 90 % declaró no haber pernoctado fuera de la localidad de residencia en el lapso de las dos semanas precedentes a la encuesta.

Antecedente malárico

En cuanto al antecedente malárico, 65 % de los encuestados había experimentado al menos un episodio de malaria. 54 % declaró su último episodio en el año 2003, en cualquier mes de ese año, con predominio en los trimestres I y IV. El segundo año declarado con más frecuencia fue 2002. Considerando que la encuesta se realizó en el mes de Febrero de 2004, un notable 11,3 % de los episodios fueron declarados como ocurridos durante ese mismo año. Los otros años declarados fueron de 1991 a 1994, 1996, 1998 y de 2000 a 2002.

Sólo 7 % reportó consumo de antimaláricos en los 15 días anteriores al momento de la encuesta y al explorar malaria, al interrogar por síntomas sugestivos, sólo una persona (0,8 %) declaró tener fiebre.

Opiniones/Creencias, Percepciones sobre salud local

En cuanto a percepciones sobre la salud comunitaria, 92,7 % de los encuestados consideró que su comunidad tenía problemas de salud, en general, de los cuales, 62 personas (31 %) mencionaron hasta dos problemas de salud y 29 personas (15 %) citaron hasta tres. Una persona hizo una referencia no válida y 7 declararon no saber.

Como problema de salud mencionado en primer lugar, 89,5 % se refirió a la malaria, siendo empleada la palabra paludismo por 87,8 %; la fiebre obtuvo 5,2 %. Le siguieron en frecuencia: gripe (3,4 %), diarrea, y aguas negras (0,9 %). Entre quienes declararon hasta un segundo problema de salud, las mayores frecuencias registradas fueron: gripe (29 %), diarrea (21 %), fiebre (19,4 %) y paludismo (6,5 %). Agrupando el resto de las respuestas, 12,9 % mencionó enfermedades infecciosas (cólera, dengue, hepatitis, enfermedades de transmisión sexual, neumonía, parasitosis y virosis). A anemia y vómito correspondió 3,2 % de la frecuencia (cada uno). Esta misma proporción (3,2) mencionó la “palometa”, haciendo referencia a *Hylesia metabus*, una mariposa asociada a lepidopterismo local. De las 29 personas que mencionaron hasta un tercer problema de salud, sólo una indicó paludismo (3,4 %). Los problemas más citados en tercer lugar fueron gripe (24,1 %), fiebre y diarrea (17,2 % cada una) (Tabla I).

En resumen, entre 207 menciones reiteradas sobre problemas de salud, la población encuestada hizo referencia a paludismo 108 veces (52,2 %) y a fiebre, 23 veces (11,1 %). Entre 53 personas que se limitaron

a mencionar sólo un problema de salud, 75,5 % señaló paludismo.

Conocimiento, Diagnóstico local de malaria

Para caracterizar cómo la población local diagnosticaba paludismo, se formuló la pregunta ¿Cómo sabe Ud. cuándo alguien tiene paludismo?, las construcciones realizadas por los encuestados generaron las frecuencias que registra la Tabla II.

De 123 personas encuestadas, 2 declararon no saber y de las 121 que respondieron, 1 transfirió al médico la capacidad de diagnosticar la enfermedad. Entre 120 personas que citaron hasta cuatro síntomas o signos, hubo un total de 310 menciones consistentes con la ilustración de un cuadro clínico de malaria, según la experiencia local. En general, el patrón más frecuente elaboró un cortejo sintomático que incluyó dolor de cabeza (21,3%), frío/escalofríos (19,7%), fiebre (18,1%), dolor en el cuerpo (16,1%) y fiebre con frío (11,9%), entre otros.

Como primera mención, la palabra fiebre se registró 69 veces entre las 120 personas que hicieron

Tabla I. Problemas de salud más importantes señalados por la población encuestada. Yaguaraparo, Venezuela, 2004.

Problema	Orden de declaración						Total	%
	Primero	%	Segundo	%	Tercero	%		
Paludismo	101	87,1	4	6,5	1	3,4	106	51,2
Malaria	2	1,7	-	-	-	-	2	1,0
Fiebre	6	5,1	12	19,4	5	17,2	23	11,1
Gripe	4	3,4	18	29,0	7	24,1	29	14,0
Diarrea	1	0,9	13	21,0	5	17,2	19	9,2
Otras infecciosas	-	-	8	12,9	2	7,0	10	4,7
Aguas negras	1	0,9	-	-	-	-	1	0,5
Anemia	-	-	2	3,2	-	-	2	1,0
Fatiga	-	-	1	1,6	-	-	1	0,5
Palometa	-	-	2	3,2	-	-	2	1,0
Vomito	-	-	2	3,2	1	3,4	3	1,4
Desnutrición	-	-	-	-	1	3,4	1	0,5
Respiratorias	-	-	-	-	2	7,0	2	1,0
Otros (Síntomas)	-	-	-	-	4	13,8	4	1,9
No Enfermo/ No Síntoma	1	0,9	-	-	1	3,4	2	1,0
Total	116	100	62	100	29	100	207	100

Tabla II. Diagnóstico de malaria por la población encuestada. Yaguaraparo, Venezuela, 2004

Síntoma/Signo	Orden de declaración									
	Primero	%	Segundo	%	Tercero	%	Cuarto	%	Total	%
Fiebre	38	31,6	11	10,4	7	9,8	-	-	56	18,1
Fiebre con Frío	29	24,2	3	2,8	3	4,2	-	-	35	11,3
Dolor de cabeza	8	6,7	37	34,9	16	22,5	3	23,1	64	20,6
Frío	13	10,8	11	10,4	10	14,2	1	7,7	35	11,3
Escalofrío	11	9,2	12	11,3	2	2,8	1	7,7	26	8,4
Dolor en el cuerpo	6	5,0	9	8,5	10	14,2	3	23,1	28	9,0
Dolor de huesos	3	2,5	9	8,5	8	11,3	-	-	20	6,5
Vómito	1	0,8	1	1,0	7	9,8	-	-	9	2,9
Palidez	5	4,2	1	1,0	-	-	1	7,7	7	2,3
Debilidad	-	-	2	1,9	2	2,8	-	-	4	1,3
“Amarillez”	-	-	2	1,9	-	-	1	7,7	3	0,9
Diarrea	-	-	2	1,9	1	1,4	-	-	3	0,9
Malestar	-	-	1	1,0	1	1,4	1	7,7	3	0,9
Temblor/Tembladera	1	0,8	-	-	1	1,4	-	-	2	0,6
Dolor de ojos	-	-	-	-	1	1,4	1	7,7	2	0,6
Fiebre y Escalofrío	1	0,8	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Frío y Fiebre	1	0,8	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Dolor de cintura	1	0,8	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Pinchazo de piel	1	0,8	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Tristeza	1	0,8	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Apatía	-	-	1	0,9	-	-	-	-	1	0,3
Mareo	-	-	1	0,9	-	-	-	-	1	0,3
Náusea	-	-	1	0,9	-	-	-	-	1	0,3
Ojos rojos	-	-	1	0,9	-	-	-	-	1	0,3
Picazón en cuerpo	-	-	1	0,9	-	-	-	-	1	0,3
Dolor de espalda	-	-	-	-	1	1,4	-	-	1	0,3
Falta de apetito	-	-	-	-	1	1,4	-	-	1	0,3
Decaimiento	-	-	-	-	-	-	1	7,7	1	0,3
Total	120	100	106	100	71	100	13	100	310	100

alusión a síntomas-signos, lo cual representa 57,5 %. Luego, independientemente del orden, de un total de 310 menciones de síntomas-signos, la palabra fiebre se registró 126 veces. En segundo lugar, 40,6 % mencionó fiebre; 21,3 % dijo dolor de cabeza, (expresado como dolor de cabeza-64 veces- y dolor en los ojos-2 veces-); 16,1 % dijo dolor en el cuerpo (28 veces expresado como dolor en el cuerpo, 20 veces como dolor en los huesos, 1 como dolor de cintura, 1 como dolor de espalda), 11,9 % dijo fiebre con frío, expresado como fiebre con frío -35 veces-, fiebre y escalofrío-1 vez-, frío y fiebre-1 vez-), 11,5 % dijo frío, 8,4 % dijo escalofrío.

La coloración de la piel fue aludida por 2,3 % de los encuestados, expresándolo como palidez -6 veces- y amarillez-2 veces-. 1,9 % mencionó debilidad (expresada como debilidad-4 veces-, apatía- 1 vez- y decaimiento-1 vez). 0,9 % mencionó diarrea.

Opiniones/Creencias

Para explorar prácticas y creencias respecto a la cura del paludismo, se preguntó "¿Con qué se cura el paludismo?". 64,2 % contestó "con las pastillas que da el Ministerio de Salud" (haciendo referencia

al tratamiento antimalárico), 19,5 % afirmó que con la combinación de Pastillas y Tratamiento Casero, lo cual concedió a las Pastillas una proporción de 83,7 % de confianza en la población encuestada. Adicionalmente, otras respuestas fueron: Tratamiento Casero más las Pastillas y Pastillas más Desparasitación, con 4,1 % cada una. También 4,1 % declaró no saber y 0,8 % argumentó que “eso no lo mata la pastilla....”, no proporcionando respuesta clasificable.

Para explorar valoraciones respecto a la causa del paludismo, se preguntó “¿A qué cree se debe el paludismo?”. 68,3 % contestó que al “mosquito/el zancudo/la plaga”, 9,8 % dijo “aguas sucias estancadas”, 6,5 % contestó que a un parásito. Las aguas limpias estancadas y basuras se registraron en 0,8 % cada una.

Para valorar la actitud hacia la probabilidad de evitar el paludismo, se preguntó “¿Se puede evitar el paludismo?”. 77,2 % respondió Sí, 14,5 % dijo No y 8,1 % dijo No saber.

A la pregunta “¿Cómo se puede evitar el paludismo?”, 98,4 % de las personas encuestadas señaló diversas opciones. Las respuestas más frecuentes estuvieron relacionadas con la percepción de la influencia del ambiente: en primer lugar, los participantes señalaron “Evitar aguas estancadas, mantener la casa y el ambiente limpios y evitar basuras” en 47,1 %. En segundo lugar, la mayoría consideró que el paludismo se puede evitar “con el tratamiento antimalárico” en 19,7 % (entendido como el oficial, las Pastillas). En tercer lugar, los encuestados señalaron la “eliminación del vector” en 19,7 %, expresándolo como fumigar, emplear un químico eficiente y eliminar al vector, enunciado a su vez como “Eliminar zancudo, Eliminando esos animales, Eliminar la plaga, Eliminar al mosquito, Matar la larva y Abatizar”. Siguieron en frecuencia medidas de protección como usar mosquitero y proteger las ventanas, en 7,0 %. Otras respuestas figuran en la Tabla III.

Experiencias/Conductas

A la pregunta de “¿Qué es lo primero que hace si tiene fiebre?”, 57,7 % contestó que “iba a que le fuese tomada la muestra de sangre/se tomaba la lámina” para diagnóstico de paludismo. Del resto, 27,6 % contestó que “se tomaba algo”, refiriéndose a automedicarse, 12,2 % contestó que “No hacía nada”

y 2,4 % dijo que “Esperaba/Buscaba al Cazador de Malaria” (persona contratada para ejecutar labores de vigilancia antimalárica).

Para valorar la experiencia respecto al uso de antimaláricos, se preguntó “¿Ha tomado el medicamento para el paludismo?”, a lo cual 81,3 % respondió Sí. A la pregunta de si tomarlo le ocasionó molestias, 59,3 % respondió NO. La molestia asociada al consumo de antimaláricos declarada con mayor frecuencia fue el prurito, enunciada como picazón. Le siguieron, en orden de frecuencia, insomnio (25 %), y mareo (22,9 %). La sumatoria de afecciones de la esfera gástrica acumuló 62,5 %, pudiendo interpretarse realmente como el primer efecto indeseado, entre la población encuestada Tabla IV.

A la pregunta “¿Usa mosquitero?”, 86,2 % de los encuestados contestó que No.

Cuando se preguntó “¿Qué hace para combatir la plaga?”, 62,6 % contestó que Usaba humo/plaquitas/espírales insecticidas; 27,6 % contestó que usaba ventilador; 6,5 % contestó que no hacía nada; 2,4 % dijo que usaba mosquitero y 0,8 % declaró Limpiar.

Opiniones/Creencias, Percepciones

Intentando evaluar la percepción de la población sobre una de las medidas de control vectorial del programa antimalárico, se preguntó: ¿Es efectivo el insecticida que aplica Malariología para combatir la plaga? 43 % contestó no, 35 % dijo que si y 22 % indicó a veces/es transitorio.

Ante la pregunta “¿Qué le parece el servicio de salud local?” la atención prestada por el servicio local de salud fue calificada como regular (50,8 %) y buena (48,3), 0,8 % dijo no saber.

Sentimientos

A la pregunta de “¿A dónde le gusta ir para que le atiendan, si se siente mal?”, 77 % de las veces, los encuestados declararon preferencia por acudir al Hospital de Yaguaraparo y 12,2 % indicó que prefería ir al ambulatorio cercano a su residencia; sólo 0,6 % señaló que acudiría al servicio de Malariología; 3,4 % mencionó los servicios de la Cazadora de Malaria. 6,1 % de las veces, se mencionó el uso de servicios fuera del Municipio Cajigal (Carúpano, 5 veces, Caracas, 2

Tabla III. Medidas para evitar el paludismo. Yaguaraparo, Venezuela, 2004.

Medida	Orden de declaración						Total	%
	Primero	%	Segundo	%	Tercero	%		
Evitar aguas estancadas	32	34,0	-	-	-	-	32	22,5
Casa/ambiente limpios	6	6,4	16	37,2	-	-	22	15,5
Limpiar zanjas	8	8,5	5	11,5	-	-	13	9,2
Evitar basuras	24	25,5	2	4,7	2	40	28	19,7
Tratamiento oficial	1	1,1	2	4,7	-	-	3	2,1
Remedios caseros	8	8,5	12	27,9	1	20	21	14,7
Fumigar	-	-	1	2,3	-	-	1	0,7
Químico eficiente	5	5,3	-	-	1	20	6	4,2
Eliminar vector	4	4,3	1	2,3	1	20	6	4,2
Usar mosquitero	2	2,1	2	4,7	-	-	4	2,8
Proteger ventanas	-	-	2	4,7	-	-	2	1,4
Educación	2	2,1	-	-	-	-	2	1,4
Hacer estudios	1	1,1	-	-	-	-	1	0,7
Irse del lugar	1	1,1	-	-	-	-	1	0,7
Tapar depósitos de agua	1	1,1	-	-	-	-	1	0,7
Total	94	100	43	100	5	100	142	100

Tabla IV. Molestias declaradas en relación con el consumo de medicamentos antimaláricos. Yaguaraparo, Venezuela, 2004.

Molestia	Orden de declaración						Total	%
	Primero	%	Segundo	%	Tercero	%		
Picazón	11	22,8	2	8,0	1	14,3	14	17,4
Insomnio	5	10,4	5	20,0	2	28,6	12	15,0
Mareo	8	16,6	3	12,0	-	-	11	13,7
Dolor estomacal	6	12,5	2	8,0	1	14,3	9	11,2
Falta de apetito	3	6,3	3	12,0	2	28,6	8	10,0
Vómito	5	10,4	2	8,0	-	-	7	8,7
Nausea	1	2,1	2	8,0	-	-	3	3,7
Gastritis	2	4,2	-	-	-	-	2	2,5
Ardor de estomago	2	4,2	-	-	-	-	2	2,5
Malestar estomacal	1	2,1	1	4,0	-	-	2	2,5
Dolor de cabeza	1	2,1	2	8,0	-	-	3	3,7
Amarillez	1	2,1	-	-	-	-	1	1,3
Pesadez en el cuerpo	1	2,1	-	-	-	-	1	1,3
Pinchazos	1	2,1	-	-	-	-	1	1,3
Debilidad	-	-	1	4,0	-	-	1	1,3
Fiebre	-	-	1	4,0	-	-	1	1,3
Palpitaciones	-	-	1	4,0	-	-	1	1,3
Baja la tensión	-	-	-	-	1	14,3	1	1,3
Total	48	100	25	100	7	100	80	100

veces, Río Seco e Irapa, 1 vez cada uno). 0,7 % de las veces la población encuestada señaló que optaba por tratamiento casero o por no tomar ninguna acción, en igual porcentaje.

DISCUSION

En las estadísticas oficiales, malaria representa la primera causa de morbilidad en la Parroquia Yaguaraparo y el Municipio Cajigal. El estudio sobre conocimientos, prácticas y percepciones en una población con experiencia histórica en malaria muestra que esta constituye un problema principal y real, donde aún su alta frecuencia no le confiere un carácter habitual entre los habitantes. Quienes refirieron episodios como primera experiencia o como experiencia sucesiva, expresaron manifestaciones que asociaban malaria a un importante malestar y trastorno, descrito como un evento discapacitante, incluso acompañado de sensación de muerte inminente. En contraste, comparada con el lepidopterismo que afecta prácticamente a toda la población local, dada la exposición general, la importancia que la población encuestada otorgó a *Hylesia metabus* fue muy baja, aún durante una estación de altas densidades y limitado control. Siendo éste un problema igualmente antiguo en el área, su ritmo estacional y la imposición de medidas de protección tales como permanecer a oscuras en las calles y el interior de las viviendas, con impacto en la vida de relación, probablemente ubicó la percepción del lepidopterismo como una molestia ambiental que estorbaba la actividad económica y social, más que como una amenaza cierta para la salud. Comparadas las magnitudes de malaria y lepidopterismo, ambos importantes problemas de salud locales, llamó la atención el contraste de su valoración como tales y la dramaticidad verbalizada en relación con la malaria, por los habitantes de estas comunidades endémicas.

El conocimiento sobre los síntomas de malaria es por lo general alto en zonas de malaria inestable o estacional donde los individuos reconocen sus manifestaciones clínicas (De Waal, 1993). Respecto al diagnóstico de malaria, los habitantes de Yaguaraparo declararon un cortejo sintomático encabezado por la fiebre, seguida de frío/escalofrío, dolor de cabeza y dolores en diferentes partes del cuerpo. Una serie compatible con el cuadro clásicamente descrito y que documenta y señala la pertinencia de la fiebre como signo-síntoma cardinal de la vigilancia rutinaria dentro

del municipio. Este hallazgo es similar al observado en Perú (Ventosilla *et al.*, 2005) y Etiopía (Legesse *et al.*, 2007). Junto a este diagnóstico local, que la primera acción ante la fiebre en Yaguaraparo fuese “ir a tomarse la lámina” y “buscar/esperar al trabajador de malaria”, forma un conjunto que favorece la gestión del sistema local de vigilancia. Sin embargo, es necesario considerar que el patrón menos frecuente, representado por un 40 % de quienes se automedican y no hacen nada, representa un factor de riesgo, una amenaza real para el control de la endemia.

En una población donde 65 % declaró haber enfermado al menos una vez de paludismo, 81 % afirmó haber consumido antimaláricos, lo cual indica su uso probable entre individuos aparentemente sanos y podría concordar con la importancia que más de 30 % de los encuestados otorgó al tratamiento antimalárico como medida preventiva. La pauta antimalárica venezolana no contempla quimioprofilaxis.

En general, la confianza que la población encuestada concedió al uso de antimaláricos como alternativa curativa, en más de 90 %, hizo una valoración favorable del servicio de salud local, considerándolo bueno en general y mostrando disposición positiva para su uso. En este sentido, es importante atender la probabilidad que 40 % de quienes afirmaron su uso, presentaran una frecuencia mayor al 60 % de efectos adversos en la esfera gastrointestinal, lo cual debe canalizarse a través de prácticas de prescripción y seguimiento amigables y técnicamente suficientes, para minimizar renuencias al tratamiento y recurrencias parasitarias. La población de Yaguaraparo también refirió el uso de remedios caseros, en combinación con el tratamiento del sector salud, situación que luce similar a la referida en otros estudios, donde la población indígena y campesina colombiana, aún con conocimiento de las drogas antimaláricas, recurre a medidas tradicionales, como infusiones preparadas con corteza de árboles, antes de acudir al hospital (Pineda & Agudelo 2005), práctica también reportada en Etiopía (Adera, 2003) y Guatemala (Klein *et al.*, 1995). Es importante considerar que los datos registrados en la literatura muestran persistentemente que las estrategias educativas aumentan los conocimientos y las prácticas sobre el uso adecuado de medicamentos antimaláricos, así como comportamientos positivos de búsqueda de atención (Alaii *et al.*, 2003; Nganda *et al.*, 2004) y que tales cambios determinan una disminución de la morbilidad por malaria (Crompton L., 2004), de

las recurrencias y de la aparición de resistencia a los tratamientos antimaláricos (Mackinnon & Hastings, 1998). Las características de la muestra entrevistada en Yaguaraparo podrían atribuirse a la gran cantidad de años de permanencia de las actividades de control de malaria en esta área y al fácil acceso a los antimaláricos.

La información obtenida respecto a opiniones y creencias sobre la causa del paludismo (el mosquito, en más de 60 %) no fue coherente con “mantener la casa y ambiente limpios evitando basuras”, en 40 % de los enunciados para explicar cómo se puede evitar la enfermedad. Estas respuestas, aunque no excluyeron el control del mosquito adulto y preadulto, denotaron importante confusión en relación con la dinámica de transmisión, así como posible contaminación visual y oral del conocimiento local, con mensajes cruzados sobre control del dengue. Insistir en formas de explicar el mecanismo de transmisión de la malaria podría influir en las prácticas y creencias sobre prevención de la misma. Esto debe considerarse que entre 86 y 98 % de la población negó el uso de mosquitero y no mostró disposición positiva para su uso.

Estos resultados, sin embargo, en general fueron semejantes a los encontrados en áreas endémicas de Etiopía (Legesse *et al.*, 2007) y Amazonas (Pineda & Agudelo, 2005). En Guatemala y Uganda más de 90 % de los pacientes en estudio sabían que los mosquitos transmitían la malaria (Klein, 1995) y 93 % de los residentes respondió que la picadura de un mosquito que a su vez hubiera picado a un paciente con malaria podría causar la enfermedad (Ruebush, 1992; Njama *et al.*, 2003). Contrariamente, fueron observados pobres resultados en México (48%) (Rodríguez, 2003) y Kenia (Ongore *et al.*, 1989).

Igualmente, en Etiopía la población consideró que la malaria sería evitable con quimioprofilaxis (62,4 %), rociamiento residual 39,6 % y eliminación de criaderos (25 %) (Legesse *et al.*, 2007). En el Amazonas colombiano, principal hallazgo del estudio fue que la población conociera las medidas preventivas y de control para la malaria, especialmente las que tienen que ver con la eliminación de criaderos de mosquitos, pero no las ponían en práctica por falta de tiempo, interés y organización comunitaria (Pineda & Agudelo, 2005). Los habitantes de Querecotillo en Perú, consideraron la protección personal como el factor más importante (61,2 %), seguido de manejo del medio ambiente (28,1

%) y uso del mosquitero (10,7 %) (Ventosilla *et al.*, 2005).

La forma de enfrentar la malaria ha cambiado en los últimos años. Los nuevos enfoques trabajan la participación de la comunidad en su manejo y control. Las intervenciones de educación en salud han probado ser efectivas para mejorar los conocimientos y prácticas, y disminuir la frecuencia de malaria (Alvarado, 2006). Aunque se reconozca la etiología, los síntomas, las causas, la población de alto riesgo para contraer la enfermedad, los lugares en donde se está expuesto y los periodos del año de mayor incidencia, esta información no es suficiente para que las personas actúen para prevenir y controlar la malaria. Se debe profundizar este conocimiento con estudios que permitan entender cómo los factores conductuales de las poblaciones expuestas, pueden facilitar u obstaculizar las intervenciones de control de la enfermedad (Pineda & Agudelo, 2005).

Conociendo la asociación entre el mosquito y la malaria, el personal de salud en los diferentes niveles del sistema de asistencia médica deberá diseminar la información relevante sobre la malaria y el mosquito vector, su transmisión, tratamiento y prevención. La comunicación eficaz entre los proveedores de asistencia médica y la comunidad ayudará a sus miembros a estar más implicados en el control integrado de la enfermedad, entendido más allá de la sumatoria de disciplinas, técnicas y productos.

El estudio exploratorio permitió establecer una referencia para identificar aspectos del factor humano que ameritan mayor atención en la dinámica de la malaria local, así como proponer los valores que afectan la influencia que los pobladores de esta área endémica puedan tener entre sí y sobre el sistema de salud. En todos los niveles, individual, familiar, comunitario y municipal, importa cómo las personas pueden usar la información para la toma de decisiones, algo que en el marco de salud pública, afecta a todos.

Knowledge, practices and perceptions about malaria in Yaguaraparo parish, Sucre state, Venezuela, 2004.

SUMMARY

Malaria knowledge results from what is learnt in social, group or individual experience. To explore

the level of knowledge, practices, opinions and perceptions on local health and malaria (cause, diagnosis, prevention) in Yaguaraparo Parish, state of Sucre, Venezuela, a cross-sectional, naturalistic, qualitative and quantitative study was performed. A standardized open- and close-ended interview was applied to 123 participants approached randomly. Patterns gotten were quantified using percentages. 92.7% said his community had health problems and 88.8% first cited malaria, saying "paludismo". For 68.3% the mosquito was the malaria cause and for 11.5% stagnant waters and rubbish. Malaria local diagnosis included fever (30%) and headache (21.2%). The first action before fever was "making the slide" (57.7%). 84.5% said malaria was cured with the official antimalarial drug. 77.2% considered malaria could be avoided, by means of "keeping clean both households and environment" (47.1%) and by using antimalarial drugs, as well as eliminating vectors (19.7% each). 86.2% declared they did not use a bednet. 43% said the insecticide used by the Malaria Service was not effective. 48.3% said the local health service was good and 93.2% declared that they to used it. These findings point out the need for introducing health communication strategies, focusing on malaria, vectors and the transmission mechanism, and building links between people and malaria control purposes.

Key words: malaria, beliefs, knowledge, perceptions, practices.

REFERENCIAS

- Adera T. D. (2003). Beliefs and traditional treatment of malaria in Kishe settlement area, southwest Ethiopia. *Ethiop. Med. J.* **41**: 25-34.
- Alaii J. A., Hawley W. A., Kolczak M., Ter Kuile F. O., Gimnig J. E., Vulule J. M., *et al.* (2003). Factors affecting use of permethrin treated bed nets during a randomized controlled trial in Western Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **68**: 137-141.
- Alvarado B., Gómez E., Serra M., Carvajal R. & Carrasquilla G. (2006). Evaluación de una estrategia educativa en malaria aplicada en localidades rurales del Pacífico colombiano. *Biomédica.* **26**: 342-352.
- Bonilla E., Kuratomi L., Rodríguez P. & Rodríguez A. (1991). Aspectos socioeconómicos de la Malaria en Colombia. Universidad de los ANDES. Facultad de economía. Centro de estudios sobre desarrollo económico. CEDE. *Salud y Desarrollo.* **29**: 262.
- Cáceres J. L. & Sojo-Milano M. (2001). *Situación actual de la malaria en Venezuela*. Simposio Malaria de las XXVII Jornadas Venezolanas de Microbiología "José Vicente Scorza". Trujillo, 4-6 Noviembre.
- Cáceres J. L. (2004). Estado Sucre: El éxito antimalárico de Venezuela en el Año 2003. *Bol. Malariol. Sal. Am.* **44**: 51-55.
- Carrasquilla G. (2001). An ecosystem approach to malaria control in an urban setting. *Cad Saude Publica.* **17**: 171-179.
- Cropley L. (2004). The effect of health education interventions on child malaria treatment seeking practices among mothers in rural refugee villages in Belize, Central America. *Health Promot Int.* **19**: 445-452.
- De Waal A. (1993). The ecology of health and disease in Ethiopia. *Population Studies.* **44**: 527-528.
- Gascón J. (2006). Paludismo importado por inmigrantes. *An. Sist. Sanit. Navar.* **29**: 121-125.
- <http://www.ondasalud.com/edicion/noticia/0,2458,23307,00.html>. Consultada: 19 Oct. 2006, 04:25:13 GMT.
- Klein R. E., Weller S. C., Zeissig R., Richards F., & Ruebush T. (1995). Knowledge, beliefs, and practices in relation to malaria transmission and vector control in Guatemala. *Am. J. Trop. Med Hyg.* **52**: 383-388.
- Legesse Y., Tegegn A., Belachew T. & Tushune K (2007). Knowledge, Atitude and Practice about Malaria Transmission and Its Preventive Measures among Households in Urban Areas of Assosa Zone, Western Ethiopia. *Ethiop. J.of Health Develop.* **21**: 157-165
- Mackinnon M. J. & Hastings I. M. (1998). The evolution of multiple drug resistance in malaria parasites. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **92**: 188-195.

- Najera-Morrondo J. A. (1979). A suggested approach to malaria control and to the methodology applicable in different epidemiologic situations, based on experience in the Americas. *Bull. Pan. Am. Health. Organ.* **13**: 223-234.
- Nganda R. Y., Drakeley C., Reyburn H. & Marchant T. (2004). Knowledge of malaria influences the use of insecticide treated nets but not intermittent presumptive treatment by pregnant women in Tanzania. *Malar J.* **3**: 42-46.
- Njama D., Dorsey G., Guwatudde D., Kigonya K., Greenhouse B., Musisi S. & Kamya MR. (2003). Urban malaria: primary caregivers' knowledge, attitudes, practices and predictors of malaria incidence in a cohort of Ugandan children. *Trop. Med. Int. Health.* **8**: 685-692.
- Ongore D., Kamunvi F., Knight R. & Minawa A. (1989). A study of knowledge, attitudes and practices (KAP) of a rural community on malaria and the mosquito vector. *East. Afr. Med. J.* **66**: 79-89.
- Patton M. Q. (1987). *How to use qualitative methods in evaluation*. Program Evaluation Kit. 2° Edition. Center for the study of Evaluation. University of California, Los Angeles. SAGE Publications. 176 pp.
- Pineda F. & Agudelo C. (2005). Percepciones, Actitudes y Prácticas en Malaria en el Amazonas Colombiano. *Rev. Sal. Púb. de Colombia.* **7**: 339-348.
- Rodríguez A. (2003). Knowledge and beliefs about malaria transmission and practices for vector control in Southern Mexico. *Rev. Sal. Púb. de México.* **45**: 110-116.
- Rojas W., Peñaranda F. & Echavarria M. (1992). Strategies for malaria control in Colombia. *Parasitol.Today.* **8**: 141-144.
- Ruebush T., Weller S. C. & Klein R. (1992). Knowledge and beliefs about malaria on the Pacific Coast al Plain of Guatemala. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **46**: 451- 459.
- Sachs J. & Manaley P. (2002). The economic and social burden of malaria. *Nature.* **415**: 680-685.
- Tanner M. & Vlassoff C. (1998). Treatment-seeking behaviour for malaria: a typology based on endemicity and gender. *Social Science & Medicine.* **46**: 523-532.
- Ventosilla P., Torres E., Harman L., Saavedra K., Mormontoy W., Merello J., Infante B. & Chauca J. (2005). Knowledge, attitudes and practice in malaria and dengue control in the communities of Salitral, Querecotillo, department of Piura. *Mosaico Cient.* **2**: 65-69.
- WHO (2005). *Roll Back Malaria*. UNICEF. World Malaria Report. 82 pp.

Recibido el 18/12/2007
Aceptado el 03/03/2008

Evaluación de la calidad fisicoquímica y bacteriológica en piscinas del estado Carabobo, Venezuela

María Cristina Colmenares*, Angelina Correia de Soto & Cristina De Sousa

El objetivo principal de la investigación fue determinar la presencia de microorganismos patógenos (*Pseudomonas aeruginosa* y coliformes totales y fecales) así como los niveles de cloro residual y pH de ciertas piscinas ubicadas en tres municipios del estado Carabobo, a fin de proponer medidas de control según los hallazgos encontrados. Inicialmente se realizó un diagnóstico de las condiciones de las piscinas tomando en cuenta los siguientes aspectos: sistema de desinfección, sistema de filtración, normas de uso, sistema de renovación de agua y carga de bañistas (Gaceta Oficial de Venezuela N° 4.044 Extraordinaria, 1988). Posteriormente se determinaron las características fisicoquímicas utilizando la norma COVENIN 2614:1994 y los Métodos Normalizados de Tratamiento de Agua y Agua Residual, y la evaluación bacteriológica por el método de Membrana Filtrante. De los resultados obtenidos se tiene que las piscinas clasificadas como aptas para el uso por parte de los bañistas corresponden a una del Municipio Valencia y una del Municipio Naguanagua. Así mismo, se clasificaron como no aptas siete piscinas del Municipio Valencia, tres del Municipio San Diego y una del Municipio de Naguanagua. Igualmente se evaluó como influyen los bañistas en el mantenimiento de las condiciones sanitarias de las piscinas, encontrándose que el uso de lociones u otras cremas en la piel como el factor más recurrente de contaminación. Finalmente, se propone un sistema de monitoreo periódico.

Palabras clave: Piscinas, saneamiento de piscinas, coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, microbiología.

INTRODUCCIÓN

Las piscinas constituyen establecimientos públicos y privados, que deben ser monitoreados y evaluados por entes gubernamentales para preservar la salud pública, ya que todos los elementos que se conjugan suponen un riesgo potencial para el bienestar de la comunidad, aumentado cada día más por el uso masivo de estas instalaciones. En el estado Carabobo existe un gran número de piscinas, que son destinadas a diversos usos: recreativo, deportivo, terapéutico, entre otros. La población que utiliza estas instalaciones actúa como vehículo de agentes contaminantes, por introducir en el agua gérmenes a través de su piel, mucosas y sistema genito-urinario. Esta situación acelera el proceso de degradación del índice de calidad del agua (ICA) de

las piscinas, representando un riesgo sanitario para sus usuarios.

Indudablemente estos agentes externos y el mantenimiento periódico de las piscinas son los aspectos más importantes a controlar dentro de la vigilancia epidemiológica en estas instalaciones, los cuales se evalúan a través de la calidad fisicoquímica y bacteriológica de muestras de aguas comparándolas con la normativa legal vigente (Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 4.044 Extraordinaria, 1988) que regula las condiciones de construcción, reparación, reforma, operación y mantenimiento de edificaciones (Capítulo XXXVIII, de las piscinas). Dicha normativa tiene como objetivo disminuir el riesgo de contaminación microbiana para evitar la alteración de la salud de los usuarios. Parte de las medidas preventivas aplicadas a las piscinas incluyen el uso de cloro (0,4 – 1) mg/L, como agente desinfectante del agua, cuya cantidad a aplicar depende de la temperatura del agua (3°C inferior al aire circundante)(Gasteiz, 2003), la extensión de la piscina (el tamaño de la piscina debe ser como mínimo

Universidad de Carabobo. Escuela de Química. Departamento de Química Tecnológica. Av. Universidad, Municipio Naguanagua, Estado Carabobo - Venezuela. Código Postal 2008

*Autor de correspondencia: mcolmena@uc.edu.ve

2 m² por bañista), la presencia de rayos solares y la introducción de otras sustancias químicas (alguicidas) en el agua (Espinoza & Landecho, 2003).

Si se tiene en cuenta que las piscinas del estado Carabobo están sometidas a una demanda creciente del uso por parte de la población, no solo para esparcimiento sino para el deporte y el uso terapéutico, se justifica plenamente la necesidad de establecer las condiciones sanitarias de las mismas, que permitirían a los entes gubernamentales controlar los riegos latentes que afectan el índice de calidad ambiental (ICA) en el estado. En este trabajo se planteó como objetivo general determinar las características fisicoquímicas (T, pH y cloro residual), así como la presencia de microorganismos patógenos (*Pseudomonas aeruginosa* y coliformes fecales y totales) provenientes de las muestras captadas en las piscinas, que podrían transmitir enfermedades que afecten la salud de los usuarios y, por otra parte, evitar sanciones administrativas que darian lugar desde multas a clausura de las instalaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Inicialmente, se seleccionaron catorce (14) municipios del estado Carabobo, de los cuales se escogieron aquellos que presentaban la mayor cantidad de piscinas y afluencia de bañistas para los distintos usos, los resultados son los siguientes: municipio Valencia (68°59'12" O, 10°10'11" N), San Diego (67°57'04" O, 10°16'05" N) y Naguanagua (68°00'56" O, 10° 15'48" N) (SEPTUP, 2006), los municipios referidos representan aproximadamente el 22% de la superficie del estado. Posteriormente se escogieron por cada municipio aquellas piscinas que reunieran ciertas condiciones establecidas por la Dirección General de Saneamiento Ambiental y Contraloría Sanitaria del Ministerio de Salud del estado, a saber: a) La administración de la piscina puede ser públicas o privadas, b) No deben existir restricciones de acceso al personal ni al equipo de muestreo, c) El muestreo debe realizarse, de ser posible, en el momento de mayor densidad de bañistas y d) La toma de muestras debe realizarse durante el día, preferiblemente en horas de la mañana.

A las autoridades gerenciales y administrativas de las instalaciones seleccionadas se les informó sobre la evaluación de la calidad del agua de las piscinas y se estableció que el estudio era estrictamente confidencial, por lo que a cada una de las piscinas en estudio, se les asignó una nomenclatura para su iden-

tificación respectiva. Es importante mencionar que el número de piscinas en estudio no es estadístico, debido a ciertas limitantes tales como la disponibilidad de reactivos para la realización de los análisis fisicoquímicos y bacteriológicos de las muestras de agua y a la falta de cooperación de la gerencia en algunas instalaciones que no permitieron el acceso a la captación de las muestras, por lo que las mismas fueron excluidas para su evaluación.

Una vez seleccionadas las piscinas en estudio, se siguieron las siguientes etapas:

1. Se realizó un diagnóstico en las piscinas y en las áreas de equipos y suministros, de acuerdo a los siguientes criterios, establecidos en la normativa que regula el mantenimiento de las piscinas (Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 4.044 Extraordinaria, 1988):

- a) Sistema de Desinfección: la evaluación de estos sistemas se realizó en base a la aplicación de un agente desinfectante, el uso de alguicidas y reguladores de pH; sin contemplar las concentraciones adecuadas de estos químicos, las cuales serán evaluadas en los análisis fisicoquímicos.
- b) Sistema de Filtración: para la realización del diagnóstico de estos equipos se revisaron las siguientes variables: Control de la tasa de filtración, profundidad del lecho de arena, lavado de los filtros y existencia de los pre-filtros.
- c) Normas de Uso: se realizó en base a la existencia de avisos o carteles indicativos de las normas a seguir en las piscinas, con claridad y especificidad de las mismas.
- d) Sistema de Renovación de Agua: los criterios utilizados para la evaluación de estos sistemas fueron: frecuencia del llenado y vaciado, recirculación del agua de la piscina y renovación continua.
- e) Carga Bañista: Se realizó de acuerdo a lo establecido en la normativa que el tamaño mínimo de la piscina debe ser 2 m² por bañista.

Se consideró un parámetro de ponderación de las condiciones de las piscinas, estableciéndose la siguiente puntuación: 1(excelente), 2 (bueno), 3 (regular) y 4 (deficiente). En tal sentido, las piscinas con una ponderación < 10 se clasifican como aptas y aquellas con una ponderación > 10 como no aptas, según su funcionamiento y cumplimiento de los criterios anteriores.

2. Para la determinación de pH y cloro residual, las piscinas se fraccionan en partes aproximadamente

iguales según sus dimensiones y se tomaron muestras de aguas en cada una de ellas, de acuerdo a las técnicas de muestreo recomendadas por la norma COVENIN 2614:1994 y por los Métodos Normalizados de Tratamiento de Agua y Agua residual, en su sección 9213 B (Comité Técnico de Normalización, 1994). Para el análisis de Cloro residual y del pH se usó el método colorimétrico: las muestras se colocan en probetas rectangulares de 40 mL de capacidad y se le agrega el indicador correspondiente (Cloro residual: DPD dietil-parafenilén-diamina y pH: Anaranjado de metilo y Fenolftaleína); el cloro libre reacciona con DPD para formar una solución rosa y se utiliza un comparador de color para determinar el nivel o concentración del mismo presente el agua. En el análisis de pH se presenta el cambio de color de acuerdo a la escala de 1-14 y se compara la tonalidad de las muestras para determinar el valor del mismo.

3. La determinación y cuantificación de coliformes totales y fecales, así como de *Pseudomonas aeruginosa*, se realizó por medio de membrana filtrante recomendada por los Métodos Normalizados de Tratamiento de Agua y Agua Residual, en su sección 9222 para el análisis de Coliformes y sección 9213 E. La identificación de *Pseudomonas aeruginosa* se realizó de acuerdo a las especificaciones del Comité Técnico de Normalización (1994). Se reporta el número de colonias de los agentes bacteriológicos estudiados en 100 mL de muestra denotando la ausencia de los mismos como menor a uno (<1) y como mayor a ochenta (>80) en los casos que la proliferación haya sido tal que no se pudo contar.

4. Los resultados obtenidos se compararon con los valores exigidos por las normativas nacionales en la Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 4.044 Extraordinaria (1988).

5. Para estudiar la influencia de los bañistas en las condiciones sanitarias de las piscinas, se utilizó la técnica de recolección de datos en la modalidad de encuesta y se diseñó un sistema de muestreo utilizando la siguiente ecuación (Hernández *et al.*, 1998):

$$n = \frac{N}{Se^2(N-1) + 1} \quad (1)$$

n: Tamaño de muestra

N: Tamaño de la población

Se: Error estándar (5%)

con un nivel de confianza de 95% y una proporción de error del 5%. Se estimó un tamaño de la población

total de usuario de las piscinas en estudio de 1.800 usuarios, de acuerdo a la información suministrada por la gerencia administrativa de cada una de las piscinas. La encuesta se diseñó a fin de evaluar aspectos tales como conocimiento por parte del usuario sobre las normas de las piscinas y sus actitudes durante su uso, la cual fue validada por especialistas en el área de salud pública y aplicada a un grupo reducido del personal de la Dirección de Saneamiento Ambiental para verificar su comprensión y claridad. El muestreo se realizó en el segundo semestre del año 2006, durante este periodo se realizaron las encuestas a los usuarios de las piscinas en estudio, utilizando el método de muestreo aleatorio mixto, que combina el muestreo aleatorio simple con el muestreo aleatorio por conglomerados o áreas.

6. Finalmente, se propuso un sistema de monitoreo para el control sanitario de las piscinas basado en una recopilación bibliográfica y en los resultados experimentales obtenidos.

RESULTADOS

Diagnóstico de las Condiciones Sanitarias de las Piscinas Seleccionadas

Las piscinas seleccionadas en este estudio fueron en su totalidad trece (13), siendo sólo dos (2) de administración pública y las restantes privadas. En la Tabla I se presenta la selección realizada por municipios, la nomenclatura asignada a cada una de ellas y el diagnóstico de sus condiciones según la evaluación realizada. Se encuentra que dos piscinas (B y C) son clasificadas como no aptas, siendo los aspectos donde resultaron menos favorecidas las relacionadas con el sistema de filtración, las normas de uso de las piscinas y la carga bañista (sólo para la piscina C).

Por otra parte, se encuentra que cuatro piscinas (D, E, J y K) están en el límite del nivel de ponderación, debido básicamente a problemas en el sistema de filtración del agua y la carga bañista. Es importante subrayar que las piscinas B y C están bajo la responsabilidad de la administración pública y las demás piscinas son instalaciones privadas, entre las cuales se encuentran las piscinas A, I, L y M que fueron clasificadas como aptas según el diagnóstico realizado inicialmente.

Determinación de Características Fisicoquímicas y Bacteriológicas

En la Tabla II, se presentan las características fisicoquímicas (T, pH y cloro residual) y bacterio-

Tabla I. Diagnóstico de las condiciones de las piscinas evaluadas en el estado Carabobo.

Municipio	Pisc	Tipo de Admin.	Sistema de desinfección	S. de filtración	Normas de uso	S. renovación del agua	Carga de bañistas	Total
Valencia	A	Privada	2	2	1	1	1	7
	B	Pública	1	4	4	2	1	12
	C	Pública	1	4	4	2	3	14
	D	Privada	2	3	3	1	1	10
	E	Privada	1	2	3	1	3	10
	F	Privada	2	2	2	2	1	9
	G	Privada	2	2	2	2	1	9
	H	Privada	2	2	2	2	1	9
San Diego	I	Privada	2	3	1	2	1	9
	J	Privada	2	3	1	1	3	10
	K	Privada	2	3	1	1	3	10
Naguanagua	L	Privada	2	2	2	1	1	8
	M	Privada	2	2	2	1	1	8

Nota Ponderación: 1= Excelente; 2= Bueno; 3= Regular; 4= Deficiente

lógicas (coliformes totales, coliformes fecales y *Ps. aeruginosa*) de las piscinas del estado Carabobo seleccionadas en el estudio. La normativa vigente establece que los niveles mínimos recomendados y máximos permisibles de cloro libre residual oscilan entre 0,4 y 1,0 mg/L y para pH entre 7,2 y 8,2.

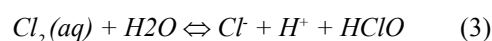
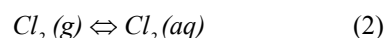
Influencia de los bañistas en las condiciones sanitarias de las piscinas

En la Tabla III se presentan los factores que influyen en las condiciones sanitarias de las piscinas debido a la carga bañista. Según el resultado de las encuestas, existen seis factores relacionadas con la intervención de los bañistas en la preservación de las condiciones sanitarias de las piscinas, siendo las más recurrentes: el uso de lociones de protección solar o bronceadores y la descarga de fluidos por la nariz y la boca.

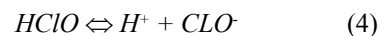
DISCUSIÓN

Según los resultados reportados en la Tabla II, sólo seis de las piscinas en estudio (A, B, C, F, G y H), pertenecientes al Municipio Valencia, se encuentran dentro del rango de pH recomendado (7,2 -8,2), pero muy cercano al límite inferior establecido en la norma (Gaceta Oficial N° 4044, 1988). Por su parte, las otras piscinas (D, E, I, J, K, L y M) presentan valores de pH de 6,8 en promedio, lo cual indican que el agua es ligeramente ácida.

El pH tiene una marcada influencia en la cloración de las aguas. La disolución de cloro gaseoso para formar cloro molecular disuelto se puede representar como un sistema en equilibrio (reacción 2), el cloro gaseoso disuelto reacciona con el agua para formar ácido hipocloroso, iones cloruro y protones, como se indica en la reacción 3.



La extensión de la hidrólisis del cloro disminuye al bajar el pH y es por ello que la solubilidad del cloro gaseoso suele incrementarse con la adición de álcalis (American Water Works Association, 2002). Por su parte, el ácido hipocloroso es un ácido débil y se ioniza para formar ion hipoclorito (reacción 3). La suma de las tres especies químicas Cl_2 , $HClO$ y ClO^- , se refieren comúnmente como cloro libre y su concentración se expresa en unidades mg/L como Cl_2 .



Las cantidades relativas de ácido hipocloroso e ion hipoclorito formado dependen del pH. A bajos pH, en el equilibrio $HClO/ClO^-$ predomina la forma $HClO$ presentando ésta una mayor capacidad halogenante que el ClO^- . Por ejemplo, a pH 6 una solución de cloro es aproximadamente 95 % $HClO$, a pH 8 baja a 20 % y cuando el valor del pH es de 7,5 las concentraciones se

Tabla II. Condiciones fisicoquímicas y bacteriológicas de piscinas del estado Carabobo.

Municipio	Piscina	Temperatura del agua (T ± 0,5) °C	pH	Cloro residual mg/L	Nº de Colonias de Coliformes Totales en 100 mL	Nº de Colonias de Coliformes Fecales en 100 mL	Nº de Colonias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en 100 mL
Valencia	A	28	7,4	0,4	3	<1	1
	B	27	7,5	0	>80	<1	>80
	C	27	7,5	0	10	1	1
	D	30	6,8	0,5	>80	<1	18
	E	30	7,0	0,5	15	<1	7
	F	30	7,5	0	31	<1	<1
	G	30	7,4	0	12	<1	<1
	H	30	7,2	0	5	2	<1
San Diego	I	29	6,8	>5	<1	<1	<1
	J	29	6,8	>5	<1	<1	<1
	K	29	6,8	>5	<1	<1	<1
Naguanagua	L	30	6,8	>5	<1	<1	<1
	M	30	6,8	1	2	<1	<1

Nota: Los números **en negrita** indican los valores de cloro residual y pH dentro del rango establecido según Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 4.044 Extraordinaria, 1988.

Tabla III. Factores que influyen en las condiciones de las piscinas por la carga de bañistas.

Factores Influyentes	Frecuencia		% Acumulado	
	Si	No	Si	No
Usan las piscinas con lociones en la piel	126	199	38	62
Descargan fluidos por la nariz y boca	58	267	18	82
Consumen alimentos dentro de las piscinas	43	282	13	87
Usan las piscinas con lesiones en la piel	40	285	12	88
Orinan dentro de las piscinas	40	285	12	88
No se duchan antes de entrar a las piscinas	23	302	7	93

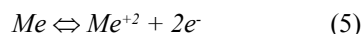
igualan (Sawyer *et al.*, 2001). El ácido hipocloroso es un agente más reactivo y más fuerte que el hipoclorito, ya que puede penetrar capas limosas, paredes celulares y capas protectoras de microorganismos eliminando de manera efectiva a los patógenos, de esta forma, mueren o su actividad reproductiva se ve inhibida (APHA, 2002).

Debido a ésto, la desinfección con cloro tiene lugar a pH óptimo entre 5,5 a 7,5 (American Water Works Association, 2002), no obstante, en la práctica se recomienda valores entre 7,2 -7,6 (Gasteiz, 2003) y la normativa venezolana establece pH un rango entre 7,2-8,2. La razón de recomendar un límite máximo

de pH de 7,6 se debe a que por encima de este valor se reduce considerablemente la efectividad del cloro por los equilibrios anteriormente expuestos. Por otra parte, el límite mínimo se fija en 7,2 a fin de evitar irritaciones en las mucosas de los usuarios de las piscinas y daños en el esmalte de los dientes (Cabrera & Kanashiro, 2004). Por otra parte, un pH mínimo de 7,2 permite prevenir la corrosión en las partes metálicas de los equipos y accesorios del sistema de adecuación del agua (Salazar, 1999).

La corrosión es el deterioro de una sustancia o de sus propiedades a causa del ambiente. En red de distribución del agua de las piscinas, la tubería es la

sustancia y el ambiente es el agua. La tubería compuesta de material metálico (Me: Fe, Cu, Zn, Pb o aleaciones de metales) y está reacción de oxidación está acoplada con la reducción de algún agente oxidante, como las especies de cloro disueltas (reacciones 5 y 6).



Como se aprecia en las reacciones 5, a medida que baja el pH (es decir aumenta la concentración de iones hidrógeno H^+) se favorece la reacción de reducción, lo cual requiere del flujo de electrones de la superficie metálica, ocasionando su oxidación. Según Mora & Cedeño, (2006) a bajo pH aumenta la tasa de corrosión y a alto pH disminuye, no obstante el valor exacto dependerá del material, comenzando a ser importante por debajo de pH 6,5. Es por ello, que se deben tomar medidas preventivas en las D, E, I, J, K, L y M (valores de pH de 6,8 en promedio), a fin de cuidar la salud de los usuarios y la preservación de los equipos (Mora *et al.*, 2005)

Por otra parte, la temperatura del agua se recomienda que debe encontrarse aproximadamente 3 °C por debajo de la temperatura del aire para garantizar que sea agradable al bañista (Gasteiz, 2003), lo cual se cumple en todas las piscinas ya que presentan temperaturas inferiores o iguales a la temperatura ambiente (Tabla II). Es importante destacar, que existen estudios que demuestran que a altas temperaturas se favorece la proliferación de microorganismos (OMS, 2004).

En cuanto a los valores de cloro residual, las piscinas B, C, F, G y H no presentan cloro residual (0 mg/L), lo cual incide directamente en la proliferación de diversos tipos de microorganismos, que se ve reflejado en la presencia de coliformes totales en estas piscinas (tabla II). Aún cuando, la normativa que regula este tipo de instalaciones (Gaceta Oficial N° 4.044 Extraordinaria, 1988), establece que no deban existir más de 200 bacterias por mL, se deben tomar los controles necesarios en estas piscinas, ya que la falta de cloro residual ocasionará en el tiempo el incremento de la cantidad de coliformes. También es importante mencionar que estas piscinas fueron evaluadas con sistemas de desinfección bueno o excelente debido a la existencia de un registro de dosificación del cloro gaseoso con su respectivo regulador de pH y control de algas, reflejando de esta manera que cuentan con

herramientas estandarizadas para la dosificación, no obstante, ninguna de las instalaciones visitadas poseen registros de la calibración de los equipos, con la respectiva supervisión por la institución oficial competente (SENCAMER, 2007). Sólo las piscinas I, J, K, L y M contaban con registros de medición de bacterias a pesar de que todas manifestaron poseerlos.

Especial consideración debe tenerse con la piscina B que presenta los valores más altos de coliformes totales y de *Ps. aeruginosa*, siendo esta última una bacteria patógena oportunista que comprende un grupo heterogéneo de bacterias que pueden causar enfermedades en individuos con sistemas inmunitarios debilitados, y está asociada comúnmente con dermatitis en baños calientes y piscinas (American Water Works Association, 2002) y otitis en bañistas (Martín *et al.*, 1992).

Durante la realización del diagnóstico a la piscina B, se observó que se encuentra rodeada de árboles, ocasionando la incorporación al agua de gran cantidad de sólidos tales como hojas, flores, insectos, polvos, excrementos de aves, entre otros. La normativa establece que la ubicación de la piscina debe ser tal que no esté expuesta a contaminación con polvo, humos, hojas secas y otras sustancias indeseables y cuando existen espacios de jardín se recomienda separar la piscina por medio de un elemento físico apropiado. Por tanto, se hace necesario realizar la poda de los árboles que están cercanos al área de la piscina a fin de evitar la incorporación de estos agentes externos que además de contaminar sirven de escudo a los microorganismos. Situación similar se encontró en la piscina C, donde se observó gran cantidad de sólidos tanto en la superficie como en el fondo, esto implica una falta de mantenimiento periódico.

Por otra parte, estas piscinas (B y C) poseen baños en mal estado, por lo que los bañistas posiblemente no salgan de la misma al sentir deseos de orinar y ocasionalmente lo hagan dentro de la misma. Por otra parte, la pintura de las paredes de las fosas está deteriorada y descascarada, produciéndose un medio de cultivo para los microorganismos dentro de ellas. Adicionalmente, en las instalaciones no se presentan en lugares visibles a los usuarios las normativas a seguir para el uso de las piscinas, por lo que los usuarios, por falta de información, no tomen los debidos cuidados al bañarse. En resumen, las piscinas B y C no cumplen con varios artículos contentivos en las normas que

regulan el mantenimiento de las piscina (Gaceta oficial N° 4.044 Extraordinaria, 1988), específicamente en cuanto a condiciones físicas, cloro residual libre y el análisis bacteriológico. Por los resultados obtenidos, se sugiere la clausura de estas piscinas, dado que las mismas representan un foco permanente de infección y de salud pública.

En relación al estudio para las piscinas D y E se encontró un nivel de cloro dentro del rango recomendado (0,4-1 mg/L) y la presencia de coliformes totales y *Ps. aeruginosas* un poco altos, pero por debajo de lo establecido por la norma (máximo de 200 colonias/100mL). Se sugiere elevar el valor del cloro residual libre en estas piscinas, porque el mismo se encuentra muy cercano al valor límite inferior establecido en la normativa y de esta forma evitar el crecimiento bacteriano. Es importante mencionar que durante la inspección de la piscina D se observaron las paredes sucias, con sólidos en el fondo, algunas cerámicas deterioradas y el aspecto del agua era turbia, esto pudiera sugerir posibles deficiencias en el sistema de filtración, aun cuando se lleva a cabo un control de la rata de filtración según lo establecido en la norma (solo la controlan en las piscinas D, L y M), o la falta de un mantenimiento periódico de la piscina. Se sugiere la revisión del sistema de filtración y la colocación visible de normas de uso en estas piscinas.

En el caso de las piscinas I, J, K y L presentan elevados niveles de cloro residual (> 5 mg/L), valor que garantiza la desinfección del agua de las mismas, pero representa un consumo superior a la dosis necesaria de los químicos desinfectantes, además de generar pérdidas económicas, podría causar irritaciones en la piel y en la mucosa ocular (OMS, 2004). Este resultado indica que las piscinas referidas sean consideradas como no aptas.

Cuando se añade cloro como desinfectante, normalmente comienza reaccionando con las sustancias orgánicas e inorgánicas presente en el agua y de esta forma, el cloro no puede utilizarse a posteriori porque se transforma en otros productos. Por ello, se debe añadir cloro suficiente para que reaccione con todas las sustancias reductoras que pudieran estar presentes en el agua de las piscinas (por ejemplo, la materia orgánica y el nitrógeno contenidos en los desechos del cuerpo humano como: orina, sudor, piel, saliva, entre otros) y el cloro remanente quedará como residual libre disponible. En el caso del ácido hipocloroso, éste puede reaccionar

con amoníaco (NH_3) para formar monocloraminas, dicloroaminas y tricloroaminas; y la suma de estas tres especies de cloroaminas es referida como cloro combinado y se expresa como Cl_2 en mg/L.

Las monocloroaminas y dicloroaminas tienen poder desinfectantes, mientras que las tricloroaminas son productos indeseados, al originar olores repugnantes, susceptibles a posterior oxidación a N_2 o nitrato, reduciendo su poder desinfectante (Sawyer *et al.*, 2001). La cantidad de subproductos amoniales formados dependerá de la cantidad relativa de cada uno y, en alguna medida del pH. Cuando los niveles de cloro residual son elevados, se forman un mayor número de subproductos de la desinfección. Según un estudio realizado, las monocloroaminas y dicloroaminas tienen una potencia biocida para coliformes en comparación con el cloro libre residual ($\text{HClO}/\text{ClO}^- : \text{NH}_2\text{Cl}/\text{NHCl}_2$) de aproximadamente 1:0,0125 (American Water Works Association, 2002), demostrando que el cloro residual libre tiene una mayor capacidad desinfectante, pero se disipa rápidamente en el sistema de distribución. Sin embargo, las cloroaminas, siendo oxidantes débiles, son más estables y persistentes que el cloro libre; por esta razón suele utilizarse un tratamiento final de amoníaco para convertir el cloro libre residual a cloro residual combinado, que tiene mayor duración (Knobelsdorf & Mujeriego, 1997).

Por otra parte, si el agua presenta materia orgánica (ejemplo: restos de alimentos y protectores solares), el cloro libre reacciona con los constituyentes orgánicos para producir subproductos clorados orgánicos, como trihalometanos (THM) que son de preocupación por sus potenciales efectos sobre la salud (USEPA, 1999). Los THM y específicamente el cloroformo es un compuesto muy volátil, a los cuales están expuestos los bañistas por inhalación. Se ha reportado que los THM pueden causar cáncer de hígado y riñón (ATSDR, 1997) y por ello se encuentra regulado en el agua para consumo humano (Gaceta Oficial N° 36.395, 1998).

Es importante señalar que las piscinas J y K con exceso de cloro residual, presentan también una carga de bañistas superior a la establecida en la norma. Debido a las razones anteriormente expuestas (económicas y de salud) se debe reducir los niveles de cloro de estas piscinas (I, J, K y L), y llevar un control de la carga de bañistas en aquellas piscinas que no cumplen la normativa en este aspecto (piscinas C, E, J y K)

En cuanto a las piscinas A y M que contienen escasos microorganismos, pueden clasificarse como aptas debido a que presentan un número de colonias < 10 . Es importante resaltar que en ninguna de las piscinas evaluadas se encontraron coliformes fecales y sólo las piscinas B, D y E presentaron colonias de *Ps. aeruginosa*.

En Tabla III, se puede observar que 38% de los usuarios entran al agua de las piscinas con lociones para el cuerpo especialmente protectores solares, y un 18% descargan fluidos, siendo este último factor encontrado principalmente por aquellos usuarios de las piscinas I, J, K y L, donde se encontraron niveles altos de cloro libre residual (>5 mg/L).

Cabe destacar el hecho de que los usuarios entren a las piscinas con lociones u otras cremas en sus cuerpos, lo cual genera un decaimiento en el índice de calidad del agua (ICA), ya que no solo afecta su apariencia, además, se forman capas de grasa en la superficie que al adherirse a las paredes del pozo permiten la fijación de las partículas de polvo, sucio y otras impurezas dando lugar a una especie de capa de color marrón a nivel del agua, afectando la eficiencia del sistema de desinfección, por otra parte la composición química (cetona, compuestos aromáticos, alcoholes, alquenos, entre otros) presentes reaccionan con el desinfectante dando lugar a compuestos orgánicos clorados, con disminución de los efectos biocida.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se recomienda realizar un mayor control y supervisión por parte de las autoridades administrativas de las piscinas, a fin de que los usuarios cumplan con las normas de uso. La ingesta de alimentos dentro de la piscina debe ser estrictamente, prohibida. No debe permitirse usuarios con heridas en la piel, micción dentro de las aguas de las piscinas y no ducharse antes de entrar en las mismas (Tabla III), de acuerdo a lo establecido en las normativas vigentes como faltas por que ocasionan problemas en el sistema de desinfección, por la generación de subproductos y el deterioro del índice de calidad del agua. En base a las características fisicoquímicas y bacteriológicas encontradas en las piscinas, se propone un sistema de monitoreo periódico de las condiciones sanitarias de las mismas. Los principales parámetros a monitorear para mantener las condiciones sanitarias en una piscina son los siguientes: cloro residual libre, pH, temperatura e indicadores bacteriológicos bajo los rangos establecidos en la normativa vigente.

Igualmente se recomienda realizar una bitácora de mantenimiento, que consiste en una rutina de actividades de limpieza, desinfección y cambio de repuestos de algunos equipos tales como bombas y válvulas, de manera periódica, una vez a la semana, mensual o anualmente, según la característica de la actividad y la intensidad del uso de la piscina (Gasteiz, 2003).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio se pudo verificar que el problema radica principalmente en la falta de un mantenimiento periódico de las piscinas y el cumplimiento de la normativa. No obstante, se puede recomendar un sistema de desinfección con ozono porque tiene las ventajas de producir menores cantidades de subproductos de desinfección, además posee una capacidad de oxidación mayor que la del cloro, elimina de forma muy rápida microorganismos, incluso virus debido a la inactivación de los enzimas necesarios para su supervivencia; pero presenta una gran desventaja como son los costos de instalación y operación, limitando su aplicación (USEPA, 1999).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Dirección de Saneamiento Ambiental y Contraloría Sanitaria Ministerio de Salud, Región Central, del estado Carabobo, por la ayuda prestada en la realización de los análisis de laboratorio.

Evaluation of physicochemical and bacteriological characteristics of some swimming pools in Carabobo state, Venezuela

SUMMARY

The main objective of this investigation was to determine the presence of pathogenic micro-organisms (*Pseudomonas aeruginosa*, total and fecal coliforms) as well as the levels of residual chlorine and pH in some swimming pools of three municipalities of the Carabobo state in order to propose some control levels according to the initial findings. First of all, a diagnosis was made of the swimming pool's conditions using the following criteria: disinfection system, filtration system, using rules, water renovation system and amount of users. Then, the physicochemical characteristics were determined using the norm COVENIN 2614:1994 and the normalized methods for treatment of fresh and waste water. The bacteriological evaluation was

determined by the method of filtration membranes. The results showed that the swimming pools classified as suitable for the users were as follows: one in the municipality of Valencia, three in the municipality of San Diego and one in the municipality of Naguanagua. Additionally, it was found that seven swimming pools in the municipality of Valencia and one in the municipality of Naguanagua were classified as not suitable. The behavior of swimming pools users was also investigated and it was found that the use of lotions and skin creams was the most common factor of contamination. Finally, a sanitation control system was proposed.

Key words: swimming pools, swimming pool sanitation, coliforms, *Pseudomonas aeruginosa*, microbiology.

REFERENCIAS

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (1997). Division of Toxicology and Environmental Medicine. Toxicological Profile for Chloroform. CAS #: 67-66-3 Atlanta. Disponible en U.R.L: <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts6.html>
- APHA (American Public Health Association) (2002). Disponible en U.R.L: www.apha.org.
- AWWA (American Water Works Association) (2002). *Calidad y Tratamiento del Agua. Manual de Suministro de Agua Comunitaria*. McGraw-Hill/Interamericana, Madrid, España.
- Cabrera A. & Kanashiro. C. (2004). Efecto del pH del agua de piscina en esmalte de dientes deciduos humanos. Estudio con microscopía electrónica de barrido. *Rev. Estomatol. Herediana*. **14**: 59-62.
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales) (1994) Norma Venezolana COVENIN 2.614. Fondonorma, Caracas, Venezuela.
- Espinoza E. & Landecho S. (2003). Calidad bacteriológica de aguas de piscinas públicas y privadas, en la ciudad de Panamá. Panamá.
- Gaceta Oficial de la República de Venezuela. Año CXV: Mes XI. No. 4.044 (Extraordinaria). Decreto MSAS No G-1.126 (1988). Normas Sanitarias para Proyectos, Construcción, Reparación, Reforma y Mantenimiento de Edificaciones. Caracas, Venezuela.
- Gaceta Oficial de la República de Venezuela. Año CXXV: Mes V. No. 36.395 (1998). Decreto MSAS No SG-018-98. Normas Sanitarias de Calidad de Agua Potable. Caracas. Venezuela
- Gasteiz V. (2003). Guía práctica para el diseño del programa de autocontrol de piscinas, [en línea]. Gobierno Vasco. Disponible en: <http://www.osanet.euskadi.net>
- Hernández R., Fernández C. & Baptista P. (1998). *Metodología de la Investigación*. 2ª ed. McGraw-Hill, Ciudad de México, México, pp.215-217
- Knobelsdorf J. & Mujeriego R. (1997). Crecimiento bacteriano en las redes de distribución de agua potable. *Bol. Malariol. Sal. Amb*. **Vol. 4, No. 2**: 17-26.
- Martín M., Hernández A., Felipe A., Hardisson de la Torre A. & Alvarez R. (1992). Análisis microbiológico y fisicoquímico del agua de piscinas de la isla de Tenerife. *Rev. San Hig Púb*. **66**: 281-289.
- Mora V. & Cedeño J. (2006). Determinación fisicoquímica y bacteriológica del agua en las etapas de tratamiento en planta de potabilización. *Universidad, Ciencia y Tecnología*. **10**: 41-45.
- Mora, V., Cedeño J. & García. A. (2005). Calidad y corrosión en aguas de las plantas de tratamiento Angostura y Gurí del Estado Bolívar, Venezuela. *Bol. Malariol. Sal. Amb*. **45**: 127-137.
- OMS (2004). Guidelines for Drinking-water Quality. Génova. Disponible en U.R.L: http://www.who.int/water_sanitation_health
- Salazar, I. (1999). Evaluación de la Calidad del Agua de las Piscinas. Ministerio de Sanidad y Desarrollo Social. Dirección de la Escuela de Malariología y Saneamiento Ambiental "Dr. Arnoldo Gabaldón". Maracay. Aragua.
- Sawyer C., McCarty P. & Parkin G. (2001). Química para Ingeniería Ambiental. (4ta ed.) McGraw-Hill Interamericana, S. A. Bogotá, Colombia.

SEPTEP (Secretaría de Producción, Turismo y Economía Popular), (2006). *Herramienta Informativa para la Inversión en el Estado Carabobo*. Disponible en U.R.L: www.slideshare.net/tobby-dic/herramientas-informativa-para-la-inversin-en-carabobo-208520

SENCAMER (Servicio Autónomo Nacional de Normalización, Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos) (2007). Ministerio para el Poder Popular de las Industrias Ligeras y Comercio. Disponible en U.R.L: www.sencamer.gob.ve

USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1999). Folleto Informativo de tecnología de aguas residuales. Desinfección con cloro (EPA 832-F-99-062) y Desinfección con ozono (EPA 832-F99-063). Disponible en U.R.L: <http://www.epa.gov/espanol/agua.htm>

Recibido el 28/10/2007
Aceptado el 24/04/2008

Reporte Epidemiológico //

Malaria antes y después de la cura radical masiva en el Estado Sucre, Venezuela

José Luis Cáceres G.

La transmisión de la malaria es producto de varios factores relacionados con el hospedero (socioeconómicos y geográficos), y con el parásito. También ha sido reconocido que su transmisión es sensible al clima y el ambiente, percibiéndose como la enfermedad metaxénica más propensa a ser afectada por los cambios climáticos globales. Datos recientes de Venezuela indican que la malaria se podía incrementar en, aproximadamente, un tercio en el año siguiente al evento de El Niño. La administración masiva de medicamentos antimaláricos como medida profiláctica ha generado cuestionamientos por sus fracasos en la interrupción de la transmisión, dadas las bajas coberturas de tratados y la alta probabilidad de dispersión de parásitos resistentes a las drogas. En el estado Sucre la implementación de la cura radical masiva en 2002, cubrió 76,5 por ciento de la población en los municipios intervenidos, nivel suficiente para disminuir la semilla malárica y por ende, la incidencia de la enfermedad. Por lo tanto la solución del problema no se logrará por una sola actividad o medida independiente, es importante el manejo de las variables humanas y técnicas, en lo particular el desarrollo social, que permita una relación armónica consigo mismo y su entorno, evitando el deterioro en la salud y calidad de vida de la población, concomitantemente con el desarrollo de nuevas herramientas para el control del vector y el parásito.

Palabras clave: Malaria, Cura Radical Masiva, Incidencia, El Niño, La Niña.

La malaria puede definirse ecoepidemiológicamente como un sistema complejo en salud pública, constituido por una serie de factores interrelacionados e independientes, donde encontramos al hombre (hospedero susceptible) en el centro del mapa ecoepidemiopatológico y nosográfico, pero considerando en su periferia diversos factores del propio hospedero, así como del vector y su ambiente (Rodríguez *et al.*, 2004).

En Venezuela, durante el período 1998 - 2007, fueron diagnosticados 330.715 casos de malaria, con una fórmula parasitaria de 83,9% a *Plasmodium vivax*,

15,4% a *Plasmodium falciparum*, 0,6% de Infecciones mixtas y 0,1% a *Plasmodium malariae*. El género masculino fue el más afectado con 208.447 (63%) de los casos y el grupo de 15 a 64 años o población económicamente activa fue el de mayor incidencia con 228.573 casos (69%), mientras que los menores de 15 años presentaron 29% de las infecciones. Los estados con mayor incidencia en el decenio fueron: Bolívar, Sucre, Amazonas, Delta Amacuro y Apure.

En el estado Sucre durante el mismo decenio fueron diagnosticados 69.435 casos, registrando una fórmula parasitaria de 99,75% a *P. vivax*, 0,21% a *P. falciparum* y 0,04% de Infecciones mixtas. El género masculino fue el de mayor número de diagnósticos de malaria (63%) y el grupo de 15 a 64 años el de mayor incidencia con 63% de los casos, presentando a su vez los menores de 15 años, 33% de las infecciones (Tabla I).

Departamento de Salud Pública. Universidad de Carabobo, Sede Aragua. Venezuela.

Autor de correspondencia: jolucag@cantv.net

Tabla I. Resumen epidemiológico de la malaria, Estado Sucre. 1998 – 2007.

INDICADOR		Año										TOTAL
		1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	
Casos		5421	6910	12255	9150	16746	5266	4746	4894	2503	1544	69435
Lugar en incidencia nacional		2°	2°	1°	1°	1°	3°	3°	3°	3°	3°	2°
% de casos del país		25	32	41	39	56	17	10	11	7	4	21
Especie Parasitaria	<i>P. vivax</i>	5415	6906	12147	9125	16732	5257	4744	4892	2497	1543	69258
	<i>P. falciparum</i>	4	0	100	24	5	3	2	2	6	1	147
	<i>P. malariae</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	Inf. Mixta	2	4	8	1	8	6	0	0	0	0	29
Grupo Etario	< 15	1711	2470	4383	3117	5788	1587	1443	1381	715	384	22979
	15-64	3478	4184	7396	5672	10317	3486	3129	3317	1703	1102	43784
	> 65	232	256	476	361	641	193	174	196	85	58	2672
Género	Masculino	3104	4000	6888	5189	9509	3037	2710	2837	1421	909	39604
	Femenino	2317	2910	5367	3961	7237	2229	2036	2057	1082	635	29831
Clasificación del Caso	Importado Ext	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	4
	Inducido	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Estado Origen de Infección	Bolívar	37	41	38	6	9	16	34	53	25	27	286
	Monagas	4	2	2	2	7	4	0	2	1	4	28
	Anzoátegui	1	0	1	1	4	4	4	1	5	12	33
	Zulia	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	Táchira	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	Apure	9	34	0	0	0	0	0	0	0	0	43
	Mérida	0	0	0	0	7	1	0	0	0	0	8
	Amazonas	2	5	5	1	0	1	3	1	0	6	24
	Delta A.	3	1	0	3	2	1	2	0	1	4	17
	Vargas	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1

Fuente: Coordinación de Malaria. Dirección General de Salud Ambiental

El estado Sucre, donde se origina la mayoría de los casos en el foco malárico oriental del país, la malaria fue conceptualizada como problema importante de salud pública (Cáceres & Sojo-Milano, 2001) y se consideró erradicada en 1965, logro que se basó en el control químico del vector y en la quimioterapia. En 1983, la enfermedad reapareció y su dispersión y persistencia han sugerido limitaciones en los métodos tradicionales de vigilancia epidemiológica y control.

Durante los años 1998 y 1999, el estado Sucre ocupó el segundo lugar de la incidencia malárica del país con 25 y 32 por ciento de la enfermedad respectivamente, superado sólo por el estado Bolívar. En estos años el país sintió los efectos del fenómeno La Niña (fuerte). En el año 2000, con un aumento de 77% de sus propios casos respecto al diagnóstico del año anterior, y representando 41% del país, el estado Sucre se situó en el primer lugar del registro malárico nacional. Para la fecha, Venezuela había padecido los efectos de la Niña (débil) (NOAA 2004).

Según Gómez *et al.* (2007) y Herrera *et al.* (2007), en el mencionado estado se efectuó un cambio de estrategia en la atención de la malaria en el año 2000, teniendo como base la inclusión de una red de laboratorios en la detección y diagnóstico de la enfermedad, la ampliación del número de microscopistas preparados en el diagnóstico en las zonas rurales más alejadas, la participación de un centenar de habitantes de las localidades más afectadas para apoyar la búsqueda activa de personas infectadas y el aumento del uso de larvicidas biológicos y focalización de la aplicación de insecticidas químicos

En el 2001 la producción de casos se mantuvo casi a nivel del año 2000 (39%), pasando luego a producir 56% del total de la malaria del país en el año 2002 y un nuevo registro de “epidemia” (Tabla I), luego de un Niño moderado. De los 16.746 casos diagnosticados en éste último año (Cáceres & Vela, 2003), 15.960 fueron registrados hasta la semana epidemiológica N° 45, los cuales representaron un

aumento de 97,3% de la morbilidad, respecto al mismo período del año anterior. La Incidencia Parasitaria Anual (IPA) del estado a la semana epidemiológica en mención fue de 22,2 casos por un mil habitantes y siete de sus municipios, se encontraban entre los diez primeros lugares de incidencia malárica en el país (Cáceres, 2004).

La situación epidémica de la enfermedad fue propiciada aparentemente por: causas técnicas (falta de coordinación entre las actividades médicas y el control de vectores, falta de conocimiento del programa antimalárico en buena parte de sus ejecutores, aplicación de modelos de enfermedades infecto-contagiosas y no metaxénicas en la búsqueda de la enfermedad, excesiva toma de láminas sin criterios técnicos, con retraso innecesario del diagnóstico e inicio del tratamiento, seguimiento incompleto de los pacientes parasitados y colaterales), de personal (deficiente supervisión del personal y sus actividades en todos los niveles), débil participación de la comunidad y ausencia de programas de educación para la salud en los municipios. (Cáceres *et al.*, 2005)

Para ese mismo año, la Dirección General de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria decidió ejecutar un “Plan de Acción para el Control de la Malaria en el estado Sucre”, como enfoque estratégico básico para la prevención y control de la enfermedad (Rose, 1988), con el objetivo de disminuir la incidencia malárica en los municipios: Mariño, Benítez, Andrés E. Blanco, Ribero, Libertador, y Cajigal, mediante actividades médicas, llevando a cabo un tratamiento de “Cura Radical Masiva” (CRM), enmarcado en un estudio prospectivo (Cáceres *et al.*, 2005).

Como resultado de la CRM, se evidenció en los tres meses siguientes, una drástica reducción de la enfermedad pasando en promedio, de 145 a 41 los casos semanales y de 287 a 75 la IPA, antes y después de la intervención, manteniéndose la transmisión de la enfermedad en el resto del año, en niveles inferiores a los registrados en la incidencia de 2002 (Cáceres *et al.*, 2005).

En total, durante el quinquenio 1998-2002, el estado Sucre ocupó el primer lugar de la incidencia malárica de Venezuela, con dos períodos epidémicos (2000 y 2002), presentó un acumulativo de 50.482 casos y un promedio de 613 localidades productoras de la enfermedad (Tabla II), siendo los municipios;

Cajigal, Arismendi y Ribero los de mayor incidencia, llegando a diagnosticarse entre los tres, 50,2% de la casuística del estado y 20% de la malaria del país (Tabla III). Además, al término del período el análisis de la “tendencia de la IPA” en el estado (OPS, 1991), señaló un porcentaje de aumento del indicador en 69%.

Para el año 2003, luego de la CRM, la malaria en Sucre observó una disminución de 11.480 casos (69%) respecto del año anterior, y el análisis de “tendencia de la IPA” indicó un porcentaje de reducción de este indicador en 69,65%, pasando la curva endémica de Epidemia, al nivel de Seguridad, aún con la presión de diez meses continuos del fenómeno El Niño (desde Mayo/2002 hasta Marzo/2003).

Durante los años 2004 y 2005, la incidencia fue similar, presentando un pequeño aumento de 3% a favor del segundo y en presencia del fenómeno El Niño (débil) desde Julio/2004 hasta Febrero/2005. Sin realizar ningún tipo de intervención especial en el estado, la malaria continuó con su tendencia descendente durante el año 2006, diagnosticando una diferencia de 49% de la enfermedad, comparada con los casos de 2005, para cerrar el año 2007, con 38% casos menos que el año inmediatamente anterior, resaltando el desarrollo del fenómeno El Niño (moderado) desde Agosto/2006 hasta Enero/2007.

Al final del quinquenio 2003-2007, en Sucre fueron diagnosticados 18.953 casos, y durante todo el período, el estado pasó al tercer lugar de incidencia nacional, ocupando los niveles de “seguridad” y “éxito” del canal endémico. Sólo 381 localidades registraron casos en el estado, con Cajigal, Benítez y Ribero, como municipios de mayor incidencia, para un total de 55% de la malaria del estado y 5% a nivel nacional (Tabla II).

Como es conocido, la transmisión de la malaria es producto de tres grandes grupos de factores: del Hospedero (inmunidad, citoquinas, genética, edad, embarazo); del Parásito (resistencia, multiplicación, vías de invasión, citoadherencia, polimorfismos, variación antigénica, toxinas); y factores Socioeconómicos y Geográficos (acceso a tratamiento, factores culturales, económicos, intensidad de la transmisión, factores ambientales y climáticos) (Miller, 2002).

El factor climático ha sido reconocido desde hace algunos años, al haberse establecido que la

Tabla II. Localidades con casos de malaria por Municipio. estado Sucre, 1998-2007

Municipio	1998	1999	2000	2001	2002	Promedio localidades 1998-2002	2003	2004	2005	2006	2007	Promedio localidades 2003-2007
A. E. Blanco	22	15	25	34	52	30	32	33	31	17	8	24
Andrés Mata	14	15	22	20	29	20	15	11	8	3	4	8
Arismendi	76	82	88	90	87	85	66	54	58	41	27	49
Benítez	90	69	114	141	148	112	112	84	75	58	41	74
Bermúdez	29	27	61	59	43	44	34	49	44	42	31	40
Bolívar	4	1	3	2	1	2	0	2	10	8	0	4
Cajigal	64	71	63	137	132	93	63	54	45	45	36	49
Cruz Salmerón	0	1	3	1	1	1	0	1	4	3	0	2
Libertador	10	18	17	27	25	19	13	17	15	6	6	11
Marino	36	38	45	34	39	38	27	31	29	10	5	20
Mejía	6	5	7	6	5	6	1	7	15	10	4	7
Montes	0	0	3	1	0	1	1	2	3	5	3	3
Ribero	48	46	84	68	83	66	35	33	56	26	21	34
Sucre	35	48	51	79	80	57	53	20	35	30	21	32
Valdez	26	38	39	45	39	37	33	46	34	15	7	27
Total	460	474	625	744	764	613	485	444	462	319	196	381

Fuente: Coordinación de Malaria. Dirección General de Salud Ambiental

Tabla III. Casos de malaria por municipio, estado Sucre, período 1998 - 2007.

Municipio	1998	1999	2000	2001	2002	Total Casos 1998-2002	2003	2004	2005	2006	2007	Total Casos 2003-2007
A. E. Blanco	137	89	155	125	585	1091	244	336	199	40	56	875
Andrés Mata	141	319	580	251	837	2128	233	168	89	9	4	503
Arismendi	867	953	1381	1598	1405	6204	610	450	312	240	183	1795
Benítez	440	433	1087	1256	2035	5251	865	646	603	401	328	2843
Bermúdez	175	265	1287	682	699	3108	226	428	723	431	153	1961
Bolívar	18	1	11	7	2	39	0	15	110	35	0	160
Cajigal	1956	1852	2212	2011	5686	13717	1539	1099	879	701	523	4741
Cruz Salmerón	0	1	3	1	1	6	0	3	12	4	0	19
Libertador	229	390	573	879	811	2882	121	156	66	24	18	385
Marino	591	1073	1390	232	1854	5140	298	237	261	75	37	908
Mejía	22	19	55	11	10	117	2	43	167	56	14	282
Montes	0	0	3	1	0	4	1	3	7	11	6	28
Ribero	481	718	1814	833	1550	5396	554	825	1053	235	89	2756
Sucre	200	269	858	1020	936	3283	310	60	190	143	82	785
Valdez	164	528	846	243	335	2116	263	277	223	98	51	912
Total	5421	6910	12255	9150	16746	50482	5266	4746	4894	2503	1544	18953

Fuente: Coordinación de Malaria. Dirección General de Salud Ambiental

transmisión de la malaria es sensible a los cambios del clima y del ambiente. De hecho, actualmente la malaria se percibe como la enfermedad metaxénica más propensa a ser afectada por los cambios climáticos globales (WHO/ WMO/UNEP, 1996) (McMichael *et al.*, 1996).

En Venezuela, la reemergencia de algunas enfermedades pudiera asociarse a ciertos fenómenos climáticos (Niño, Niña, etc.) lo cual se ha manifestado en algunas regiones del país con una mayor incidencia

de malaria, tal como sucedió en el estado Sucre (Delgado *et al.*, 2003), donde para ciertos años del período 1986-2000, se encontraron asociaciones y correlaciones significativas ($r^2 > 0,50$, $P < 0,05$) entre casos de malaria y alternancia de los fenómenos Niño y Niña (Delgado *et al.* 2004)

Como se ha descrito, posterior al fenómeno El Niño, podrían presentarse condiciones climáticas apropiadas para la aparición de la malaria (Lindblade *et al.*, 1999), (US Naval Medical Research, 1999).

Datos históricos y recientes de Venezuela indican que la malaria se podía incrementar en, aproximadamente, un tercio en el año siguiente al evento de El Niño (Boumma & Dye, 1997).

Curiosamente a partir del año 2000, cuando se produce el cambio de estrategia mencionada por Gómez (2007) y Herrera (2007) y hasta el año 2002, la casuística malárica de Sucre aumentó 37% producto de dos grandes episodios epidémicos, los cuales conformaron a su vez el comportamiento de la enfermedad en el país y es debido a ello que se decide realizar la CRM. Sin embargo los autores de dicha estrategia afirman que la misma fue la responsable de la disminución de la malaria, empezando a cosechar sus frutos tres años después (2003), ignorando los resultados de la CRM, intervención practicada a finales de 2002 y que condujo al control de la enfermedad.

La administración masiva de medicamentos antimaláricos (AMM) ha generado importantes cuestionamientos dado que generalmente se reportan sus fracasos en la interrupción de la transmisión de la enfermedad, siendo sus problemas asociados, las bajas coberturas de habitantes tratados y la alta probabilidad de fomentar la dispersión de parásitos resistentes a las drogas (Pampana, 1966). En el estado Sucre la implementación de la cura radical masiva, cubrió 76,5 % de la población censada en los municipios intervenidos, nivel suficiente para lograr disminuir la semilla malárica y por ende, la incidencia de casos de la enfermedad en todos los municipios de estudio, sin que fueran practicadas otras actividades extraordinarias en el programa antimalárico del estado (Cáceres *et al.*, 2005)

Es importante resaltar, que desde el año 2002 hasta el 2007, el fenómeno El Niño estuvo presente en el país de forma débil y moderada, sin que se haya producido aumento en la incidencia malárica del estado (Fig. 1), ocurriendo por el contrario, un descenso de la malaria en lisis, especialmente en los municipios donde se practicó la CRM: Mariño, Benítez, Andrés E. Blanco, Ribero, Libertador, y Cajigal (Fig. 2).

A la fecha el análisis de la “tendencia de la IPA” en el estado, señala un porcentaje de reducción de este indicador en 70%. Alternativamente se puede observar también que la “razón de riesgos” (OPS, 1991) de enfermar por malaria en Sucre, se situó en 30% ciento, o sea, la incidencia malárica en 2007,

alcanzó dicha proporción respecto al inicio del quinquenio.

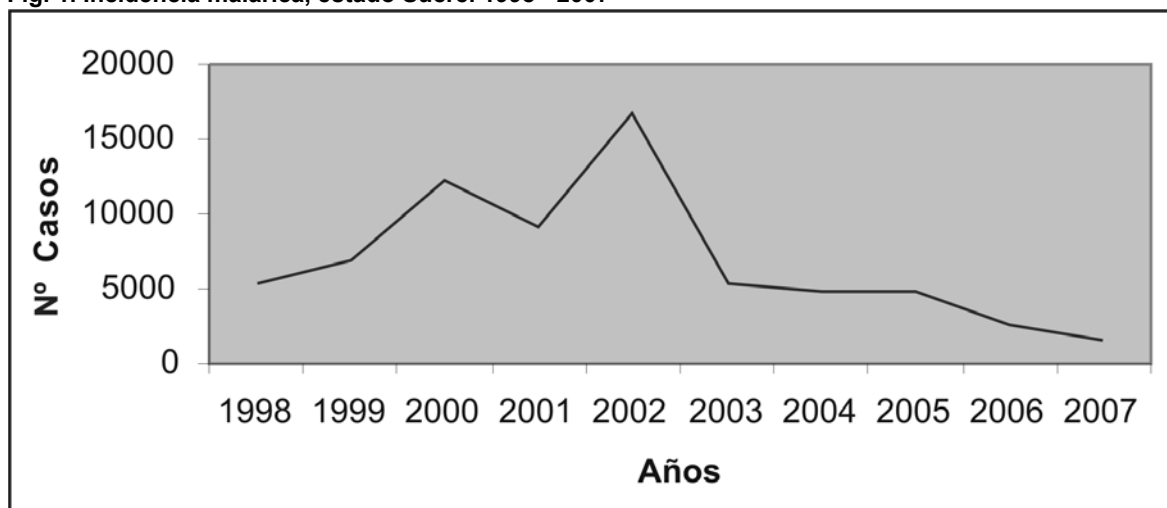
Además de los factores intervinientes analizados, las variables sociales y económicas han jugado un papel importante en asociación con elementos ambientales y de comportamiento humano en la reaparición y persistencia de la malaria en Sucre, y aunque no representa causa de muerte, la enfermedad genera una carga socioeconómica y sanitaria para la población, que no ha sido documentada (Aché, 1998). Por todas estas razones, es importante el manejo de las variables humanas y técnicas, en lo particular el desarrollo social, que permita una relación armónica consigo mismo y su entorno, evitando el deterioro en la salud y calidad de vida de la población, concomitantemente con el desarrollo de nuevas herramientas para el control del vector y el parásito.

Malaria before and after massive radical cure in Sucre state, Venezuela

SUMMARY

Malaria transmission is the result of several factors related to the host (socioeconomic and geographical) and the parasite. It is also accepted that it is related to climate and the environment, and it is considered as the vector-borne disease more affected by global climate changes. Recent data in Venezuela show that malaria might increase approximately one third during the year after the El Niño event. The massive administration of antimalarial drugs as a prophylactic measure has generated criticisms because of the failure to interrupt the transmission, because of the low numbers of treated persons, and the high probability of dispersion of resistant parasites. In Sucre state, a radical massive cure was given in 2002 to 76.5 percent of the population in the municipalities under control. This was a sufficient level to diminish the parasite and the incidence of the illness. Therefore, the problem solution won't be achieved with one activity or independent measurement, it is important to handle the human and technical variables, particularly social development, that will permit a harmonic relationship with the environment, avoiding the deterioration of the health and the quality of life of the population. The development of new tools for the control of the vector and the parasite are also necessary.

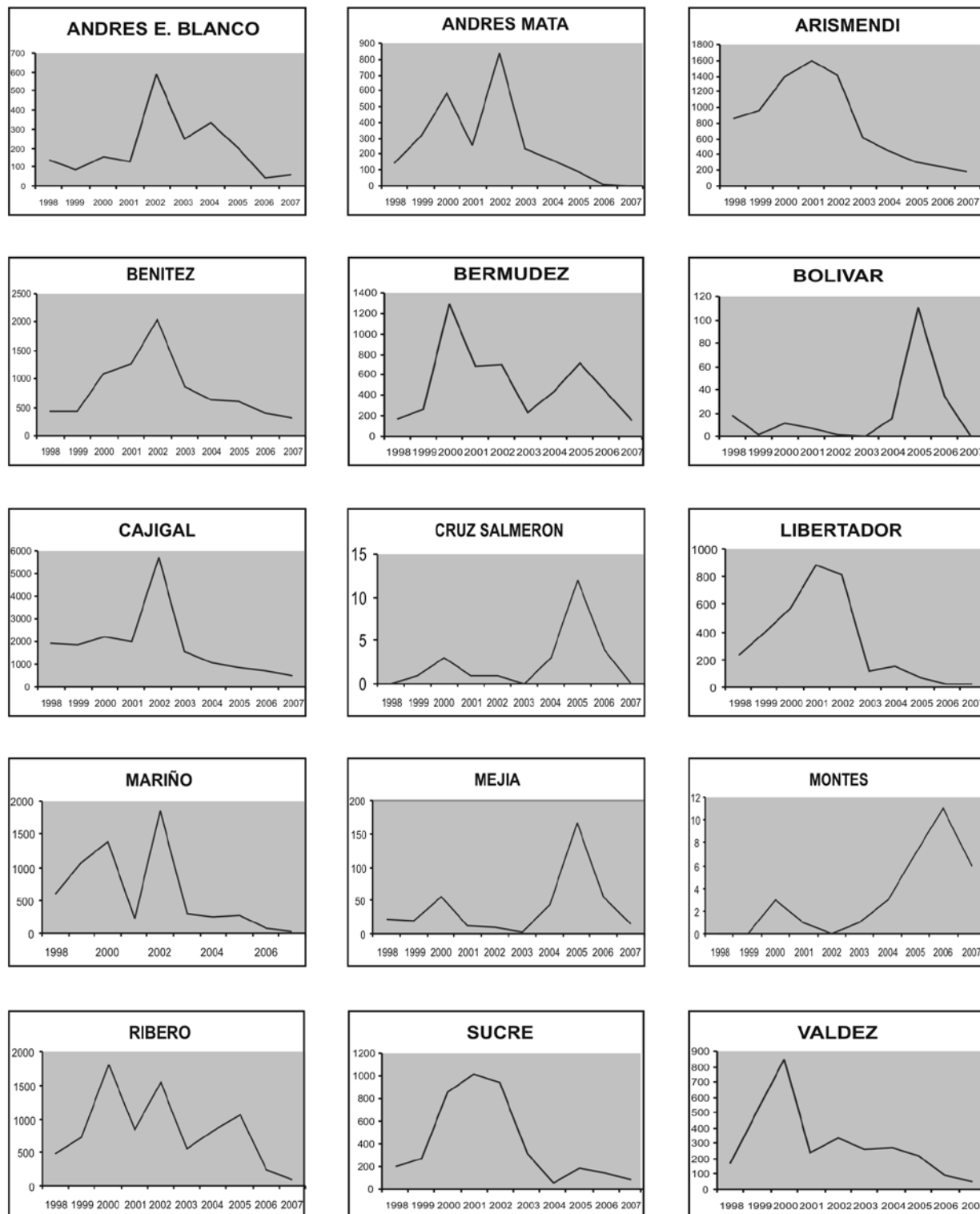
Fig. 1. Incidencia malarica, estado Sucre. 1998 - 2007



Key words: Malaria, Cura Radical Masiva, Incidencia, El Niño, La Niña.

REFERENCIAS

- Aché A. (1998). Situación actual de la malaria en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. Sanea. Amb.* **38 (1)**: 68-72.
- Bouma M. J. & Dye C. (1997). Cycles of malaria associated with El Nino in Venezuela. *JAMA.* **278**: 1772-1774.
- Cáceres J. L. (2004). Estado Sucre: El éxito antimalárico de Venezuela en el año 2003. *Bol. Malariol. Sal. Amb.* **43**: 51-55.
- Cáceres J. L. & Sojo-Milano M. (2001). *Situación actual de la malaria en Venezuela*. Simposio Malaria de las XXVII Jornadas Venezolanas de Microbiología "José Vicente Scorza". Trujillo, 4-6 Noviembre.
- Cáceres J. L. & Vela F. (2003). Incidencia malárica en Venezuela durante el año 2002. *Bol. Malariol. Sal. Amb.* **43**: 53-58.
- Cáceres J. L., Pizzo N., Vela F., Pérez W., Rojas J. G., Mora J., et al. (2005). "Impacto de la Cura Radical Masiva sobre la incidencia malárica del estado Sucre, Venezuela". *Bol. Malariol. Sal. Amb.* **45**: 27-36.
- Delgado L., Córdova K. & Rodríguez A. J. (2003). *Variabilidad Climática y Salud en Venezuela: Estudio de la dinámica de la malaria en el estado Sucre*. En: V Congreso Venezolano de Ecología, Isla de Margarita, Venezuela, Noviembre; pp. 71.
- Delgado L., Córdova K. & Rodríguez A. J. (2004). Impacto de la Variabilidad Climática sobre la malaria. www.ecoportal.net/content/view/full/36128
- Gómez C., Herrera M., González L., Ramírez G., Díaz L. & Pineda A. (2007). "Red de Centros de Diagnóstico de Malaria del Estado Sucre, Venezuela. Situación Actual". *Bol. Malariol. Sal. Amb.* **47 (Supl. 1)**: 211.
- Herrera M., Gómez C., González L., Díaz L. (2007). "Situación Epidemiológica actual de la Malaria en el estado Sucre, Venezuela. *Bol. Malariol. Sal. Amb.* **47 (Supl. 1)**: 212.
- Lindblade K. A., Walker E. D., Onapa A. W., Katungu J. & Wilson M. L. (1999). Highland malaria in Uganda: prospective analysis of an epidemic associated with El Niño. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **93**: 480-487.
- McMichael A. J., Ando M. & Carcavallo R. (1996). Human population health. pp 561-584. In: *Climate Change 1995. Impacts, Adaptations, and Mitigation*

Fig. 2. Incidencia malárica por municipio, estado Sucre, Período 1998 - 2007.

- of Climate Change: Scientific-Technical Analyses*. Contribution of Working Group II to the Second Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, Cambridge University Press.
- Miller E. (2002). The pathogenic basis of malaria. *Nature*, **415**: 673-679.
- NOAA (National Oceanographic and Atmospheric Administration) (2004). Cold & Warm Episodes by Season. Disponible en: URL: <http://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/analysismonitoring/ensostuff/ensoyears.htm>. Consultado en 2007, Diciembre 02.
- OPS (1991). *Principios de Epidemiología para el Control de la Malaria. Programa de enfermedades transmisibles*. Unidad de Epidemiología. Documento OPS-OMS PNS/90-23 (5).
- Pampana E. (1966). *Erradicación de la malaria*. Editorial Limusa-Wiley S.A. México D. F.
- Rodríguez A., Cárdenas R., Sandoval C., Baptista G., Jaimes E., Mendoza J., Delgado L. & Córdova K. (2004). Medio Ambiente y Protozoosis Sistémicas. Variabilidad Climática y su Incidencia en la Malaria. *Academia*, **Año 2, N°5**: 26-32.
- Rose G. (1988). Individuos enfermos y poblaciones enfermas. En: *El Desafío de la Epidemiología, problemas y lecturas seleccionadas*. OPS, Washington D. C.
- US Naval Medical Research (1999). Unit No. 2. Department of Medical Entomology, Jakarta, Indonesia. El Nino and associated outbreaks of severe malaria in highland populations in Irian Jaya, Indonesia: a review and epidemiological perspective. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*. **30**: 608-19.

Recibido el 25/10/2007
Aceptado el 20/03/2008

Nota Científica

Supervivencia de formas de cultivo de *Trypanosoma cruzi* en alimentos experimentalmente contaminados

Néstor Añez* & Gladys Crisante

Se registra la supervivencia de formas de cultivo de *Trypanosoma cruzi* en alimentos experimentalmente contaminados. En 8 de 11 (73%) muestras de frutas y hortalizas utilizadas en los experimentos los parásitos permanecieron vivos por períodos entre 6 y 72 horas. Se estima que el mayor número de parásitos vivos está entre las 6 y las 18 horas post-contaminación. Se discute las implicaciones epidemiológicas potenciales de estos hallazgos.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, Contaminación, alimento, Supervivencia.

Además de las muy conocidas formas de transmisión de *Trypanosoma cruzi* al hombre, incluyendo las vías vectorial, transfusional, congénita y por lactancia, otras vías pueden ser responsables por la aparición de nuevos casos de enfermedad de Chagas. Entre éstas, la vía de transmisión oral de *T. cruzi* pareciera un mecanismo que merece atención. La contaminación de alimentos por deyecciones de triatomíneos vectores o por fluidos (sangre, linfa, leche) provenientes de reservorios de *T. cruzi*, pareciera factor importante en la transmisión oral de la infección chagásica (Camandaroba *et al.*, 2002, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, **44**: 97-103). Al respecto son varios los episodios epidemiológicos atribuidos a infecciones por *T. cruzi*, registrados en Latinoamérica durante los últimos 40 años (Neves da Silva *et al.*, 1968, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, **10**: 265-276; Crescente *et al.*, 1992, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **25**(Supl. 1): 29). Recientemente, en Venezuela se registró un brote de

infección chagásica en una localidad del distrito capital (Municipio Chacao, Estado Miranda), incluyendo a niños escolares, probablemente por ingestión de alimentos contaminados por *T. cruzi* (MPPSalud, 2007, Dirección General de Epidemiología, Dirección de Vigilancia Epidemiológica, 1ª Edición). Tomando en consideración lo anterior, nuestro grupo de investigación ha venido llevando a cabo experimentos en esta línea. En la presente experiencia preliminar se indaga sobre el tiempo de supervivencia de formas de cultivo de *T. cruzi* utilizadas para contaminar experimentalmente algunas muestras de frutas y hortalizas, comúnmente consumidas en Venezuela. Los resultados de estas observaciones servirán de base a futuras experiencias utilizando modelos con formas infectivas de *T. cruzi* para precisar su supervivencia en alimentos contaminados y su capacidad infectiva luego de ingeridos por el hospedador mamífero, hechos de potencial importancia epidemiológica para la comprensión de la enfermedad de Chagas en el país.

Los experimentos fueron realizados utilizando cultivos de *T. cruzi* (aislado MHOM/Ve/92/YBM-92) mantenidos en el laboratorio, los cuales fueron centri-

Investigaciones Parasitológicas "J. F. Torrealba", Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, 5101, Venezuela.

*Autor de Correspondencia: nanes@ula.ve

fugados a 3000g por 5 min, concentrados y resuspendidos en PBS hasta un volumen final de 2 ml, dejándose a temperatura ambiente (22°C) hasta su uso. Antes de su utilización la concentración total de parásitos fue estimada en 20x10⁶ flagelados /mL.

Frutas y hortalizas procedentes del mercado principal de Mérida, incluyendo cambur (*Musa* sp AAA), durazno (*Drunus persicae*), piña (*Ananas sativus*), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), lechoza (*Carica papaya*), manzana (*Malus sylvestris*), papa (*Solanum tuberosum*), zanahoria (*Daucus carota*), apio (*Arracacia xanthorrhiza*), tomate (*Lycopersicum esculentum*) y plátano (*Musa* sp AAB), fueron incluidas en los experimentos. Las muestras de papa, zanahoria, apio y plátano, fueron previamente cocidas antes de utilizarse, siguiendo la forma normalmente utilizada en nuestros campos. Asimismo, las frutas fueron lavadas, peladas y cortadas en trozos. Además, muestras de tomate, durazno y cambur, fueron trituradas suficientemente en mortero hasta obtener un fluido similar al

jugo expendido comercialmente. Todas las muestras fueron cortadas en trozos pequeños de 0.5 cm x 0.5 cm y colocadas individualmente en pozos de cubetas plásticas esterilizadas (multiwell) como las utilizadas para la realización del formato ELISA. Las mismas fueron colocadas con un pozo de separación con dos replicaciones por muestra. Otro grupo de muestras fue cortado en trozos de 3-4 cm x 3-5 cm y colocados en placa de Petri de vidrio, previamente esterilizadas. Las muestras de jugos fueron colocadas en viales plásticos esterilizados antes de su uso. La contaminación de cada una de las muestras indicadas con formas flageladas de *T. cruzi* fue llevada a cabo, bajo condiciones de esterilidad en campana de seguridad, depositando en cada una de ellas 30 µL de cultivo, el cual contenía aproximadamente 6 x10⁵ parásitos. Las placas multiwell y las de Petri fueron colocadas en estufa a 26°C y los viales conteniendo los jugos contaminados fueron dejados a temperatura ambiente (22°C). Detalles sobre las muestras contaminadas y su forma de mantenimiento se muestran en la Fig. 1.

Fig. 1. Muestras de alimentos experimentalmente contaminados con formas de cultivo de *Trypanosoma cruzi*.



Observaciones sobre las muestras fueron registradas a las 6, 18, 24, 48, 72, 96 y 120 horas post contaminación. Las mismas consistieron en tomar una alícuota colocándola sobre una lámina portabjetos para ser observada en microscopio Axioscop (Zeiss) con contraste de fase a 400x. La presencia de parásitos en cada muestra fue registrada de acuerdo a su abundancia como escasa (+:1-5 flagelados/campo), moderada (+:6-12 flagelados/campo) o abundante (+:>15 flagelados/campo). Los mismos fueron registrados en video-cámara digital (Noticam 480) adaptada al axioscop y conectada a computador personal (HP) con programa Motic Images 2000 version 1.3. Similarmente, fue registrada la contaminación por bacterias o levaduras en cada caso. Los resultados obtenidos en observaciones realizadas entre las 6 y 120 horas después de la contaminación experimental con formas de cultivo de *T. cruzi* en diferentes alimentos, se detallan en la Tabla I.

El análisis de los resultados reveló que 8 (73%) de las 11 muestras de alimentos contaminados

utilizados en estos experimentos, mantuvieron parásitos en abundancia variable durante el período de observación. En 1(9%) de ellos, la piña, no se observó supervivencia de parásitos a ningún tiempo de observación. Por el contrario, se detectó una alta concentración de levaduras, lo cual coincidió con un pH cercano a 3 en todo momento. Asimismo, en la muestra de durazno (1/11; 9%) sólo se detectaron parásitos muertos durante todo el período de observación. Como puede apreciarse en la tabla, el rango de supervivencia de *T. cruzi* en los alimentos contaminados varió entre 6 y 72 horas, siendo la muestra de cambur la que ofreció mayor tiempo de supervivencia, la cual se extendió hasta las 72 horas manteniendo una moderada cantidad de parásitos vivos. La comparación de la supervivencia reflejada en el tiempo reveló que el mayor número de parásitos vivos contaminando los alimentos se apreció entre las 6 y las 18 horas de ocurrida la contaminación. Luego de este tiempo, los alimentos fueron colonizados por bacterias y/o levaduras, induciéndose un proceso de fermentación que fue diezmando la población parasitaria hasta su agotamiento total.

Tabla I. Supervivencia de formas de cultivo *Trypanosoma cruzi* en alimentos experimentalmente contaminados.

Muestra de alimento	Presentación y Mantenimiento de la muestra	Temperatura de mantenimiento (°C)	Presencia de parásitos a diferente tiempo de observación (horas)						
			6	18	24	48	72	96	120
Cambur	P.P * (trozo)	26	+++	+++	++	++	++	PMC	-
	M.W**(trozo)	26	+++	+++	NO	PMC	ELI	ELI	ELI
	Vial (jugo)	22	+++	+++	NO	PMC	ELI	ELI	ELI
Tomate	P.P * (trozo)	26	+++	+++	NO	PMC	ELI	ELI	ELI
	M.W**(trozo)	26	+++	+++	NO	PMC	ELI	ELI	ELI
	Vial (jugo)	22	+	PMC	NO	PMC	ELI	ELI	ELI
Durazno	P.P * (trozo)	26	NO	PM	NO	PM	ELI	ELI	ELI
	M.W**(trozo)	26	NO	PM	NO	PM	ELI	ELI	ELI
	Vial (jugo)	22	NO	PM	NO	PMC	ELI	ELI	ELI
Papa	P.P (trozo)	26	+++	+++	++	+++	PM	-	-
Manzana	P.P (trozo)	26	+++	++	++	-	-	-	-
Lechoza	P.P (trozo)	26	+++	+++	NO	PMC	PMC	-	-
Apio	P.P (trozo)	26	+++	+++	++	++	PM	PMC	-
Piña	P.P (trozo)	26	-	-	NO	ELI	ELI	ELI	ELI
Zanahoria	P.P (trozo)	26	+++	+++	++	+++	PMC	-	-
Plátano	P.P (trozo)	26	+	+	NO	PMC	ELI	ELI	ELI
Caña de azúcar	P.P (trozo)	26	+++	+++	NO	PMC	ELI	ELI	ELI

*P.P: Placa de Petri; M.W**: Multi well; PM: parásitos muertos; PMC: Parásitos muertos-contaminación; NO: No observado; - negativo; + escasa cantidad de parásitos; ++ moderada cantidad de parásitos; +++ abundantes parásitos. ELI: Eliminado

A nuestro modo de ver los siguientes aspectos justifican la presente comunicación:

1. A nuestro entender, por primera vez, se alerta sobre la capacidad de *T. cruzi* para sobrevivir en alimentos normalmente consumidos por pobladores de localidades venezolanas donde la enfermedad de Chagas es endémica.
2. Se detecta mediante metodología muy sencilla el rango de supervivencia de flagelados de *T. cruzi* sobre alimentos contaminados, indicándose el periodo de mantenimiento de mayor número de parásitos.
3. El presente podría ser un hallazgo de potencial importancia epidemiológica, asumiendo un comportamiento similar en las formas infectivas de *T. cruzi*. De resultar cierta la presunción, podría arrojar luces sobre la comprensión de las infecciones ocurridas en Venezuela por presunto consumo de alimentos contaminados por *T. cruzi*.

Finalmente, para ampliar los presentes resultados preliminares, mayores detalles sobre supervivencia de formas infectivas y transmisión oral por contaminación de alimentos por *T. cruzi* provenientes de sus hospedadores naturales serán publicados en otra entrega.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Lic. Néstor Añez-Rojas, su asistencia en la preparación del material gráfico del manuscrito. Trabajo financiado por los proyectos CDCHT-ULA-C-1209-03-A (NA); FONACIT-G-20050000370 (NA).

Survival of culture forms of *Trypanosoma cruzi* in experimentally contaminated food

SUMMARY

The survival of *Trypanosoma cruzi* culture forms in contaminated food is reported. In 8 out 11 (73%) samples of fruits and other vegetables experimentally contaminated with *T. cruzi*, the parasite was able to survive from 6 to 72 hours. The major number of survivor flagellates was detected from 6 h to 18 h post contamination. The potential epidemiological implication of this finding is discussed.

Key words: *Trypanosoma cruzi*, Contamination, Food, Survival.

Recibido el 01/03/2007
Aceptado el 10/06/2008

Observaciones sobre la bionomía de *Anopheles* spp. (Diptera: Culicidae) en el municipio Valencia, departamento Córdoba, Colombia

Gabriel Parra-Henao^{1*} & Erika Patricia Alarcón Pineda²

En el municipio Valencia, departamento Córdoba, Colombia, se presenta una alta prevalencia de malaria. En promedio se presentan más de 3.000 casos anualmente, de los cuales 75% son producidos por *Plasmodium vivax*, 13% por *Plasmodium falciparum* y 12% de los casos son debidos a infecciones mixtas. En las veredas Miele Medio, Miele Abajo, San Rafael y Santo Domingo, se realizó un estudio de tipo descriptivo de corte transversal, para identificar las especies de *Anopheles* presentes en el área, determinar actividad de picadura y describir los criaderos más frecuentes. La captura de *Anopheles* adultos se realizó por el método de cebo humano protegido en áreas de intra y peridomicilio. El muestreo de larvas se hizo por el método del cucharón en los criaderos alrededor de las viviendas. Se hicieron mediciones de tasa de ataque (índice de picadura/hombre/hora), tipo y tamaño de los criaderos y densidad larvaria. Se obtuvieron en total 203 anofelinos adultos correspondientes a cuatro especies: *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *nuneztovari* (91,1%), *An. (Anopheles) neomaculipalpus* (4,4%), *An. (An.) pseudopunctipennis* (4,0%) y *Anopheles* (*Nys.*) *evansae* (0,5%). El mayor pico de actividad de picadura lo presentó *An. nuneztovari* en el peridomicilio a las 21:00 horas, así mismo esta especie fue la que se halló en mayor densidad en los 80 criaderos positivos para larvas. Los resultados sugieren que *An. nuneztovari* es el vector primario de malaria en las veredas estudiadas.

Palabras clave: *Anopheles*, *Plasmodium*, malaria, Colombia.

El departamento de Córdoba, ubicado al noroccidente de Colombia, se divide en dos grandes regiones, una primera de tierras planas donde se localizan los valles de los ríos Sinú y San Jorge, donde se concentra la mayoría de municipios. Al interior de la misma, hay varias subregiones: Sinú Medio, Centro, La Costa, Las Sabanas, Las Ciénagas y el San Jorge. Las principales actividades económicas son la agricultura y la ganadería a gran escala (IGAC, 1996, Diccionario Geográfico de Colombia. IV).

La segunda gran región, el Alto Sinú, al sur del departamento, es montañosa con relieves pertenecientes a las Serranías de Abibe, San Jerónimo y Ayapel. Allí se encuentra el Parque Natural de

Paramillo, reserva natural que posee bosques secos de llanura, selvas húmedas en las tierras bajas y de montaña y cimas como la del Paramillo, en la culminación de la cordillera occidental. Esta región alberga una de las mayores concentraciones de fauna y flora nativa del norte de Suramérica y allí nacen los ríos Sinú y San Jorge (IGAC, 1996, Dic. Geog. Colombia. IV). En esta segunda región del departamento se presentan las condiciones ecológicas y epidemiológicas que favorecen la transmisión estable de malaria.

En el año 2005 se registraron 107.866 casos de malaria en el territorio colombiano (Min. Protección Social, 2006, *Bol de prensa*. 38: 3); de los cuales 29.402 (27%) se presentaron en el departamento de Córdoba. En este departamento se encuentran los tres municipios con el mayor Índice Parasitario Anual de malaria: Tierralta, Valencia y Puerto Libertador (Instituto Nacional de Salud, 2005, Sivigila, Inf ejecutivo semanal. Sem. epidemiol. No. 52). En el 2004 en el municipio de Valencia se registraron 3.027 casos de malaria, de los cuales

¹ Instituto Colombiano de Medicina Tropical - Universidad CES. Kra 43 A N° 52 Sur 99, Sabaneta, Antioquia. Telf.: (4) 3053500 Extensión 316.

² Instituto Colombiano de Medicina Tropical - Universidad CES.

*Autor de correspondencia: gparra@ces.edu.co

75,7% fueron producidos por *P. vivax*, 13,1% por *P. falciparum* y 11,2% fueron casos mixtos (Inst. Nac. de Salud, 2006, Sivigila).

Durante el año 2005 el departamento de Córdoba presentó los registros más altos de casos de malaria a nivel nacional con 23.405 casos por *P. vivax*, 5.692 por *P. falciparum* y 305 casos mixtos. Hasta la semana epidemiológica 35 de 2006, este departamento ocupó el segundo puesto después de Antioquia, con 13.928 casos, de los cuales 79,3% fueron causados por *P. vivax*, 19,9% por *P. falciparum* y 0,8% casos mixtos (Inst. Nac. de Salud, 2006, Sivigila). En el 2007, se presentaron 35.238 casos de malaria en el departamento de Córdoba, de los cuales 76,2% fueron causados por *P. vivax*, 22,5% por *P. falciparum* y 1,3% casos mixtos (Inst Nac. de Salud, 2007, Sivigila).

Debido a que son escasos los estudios sobre vectores de malaria en la región del Alto Sinú, se llevó a cabo un estudio de tipo descriptivo de corte transversal con el objetivo de ampliar el conocimiento de las especies de *Anopheles* presentes en el área y aspectos de la bionomía de dichas especies que permitan definir estrategias de control integrado y selectivo de vectores de malaria en la zona.

El municipio de Valencia se encuentra en la región del Alto Sinú, en el departamento de Córdoba (8° 16' 9" N; 76° 8' 47" W) rodeado por las serranías de Abibe, Ayapel y San Jerónimo. Valencia tiene una altitud de 130 m snm, temperatura media de 24° C, humedad relativa promedio de 75% y pluviosidad de 2000 a 3000 mm anuales. El estudio se llevó a cabo en Agosto de 2003, por lo menos en una vivienda de cada una de las siguientes veredas*: San Rafael (08° 15' 36" N 76° 8' 47" W), Mieles Medio (08° 15' 03" N 76° 8' 40" W), Mieles Abajo (08° 14' 98" N 76° 8' 40" W) y Santo Domingo (08° 15' 20" N 76° 8' 49" W).

Para la colecta de *Anopheles* adultos se utilizaron cebos humanos protegidos a quienes previamente se les había solicitado el consentimiento informado y se les proporcionó tratamiento antimalárico profiláctico. Se realizaron capturas puntuales de seis horas (18:00-24:00 h), durante siete días continuos en viviendas de las cuatro veredas*, donde se habían informado enfermos de malaria por lo menos en los últimos seis meses. Las capturas se

realizaron durante 50 minutos cada hora. Se ubicó un colector en el peridomicilio y otro en el intradomicilio, se eligió el dormitorio como el lugar de captura intradomiciliario, mientras que en el peridomicilio se seleccionó el lugar de mayor actividad de los habitantes. Los mosquitos colectados se depositaron en recipientes plásticos ubicados al interior de cámara húmeda divididos en lotes de acuerdo con la hora en que fueron capturados.

Las larvas se colectaron en criaderos ubicados alrededor de las viviendas hasta un radio de 200 metros. Se tomaron en promedio 10 cucharonadas por m² de superficie según metodología de la OMS (1995. Serie de informes técnicos. No. 857) y hasta un máximo de 100 cucharonadas por criadero. Las larvas colectadas y rotuladas se guardaron en viales con alcohol al 70%. Los criaderos se clasificaron según el tipo y el tamaño como pequeños (< 10 m²), medianos (de 10 a 100 m²) y grandes (> 100m²). Se definieron como permanentes o temporales y estancados o con corriente.

Todos los especímenes colectados se empacaron, rotularon y transportaron al Laboratorio de Entomología del Instituto Colombiano de Medicina Tropical "Antonio Roldán Betancur", ubicado en el municipio de Sabaneta aproximadamente a 250 km del área de estudio. La identificación taxonómica de las especies tanto de adultos como de larvas se realizó con las claves de Faran (1980, *Contributions American Entom. Inst.* **15**: 1-215), Suárez *et al.*, (1988. Min. San. Asist. Soc.) y Rubio-Palis (2000. *Anopheles (Nyssorhynchus) de Venezuela. Taxonomía, bionomía, ecología e importancia médica*. Esc. Mal. San. Amb. "Dr. Arnoldo Gabaldon", Maracay, Venezuela).

Se colectaron 203 mosquitos adultos hembra, empleando 42 horas-hombre. Los mosquitos capturados correspondieron a cuatro especies. La especie más abundante fue *Anopheles (Nys.) nuneztovari* Gabaldon, 1940 (91,1%), hallada en las cuatro veredas estudiadas, y colectada en el peridomicilio, entre las 18:00 y las 24:00 horas. El comportamiento de picadura de *An. nuneztovari* fue unimodal en todas las veredas, con pico de actividad entre las 21 y 22 hrs, presentando un hábito de picadura peridomiciliario. *Anopheles (Anopheles) neomaculipalpus* Curry, 1933 (5,4%), fue hallado en tres veredas, con un comportamiento de picadura

* vereda = en Colombia es la menor división administrativa al interior del municipio

poco representativo, colectándose solo 11 mosquitos de esta especie durante el periodo de muestreo. Las especies *An. (Nys.) pseudopunctipennis* Theobald 1901, (3,0%) y *Anopheles (Nys.) evansae* Bretes 1926 (0,5%), solo fueron halladas en la vereda Miele Medio en muy baja proporción (Tabla I).

En las cuatro veredas estudiadas se identificaron 140 criaderos potenciales para *Anopheles*, en 89 de los cuales (63,6%) se encontraron larvas de estos mosquitos. En San Rafael fueron hallados 38 (42,7%) de los criaderos positivos, esta es la vereda que más casos de malaria presentó. En Miele Abajo se hallaron 19 (21,3%) de los criaderos positivos; en Miele Medio y Santo Domingo el total de los criaderos positivos fue de 16 (18%) en cada una. Las charcas, huellas, quebradas y acequias fueron los criaderos donde con más frecuencia se hallaron larvas de *An. nuneztovari* y *An. neomaculipalpus*. Se encontraron larvas de *An. evansae* sólo en tres charcas. La especie más abundante fue *An. nuneztovari* seguida de *An. spp.* (40); *An. neomaculipalpus* (30) y *An. evansae* (10). *Anopheles nuneztovari* y *An. neomaculipalpus* mostraron preferencia por los criaderos temporales y estancados, no mayores de 100 m².

En el departamento de Córdoba, 2do. departamento con más casos de malaria, se ha registrado la presencia de varias especies de *Anopheles*, entre ellas: *An. albimanus*, *An. darlingi* y *An. nuneztovari*, considerados vectores primarios de malaria en Colombia; y *An. pseudopunctipennis*, *An. punctimacula* y *An. neomaculipalpus* (Olano *et al.*, 2001. *Biomédica*. **21**: 402-408). En el presente estudio se comprobó la presencia de *An. nuneztovari*, *An. pseudopunctipennis* y *An. neomaculipalpus* en la zona de estudio. Además, se informa la presencia de *Anopheles evansae*, especie que no había sido registrada para este municipio.

Anopheles nuneztovari fue la especie más abundante en las veredas estudiadas representando el 91,1% de las capturas. Se sabe que *An. nuneztovari* es un complejo de especies con variación morfológica intraespecífica, considerándose vector primario de malaria en Colombia, por tener una elevada capacidad vectorial (Rubio-Palis, 1994. *Am J Trop Med Hyg*, **50**: 420-424.), susceptibilidad a la infección por *Plasmodium* y una amplia distribución geográfica (Botero *et al.*, 2003, *Parasitosis Humanas*. p. 506). Además, se incrimina como el principal vector de malaria en los límites con Venezuela, en la región del Catatumbo y Sarare (Arauca), en Urabá, Valle medio del río Magdalena, en donde generalmente se encuentra en altas densidades (Botero *et al.*, 2003. *Parasitosis Humanas*). Presenta dos patrones básicos de comportamiento: el primero es típicamente zoofílico y exofágico, el segundo es antropofílico y endofágico con pico de actividad tarde en la noche, lo que hace que las especies de *Anopheles* que muestran este comportamiento actúen como vectores primarios de malaria (Elliot, 1972, *Am. J. Trop. Hyg.* **21**: 755-763; Gabaldón, 1981. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **21**: 28-38; Fleming, 1986, OPS; Olano *et al.*, 1997, *Rev Panam Salud Publica*. **1**: 287- 294; Brochero *et al.*, 2006. *Biomédica*. **26**: 269-277).

En el presente estudio se halló a esta especie con comportamiento de picadura exofágica con pico de actividad entre las 21:00 y las 22:00 hrs, principalmente, resultado que concuerda con el de Olano *et al.* (1997. *Rev Panam Salud Pública*. **1**: 287- 294). El comportamiento de picadura que presenta *An. nuneztovari* en la zona de estudio se puede considerar de riesgo debido a que en el periodo entre las 18:00 y las 22:00 horas, los pobladores de las veredas estudiadas tienen por costumbre reunirse alrededor de las casas en las zonas peridomiciliarias,

Tabla I. Distribución de mosquitos adultos de *Anopheles* colectados en cuatro “veredas” del municipio Valencia, departamento de Córdoba, Colombia, Agosto 2003.

Especie	Vereda				Total	%
	San Rafael	Miele Medio	Miele Abajo	Santo Domingo		
<i>An. nuneztovari</i>	69	40	33	43	185	91,1
<i>An. pseudopunctipennis</i>	0	6	0	0	6	3,0
<i>An. evansae</i>	0	1	0	0	1	0,5
<i>An. neomaculipalpus</i>	6	3	2	0	11	5,4
Total	75	50	35	43	203	100

sin ninguna protección, lo que favorece la picadura de los mosquitos y la posible transmisión de malaria, sin embargo, debido a que los muestreos solo se hicieron entre las 18:00 hrs a las 00:00 hrs no se puede afirmar que este sea el periodo de tiempo en el que se da la transmisión. El comportamiento de picadura observado en los anofelinos durante el muestreo, sugiere que para ese periodo de tiempo determinado (entre las 18:00 hrs y las 22:00 hrs) en las cuatro veredas estudiadas la medida preventiva más adecuada para evitar el contacto de *An. nuneztovari* con los humanos es el uso de repelentes de aplicación tópica o el uso de ropas impregnadas con piretroides.

El municipio de Valencia está catalogado como uno de los de mayor riesgo de transmisión de malaria (Secretaría de Desarrollo de la Salud – Córdoba, 2006). Los resultados sugieren que la especie *An. nuneztovari* es uno de los principales vectores en la zona.

Anopheles neomaculipalpus se ha encontrado infectado naturalmente con *P. falciparum* en Colombia (Herrera *et al.*, 1987. Colombia Med. 18: 2-6), y *An. evansae* ha presentado indicios de estar involucrada en la transmisión de malaria en regiones específicas, junto con *An. marajoara*, *An. eiseni* y *An. mediopunctatus* (Botero *et al.*, 2003. Parasitosis Humanas); pero debido a la baja densidad en la que se hallaron tal vez no sean importantes vectores en la zona. Sin embargo, se resalta la amplia distribución que presentó *An. neomaculipalpus* especie que se halló en tres de las cuatro veredas estudiadas.

Los criaderos temporales fueron los que predominaron en la zona de estudio, en estos criaderos se hallaron con mayor frecuencia las especies *An. nuneztovari* y *An. neomaculipalpus*, coincidiendo con registros previos de Gorham *et al.* (1973. Mosq. Syst. 5: 97-156) acerca de su fácil adaptación a criaderos temporales como huellas de ganado y charcos con aguas turbias y poco soleadas.

Anopheles pseudopunctipennis se halló en bajas densidades, sin embargo, por ser considerado vector secundario, no se debe descartar como posible vector en la zona.

Debido a que se trata de un estudio puntual en el cual la especie más abundante fue *An. nuneztovari*, vector primario de malaria en Colombia, se requiere

llevar a cabo estudios que permitan determinar el comportamiento de picadura durante un periodo de tiempo más largo, con el fin de establecer aspectos relevantes para los programas de vigilancia y control de vectores en la zona. Además es importante la capacitación y participación de la comunidad en las acciones de control vectorial.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Salud Municipal de Valencia por el apoyo logístico. Al técnico de saneamiento ambiental Juan Carlos Agaméz por su colaboración en el trabajo de campo.

Observations on the bionomics of *Anopheles* spp. (Diptera: Culicidae) in the Valencia municipality, Cordoba department, Colombia.

SUMMARY

In the Valencia Colombian municipality, the prevalence of malaria is high. For the year 2004 the number of registered cases was 3,027, of which 75.7% were produced by *Plasmodium vivax*, 13.1% were produced by *Plasmodium falciparum* and 11.2% were mixed cases. This study was conducted in Mielles medio, Mielles abajo, San Rafael and Santo Domingo “veredas” belonging to the Valencia municipality, Cordoba State north of Colombia. A cross sectional survey to identify *Anopheles* species, biting activity and breeding sites was developed. An adult mosquito's survey was conducted using protected human bait traps inside and outside houses. Larvae sampling was done in breeding sites around houses. A total of 203 adult *Anopheles* mosquitoes belonging to four species were collected: *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *nuneztovari*, (91.1%), *Anopheles* (*Anopheles*) *neomaculipalpus* (4.4%), *Anopheles pseudopunctipennis* (4.0%) and *Anopheles* (*Nyssorhynchus*) *evansae* (0.5%). *Anopheles nuneztovari* showed the highest biting frequency outside houses at 21:00 hrs and was found with the highest density in the positive breeding sites. Results suggest that *An. nuneztovari* could be a vector of malaria in this study area.

Key words: Malaria, *Anopheles*, *Plasmodium*, Colombia.

Recibido el 28/06/2007
Aceptado el 28/04/2008

Infección natural de *Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera: Reduviidae) al sureste del estado Lara, Venezuela

Luis Eduardo Traviezo-Valles^{1*}, Dorit Berkefeld¹ & Elis Aldana²

Se señala la presencia de *Panstrongylus rufotuberculatus* (Champion, 1899), naturalmente infectados con *Trypanosoma cruzi*, capturados dentro de las casas en la población montañosa de La Cruz a 1200 msnm, siendo el primer reporte de esta especie en el municipio Andrés Eloy Blanco del estado Lara, Venezuela.

Palabras Clave: *Panstrongylus rufotuberculatus*, *Trypanosoma cruzi*, infección, Venezuela.

La enfermedad de Chagas es una parasitosis exclusiva del continente americano, estimándose que existen entre 18 a 20 millones de personas infectadas de 100 millones que están expuestas a la misma, siendo transmitida en Venezuela principalmente por tres especies de triatomos a saber, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma maculata* y *P. geniculatus* de hábitos preferentemente domiciliar, peridomiciliar y silvestre respectivamente (Traviezo & Bonfante, 2004, *Parasitol Latinoam.* **59**: 46–50; Rodríguez *et al.*, 2007, *Cad. Saúde Pública*, **23**: 1133-40).

Panstrongylus rufotuberculatus es un triatomo que se ha encontrado en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, México, Panamá, Perú y Venezuela (Lent & Wygodzinsky, 1979, *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **163**: 125-520; Galvão *et al.*, 2003, *Zootaxa*. **202**: 1-36); siendo Anduze en 1938 quien capturó por vez primera esta especie en Venezuela en la población de Choroní, estado Aragua. Posteriormente Pifano en 1939 lo refiere en Yaracuy y Lara; Fernández & Rosales en Carabobo y Roze en 1951 lo localiza en Guárico, también ha sido descrito en los estados Delta Amacuro y Monagas (Cova

García & Suarez, 1959. Estudio de los triatomos en Venezuela. Min. San. Asist. Soc. Caracas). En el estado Lara sólo había sido reportado en el municipio Morán, específicamente en la población de El Tocuyo (Cova García & Suarez, 1959 *loc. cit.*). Esta es una especie de hábitos silvestres que se ha relacionado con animales salvajes como procyonidos, murciélagos y marsupiales, señalándose en Colombia una marcada tendencia hacia la domiciliación y siendo su captura referida principalmente por su atracción hacia la luz artificial, es así como Lent & Pifano en Venezuela lo encuentran por primera vez infectado con *Trypanosoma cruzi* en 1940 (Calderón *et al.*, 2004, *Parasitol Latinoam.* **59**: 65-67; Cova García & Suarez M., 1959 *loc. cit.*).

En el presente trabajo se colectaron 10 ejemplares adultos y huevos de *Panstrongylus rufotuberculatus* (Fig. 2), los cuales provenían del interior de cuatro viviendas de la población de La Cruz, municipio Andrés Eloy Blanco al sureste del estado Lara, Venezuela, situada a 10°68' N, 43°55'42'' O y a 1300 m snm, en una zona de bosque húmedo premontano (Fig. 1), con una temperatura media anual de aproximadamente 19,5°C, y una precipitación media anual de 900 mm.

Los triatomos fueron identificados mediante las claves dicotómicas de Lent & Wygodzinsky, (1979, *loc. cit.*), realizándose su disección para obtener una muestra de su contenido intestinal que fue diluida en solución salina al 0,85% para observar al microscopio

¹ UCLA, Decanato Ciencias de la Salud, UNIPARME, Sección de Parasitología, Barquisimeto, estado Lara. Venezuela.

² Laboratorio de Entomología "Herman Lent". Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

*Autor de Correspondencia: ltravies@ucla.edu.ve

Fig. 1. Ambiente con vegetación de bosque húmedo premontano, sitio de captura intradomiciliar de *Panstrongylus rufotuberculatus*.



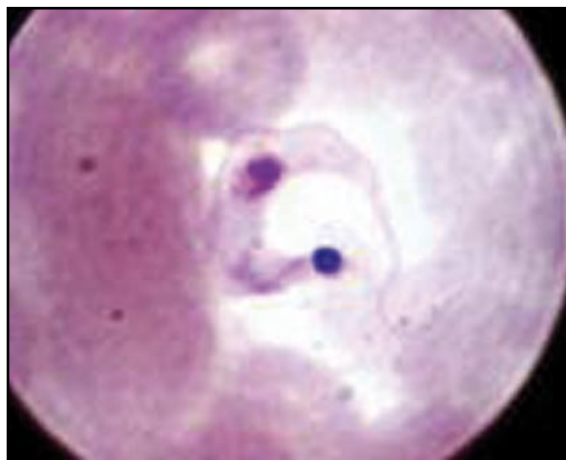
de luz y para inocular por vía intraperitoneal 0,5 ml de esta solución a ratones jóvenes. Simultáneamente se realizó un frotis de dicho material en un portaobjetos para su posterior fijación y tinción con colorante de Giemsa. La observación de la tinción se realizó por medio del microscopio de luz utilizando el objetivo de inmersión de 100x. (Calderón *et al.*, 2004. *loc. cit.*). De los 10 ejemplares capturados, cuatro fueron positivos a *T. cruzi*, mostrándose en los frotis fecales las formas flageladas típicas de *T. cruzi* (epimastigotos y tripomastigotos metacíclicos) en una proporción de 0 a 5 parásitos por campo. La presencia de *T. cruzi* en el torrente sanguíneo de los ratones se pudo corroborar luego de 13 días de su inoculación (Fig. 3).

Panstrongylus rufotuberculatus, a pesar de haber sido señalado en altitudes de hasta 2000 m snm,

Fig. 2 . *Panstrongylus rufotuberculatus* positivo para *Trypanozoma cruzi* en la población de La Cruz, estado Lara, Venezuela.



Fig. 3. Tripomastigote de *Trypanosoma cruzi* en sangre circulante de ratones infectados experimentalmente con deyecciones de *P. rufotuberculatus*.



sin embargo en este trabajo fue capturado a alturas mayores a las señaladas en Costa Rica (menos de 800 m snm) y Perú (530 m snm) pero próximo a lo señalado en Colombia (1500 m snm). En Venezuela se había encontrado naturalmente infectado, pero no se habían reportado adultos y sus huevos dentro de las viviendas

El hecho que en Colombia se señale a *P. rufotuberculatus* domiciliado (100%) e infectado (4,5%) a una altura similar a la del presente trabajo y los recientes hallazgos en el estado Lara de *P. geniculatus* de hábitat preferentemente silvestre, infectados con *T. cruzi* y domiciliando la vivienda, nos lleva a proponer la revisión de la importancia epidemiológica atribuida a *R. prolixus* en Venezuela, debido a la posible emergencia de especies silvestres de triatominos que por alteración antrópica de sus hábitats naturales, están en proceso de dispersión, penetración y domiciliación de las viviendas (Lent & Wygodzinsky, 1979, *loc. cit.*; Cova García & Suarez, 1959, *loc. cit.*; Wolf, 2002, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **97**: 297-300; Feliciangeli *et al.*, 2003. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **71**: 501-505; Carrasco *et al.*, 2005. *Int. J. Parasit.* **35**: 1379-1384; Marín *et al.*, 2007, *Cad. Saúde Pública*, **23**: 2235-2238; Rodríguez *et al.*, 2007, *loc. cit.*).

AGRADECIMIENTO

A los habitantes de la población de La Cruz por su desinteresada colaboración.

Natural infection of *Panstrongylus rufotuberculatus* (Hemiptera: Reduviidae) at Southheastern of Lara state, Venezuela

SUMMARY

This paper reports *Panstrongylus rufotuberculatus* (Champion, 1899) infected with *Trypanosoma cruzi* found inside houses in La Cruz, a mountain

village at 1200 m. This is the first report of this species in the county of Andres Eloy Blanco, Lara state, Venezuela.

Key words: *Panstrongylus rufotuberculatus*, *Trypanosoma cruzi*, infection, Venezuela.

Recibido el 01/03/2008
Aceptado el 22/04/2008

Revista de revistas

□ ROMANA C., EMPERAIRE L. & JANSEN A. M. (2003). **Enfoques conceptuales y propuestas metodológicas para el estudio de las interacciones entre el medio ambiente y la salud: aplicación a un programa de investigación sobre la tripanosomiasis americana.** *Cad. Saúde Pública.* **19:** 945-953.

Institut de Recherche pour le Développement. C.P. 7091, Lago Sul, Brasília, DF 71619-970, Brasil; Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília. SAS Quadra 05, Bloco H, 2o andar, Brasília, DF 70070-914, Brasil; Departamento de Protozoologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ 21045-900, Brasil. jansen@gene.dbbm.fiocruz.b

Las modificaciones del paisaje causadas por las actividades y migraciones humanas contribuyen en hacer emerger o re-emerger enfermedades tropicales, particularmente aquellas cuya transmisión se realiza por insectos vectores que a menudo deben escapar a las condiciones cambiantes ambientales, adaptándose y modificando sus redes tróficas, su morfología, hasta su genotipo. Obtener una mejor comprensión de las relaciones entre los factores ecológicos y humanos y las antropozoonosis es vital para poder identificar variables que permitan cartografiar el riesgo para las poblaciones humanas. Este es el objetivo del programa de investigación Ecología del Paisaje, Dinámica de los Agro-Ecosistemas y Complejos Eco-Patógenos: La Definición del Riesgo Eco-Epidemiológico en la Tripanosomiasis Americana que se desarrolla en diferentes ecosistemas del Brasil. Los autores describen las bases conceptuales y metodológicas del programa e insisten sobre el rol del método eco-epidemiológico para el estudio de la estructura y el funcionamiento de los focos naturales y antropizados de la infección. Modelizar su dinámica espacial y temporal permite concebir nuevos útiles de predicción y de vigilancia.

□ AL-JAWABREH A., SCHOENIAN G., HAMARSHEH O. & PRESBER W. (2006). **Diagnóstico clínico de leishmaniasis cutánea: Un estudio comparativo entre microscopía directa estandarizada en categorías de varios grados e**

ITS1-PCR de frotis teñidos con Giemsa. (Clinical diagnosis of cutaneous leishmaniasis: A comparison study between standardized graded direct microscopy and ITS1-PCR of Giemsa-stained smears). *Acta Tropica.* **99:** 55-61.

Institute of Microbiology and Hygiene, Charité University of Medicine, Dorotheenstr. 96, D-10098 Berlin, Germany & Leishmania Research Unit (LRU), P.O. Box 97, Jericho, Palestine

El diagnóstico parasitológico de la leishmaniasis cutánea es absolutamente necesario antes del tratamiento. La microscopía directa del raspado tomado de los márgenes de la lesión cutánea es el método más comúnmente usado para el diagnóstico clínico de leishmaniasis. En este estudio se evaluó el uso de frotis teñidos como muestras para PCR y la posible ventaja del PCR. Nosotros comparamos la sensibilidad del diagnóstico por raspado de piel teñido con Giemsa a través de una microscopía directa y estandarizada en categorías de varios grados, utilizando la técnica de ITS1-PCR con el material de la misma área de la lámina. Se marcaron tres recuadros de 5mm×5mm en cada una de las 20 láminas teñidas con Giemsa de 20 pacientes Palestinos diagnosticados. De los 60 recuadros escaneados para detectar la presencia de amastigotos bajo microscopio de luz con 100x con aceite de inmersión, 45 (75%) dieron resultados útiles y 23 de éstos fueron positivos a Leishmania. Quince (25%) no pudieron ser revisados microscópicamente, 12 por la coloración demasiado gruesa y 3 porque la coloración era inadecuada. El DNA de cada recuadro escaneado fue extraído separadamente después de la microscopía y se hizo la corrida a través de la técnica ITS1-PCR. De los 23 cuadrados positivos por microscopía, 20 (87%) de éstos fueron positivos a PCR. De los 3 que fueron negativos, en uno hubo falla en la extracción del DNA, el segundo mostró solo un amastigoto en el recuadro completo, y el tercero fue definido grado -1, pero no fue amplificado por razones desconocidas. De los 22 cuadrados negativos por microscopía, 18 (82%) fueron ITS1-PCR positivos. Adicionalmente, todos los tres cuadrados mal teñidos fueron ITS1-PCR positivos. De los 12 cuadrados teñidos muy oscuros, 11 fueron positivos. Se utilizó un grupo control negativo de 15

individuos alemanes de cuyas láminas coloreadas con Giemsa se prepararon 3 muestras cada una, y éstas también fueron escaneadas microscópicamente y probadas por ITS1-PCR. Comparado con la microscopia (resultados entre paréntesis), PCR mostró una sensibilidad de 97% (37%) y especificidad de 100%(100%). Concluimos que los frotis teñidos con Giemsa constituyen un método de muestreo que se puede utilizar fácilmente para PCR y que el ITS1-PCR es mucho más sensible que la microscopía.

□ DE LIMA H., CARRERO J., RODRÍGUEZ A., DE GUGLIELMO Z. & RODRÍGUEZ, N. (2006). **Trypanosomatidae de importancia en salud pública en animales silvestres y sinantrópicos en un área rural del municipio Tovar del estado Mérida, Venezuela.** *Biomédica*. **26**: 42-50

Instituto de Biomedicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. & Servicio de Dermatología Regional de Tovar, Módulo Las Acacias, Tovar, Mérida, Venezuela.

Introducción. La enfermedad de Chagas y la leishmaniasis son patologías de gran importancia en salud pública debido a su alta frecuencia y amplia distribución en América Latina. El estudio de los animales reservorios es vital para una comprensión global de estas enfermedades. **Objetivo.** En el presente trabajo nos propusimos identificar parásitos de la familia Trypanosomatidae en animales silvestres con la finalidad de establecer posibles relaciones debidas a la coinfección. **Materiales y métodos.** En El Carrizal, un área rural del estado Mérida, Venezuela, entre julio de 1998 y febrero de 2000 se realizaron capturas sistemáticas de animales silvestres con la finalidad de poner en evidencia la presencia de parásitos pertenecientes a la familia Trypanosomatidae. Las capturas fueron realizadas con trampas caseras tipo Tomahawk, colocadas 15 noches por mes durante el periodo del estudio. A los animales capturados se les practicó punción cardíaca bajo anestesia para extracción de sangre con la cual se realizaron los siguientes estudios: examen en fresco, extendido para coloración con Giemsa y cultivo en agar-sangre. Se realizaron algunos xenodiagnósticos. Los aislamientos obtenidos por medio de cultivo se identificaron por medio de análisis de restricción e hibridación con sondas específicas. **Resultados.** Se capturaron y estudiaron 215 animales pertenecientes a tres especies: *Rattus* spp. (135), *Sigmodon hispidus* (73) y *Didelphis marsupialis* (7). Igualmente, se identificaron tres especies de Trypanosomatidae: *Leishmania* (V) *guyanensis*, *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma lewisi*. Mientras *T. cruzi* fue identificado en *D. marsupialis* (4/7), *S. hispidus* (1/73) y *Rattus* spp. (1/135), *L. (V) guyanensis* y *T. lewisi* sólo se identificaron en *Rattus* spp. (1/135 y 12/135, respectivamente). **Conclusión.** El estudio de la coexistencia de estas diferentes especies

de flagelados genéticamente relacionados nos parece de importancia por las interacciones inmunológicas que se pueden establecer en los animales reservorios y las posibles implicaciones que esto puede tener en el huésped susceptible. Finalmente, las identificaciones de *L. (V) guyanensis* y *T. cruzi* en *Rattus* spp. y *S. hispidus*, respectivamente, son las primeras reportadas en Venezuela.

□ VIVAS L., O'DEA K. P., NOYA O., PABON R., MAGRIS M., BOTTO C., HOLDER A. A., BROWN K. N. (2008). **La esplenomegalia malárica hiperreactiva está asociada con bajos niveles de anticuerpos contra glóbulos rojos y glicolípidos derivados de *Plasmodium falciparum* en Amerindios Yanomami em Venezuela** (*Hyperreactive malarial splenomegaly is associated with low levels of antibodies against red blood cell and Plasmodium falciparum derived glycolipids in Yanomami Amerindians from Venezuela*). *Acta Trop.* **105**: 207-14.

National Institute for Medical Research, Mill Hill, London NW7 1AA, United Kingdom. livia.vivas@lshtm.ac.uk livia.vivas@lshtm.ac.uk

La base inmunológica de la respuesta inmune aberrante en la esplenomegalia malárica hiperreactiva (HMS) es poco entendida, pero se cree que está asociada con la activación de células B policlonales por un mitógeno no identificado en malaria, que produce una inmunoglobulina no regulada y producción de autoanticuerpos. HMS ha sido reportada en comunidades Yanomami del Alto Orinoco en la región Amazónica Venezolana. Para investigar la posible asociación entre las respuestas hacia *Plasmodium falciparum* y glicolípidos de glóbulos rojos no infectados (URBC) y esplenomegalia, se hizo una comparación directa del parásito versus las respuestas de los anticuerpos antiglicolípidos del hospedador en una comunidad aislada de esta área. La respuesta glicolípido anti-P. falciparum (Pfglp) fue predominantemente IgG3 mientras que la respuesta del glicolípido de glóbulos rojos no infectados mostró una predominancia de IgG1. Los niveles de IgG1 contra Pfglp y de IgG4 e IgM contra URBCglp fueron significativamente más altos en las mujeres, mientras que el anti-Pfglp o los niveles URBCglp IgM fueron inversamente correlacionados con el grado de esplenomegalia. En definitiva, estos resultados sugieren una regulación diferencial de las respuestas anti-parásito y autoreactivas y que estas respuestas pueden estar ligadas al desarrollo y la evolución de HMS en esta población expuesta a malaria endémica. La alta mortalidad asociada con HMS indica que su diagnóstico temprano junto con la implementación de las medidas de control de la malaria en estas comunidades Amerindias aisladas constituyen una prioridad.

Fe de Errata //

En esta Sección se incluyen 4 resúmenes de trabajos presentados en el XVIII CONGRESO LATINOAMERICANO DE PARASITOLOGÍA (FLAP 2007), celebrado en la Isla de Margarita, Venezuela, en Octubre 2007 y publicados en el Boletín de Malariología y Salud Ambiental, Vol. XLVII Supl. N° 1, año 2007.

Por error involuntario, los primeros dos resúmenes no aparecieron publicados y en los últimos dos se omitieron algunos de los autores.

Tómense como referencia de estas publicaciones el Vol. XLVIII, N° 1, 2008, en las páginas correspondientes 105 y 106.

❑ BARGUES M. D., LATORRE-ESTIVALIS J. M., SAINZ S. & S. MAS-COMA. **Evaluación del riesgo de reintroducción de la malaria en España y análisis molecular de las especies de culicidos presentes en dos zonas potencialmente palúdicas.** (*Risk evaluation of the malaria reintroduction in Spain and molecular analysis of Culicidae species in two potentially paludic areas*).

Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Av. Vicente Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, Valencia, España

El cambio climático ha impulsado numerosas investigaciones sobre mosquitos en el Sur de Europa, principalmente Anopheles por el riesgo de reintroducción de malaria. La actividad humana junto con el cambio climático han inducido una serie de cambios ambientales que han provocado la (re)-emergencia o extensión de enfermedades vehiculadas por artrópodos. Para el presente estudio, fueron seleccionadas dos zonas tradicionalmente palúdicas de España: El Delta del Ebro (Tarragona) y L'Albufera de Valencia y sus alrededores (Valencia). Se ha realizado una caracterización climática y territorial de ambas zonas, un estudio entomológico y molecular de las especies de Culicidos presentes, estudio histórico de la enfermedad (revisión bibliográfica y casos reportados) así como un estudio de las actividades humanas y su

influencia en la evolución del Paludismo. El cambio climático caracterizado por aumento de temperaturas y disminución de las precipitaciones, podría suponer una ampliación del periodo de riesgo de transmisión en estas zonas debido a que la existencia de arrozales inundados compensaría la ausencia de agua. Aunque ambas zonas past-endémicas de Malaria tienen unas características similares en cuando a que ambas son amplias extensiones dedicadas al cultivo del arroz, los resultados de nuestros estudios confirman la existencia de Anopheles atroparvus, como posible vector en el Delta del Ebro, sin embargo en L'Albufera de Valencia no ha sido encontrada ninguna especie de Anopheles. Las diferencias existentes en la forma de cultivo del arroz, la calidad del agua de riego y los tratamientos agrícolas efectuados explicarían la desaparición de ésta y otras especies de Anopheles en la zona de L'Albufera de Valencia. El análisis molecular de los Culicidos presentes en ambas zonas confirman la utilidad del gen 18S como marcador específico, y supraespecífico, mientras que los ITSs del ADN ribosomal, permiten la distinción de haplotipos y poblaciones dentro de una especie.

Estudio financiado por los Proyectos EDEN (N° 010284) de la Comisión de las Comunidad Europea (RDG, EC), Bruselas, GVACOMP2007-294, de la Consellería de Empresa, Universidad y Ciencia de la Generalitat Valenciana y RICET (No. C03/04 y N° ISCH2005-PI050574 y N° ISCH-RETIC RD06/0021/0017) del Fondo de Investigación para la Salud, Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid

❑ BARGUES M. D.¹, ZURIAGA M. A.¹, BOLÁS G.¹, LÓPEZ D. C.^{1,2}, GUHL F.² & MAS-COMA S.¹. **Caracterización molecular por análisis multigenico de poblaciones domésticas, peridomésticas y silvestres de especies de Rhodnius de Colombia y Venezuela.** (*Molecular characterization through multigenic analysis of domestic, peridomestic and silvatic species of Rhodnius from Colombia and Venezuela*).

¹ Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Av. Vicente Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, Valencia, España.

² Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical (CIMPAT), Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Se ha realizado un análisis multigenico en base a las secuencias de los espaciadores internos del ADN ribosomal nuclear ITS-1 e ITS-2, así como de los genes ribosomales nucleares 18S y 5.8S, marcadores moleculares que aportan distintos niveles de resolución en cuanto a las relaciones evolutivas entre las distintas especies y poblaciones en Triatominae. *Rhodnius prolixus* es el vector más importante de la enfermedad de Chagas en Colombia y Venezuela. En Colombia, *R. prolixus* era considerado como un vector introducido, posiblemente desde Venezuela, ya que se encuentra estrictamente domiciliado. Sin embargo, el reciente hallazgo de poblaciones silvestres en la parte oriental del país plantea la posibilidad de que tanto las poblaciones domiciliadas de Colombia como las de Venezuela hayan derivado de estas poblaciones silvestres que podrían ser autóctonas, y que a su vez habrían evolucionado a partir de las poblaciones silvestres de *Rhodnius robustus* de Venezuela. En el presente estudio se analizaron muestras de *R. prolixus* procedentes de Colombia y Venezuela, representativas de poblaciones domiciliadas, peridomiciliadas y silvestres, y *R. robustus* de poblaciones silvestres de Venezuela. Las secuencias de los genes 18S y 5.8S, marcadores altamente conservados, resultaron idénticas para todas las muestras analizadas, no siendo capaces de distinguir entre las dos especies. El ITS-1, secuenciado por primera vez para especies pertenecientes a la tribu Rhodnini, fue capaz de diferenciar claramente a *R. prolixus* de *R. robustus*, con lo que resulta ser un buen marcador para diferenciar a nivel de especies, pero no se hallaron diferencias entre las distintas poblaciones de *R. prolixus*. El ITS-2 resultó ser el marcador más variable, se identificaron un total de 6 haplotipos diferentes en *R. prolixus* y 4 en *R. robustus*. Los dos haplotipos mayoritarios de *R. prolixus* se encuentran en todas las poblaciones estudiadas, otros 3 son exclusivos de Colombia, y otro exclusivo de Venezuela. La información extraída de los genes 18S y 5.8S y el ITS-1 confirman la relación ancestral entre *R. robustus* y *R. prolixus*; por otra parte, la distribución de las variantes del ITS-2 soporta la teoría de que tanto las poblaciones domiciliadas de Colombia como las de Venezuela podrían tener su origen en las poblaciones silvestres autóctonas del límite entre ambos países.

Estudio financiado por los Proyectos CDIA (No. ICA 4CT-2003-10049) de la Comisión de las Comunidades Europeas (RDG, EC), Bruselas y RICET (No. C03/04) del FIS, Ministerio de Sanidad, Madrid.

□ González Baradat B.^{1,3}, Proietti L.², Reyna-Bello A.¹, Gonzatti M. I.³ **Clonación y fusión de la región catalítica de la cisteín proteasa y del dominio de unión al péptido de la hsp70 de *T. vivax*.** (*Cloning and fusion of the cystein protease catalytic region and the HSP70-Substrate binding domain of *T. vivax**).

Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez (UNESR-IDECYT)¹, Universidad Central de Venezuela², Universidad Simón Bolívar³.

Para desarrollar estrategias inmuno-profilácticas en animales expuestos a la tripanosomosis producida por *T. vivax* se buscó la construcción de una proteína recombinante de fusión que presente características inmonogénicas y propiedades adyuvantes. Para ello, se clonaron la región catalítica de la cisteín proteasa (R.c.C.p) y la región de unión al péptido (R.U.P) de la proteína de choque térmico HSP70 de *T. vivax*. Para clonar estas regiones en vectores de clonación, se diseñaron los cebadores CpRc.F/R y RUPF/R y luego se realizaron las respectivas PCRs a partir de ADN de *T. vivax*. Se obtuvo una banda de aproximadamente 680 pbs con CpRc.F/R y otra de aproximadamente 780 pbs con RUPF/R. Estos productos de PCR fueron purificados y secuenciados. Los resultados obtenidos muestran una homología del 85% de R.U.P con esta misma región en otros tripanosomatídeos, y del 100% con la región catalítica de un aislado de *T. vivax* previamente secuenciado. Para la clonación de estos fragmentos se procedió a ligar ambos productos de PCR en el plásmido pGemT. Los productos de la ligación (pGemTRUP y pGemTCfRC) fueron introducidos en células DH5α las cuales fueron cultivadas en presencia de IPTG/ XGal-Ampicilina. Se realizaron PCR colony en las colonias resultantes, obteniéndose bandas de 780 pbs y 680 pbs respectivamente. Estos insertos fueron amplificados con los primers .ECpRcF/R y ERUPF/R y sus productos fueron cortados en sus extremos con enzimas de restricción. Finalmente, los productos fueron ligados con una T4 ligasa, observándose una banda cercana a los 1500 pbs indicando la presencia de un producto fusionado.

□ GONZÁLEZ BARADAT B.^{1,4}, PROIETTI L.², GÓMEZ ELY³, GONZATTI MARY ISABEL⁴ **Aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de *T. vivax* en ovinos infectados experimentalmente.** (*Polymerase chain reaction (PCR) use for *T. vivax* identification in experimentally infected sheep*).

¹Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez (UNESR-IDECYT), ²Universidad Central de Venezuela, ³Universidad de Oriente, ⁴Universidad Simón Bolívar.

El diagnóstico de la tripanosomosis usualmente realizado por métodos clínicos, serológicos y parasicológicos, no son efectivas a la hora de determinar si existe una infección en animales en estado crónico, donde los niveles de parasitemia son muy bajos. La alta sensibilidad de la técnica de PCR para la detección de ADN ha permitido su empleo para el diagnóstico de diversas enfermedades. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estandarizar esta técnica, para la identificación de la tripanosomosis en ovinos infectados experimentalmente con un aislado venezolano de *T. vivax* (Apure). Para ello se tomaron 8 ovinos, de los cuales cuatro fueron infectados con 106 tripanosomas, los cuatro restantes fueron el control negativo. Se les extrajo la sangre y se

obtuvieron muestras de ADN con las que se realizó un PCR con los cebadores RCF1/2 observándose la presencia de una banda de 680 pbs, en los ADNs provenientes de la sangre de animales infectados. La prueba de sensibilidad realizada mostró un límite de detección para este ensayo de PCR de 5 pg de ADN de tripanosoma, equivalente a 50 parásitos. La prueba de especificidad mostró resultados negativos en el caso de ADN de Babesia bigemina, Babesia bovis, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma evansi* y *Leishmania* spp. Finalmente se comparó la sensibilidad del PCR con las técnicas de frotis y de microhematocrito observándose una sensibilidad del 90% para PCR, 60% Microhematocrito y 20% Frotis. Estos resultados indican que este PCR permite diagnosticar con un alto grado de sensibilidad infecciones con *T. vivax*.

BOLETÍN DE MALARIOLOGÍA Y SALUD AMBIENTAL GUÍA PARA LOS AUTORES

Presentación y redacción

Las contribuciones deben ser inéditas, escritas en español, inglés o portugués.

Cada trabajo se acompañará de una declaración firmada por el autor de correspondencia, en la que se especifique que no ha sido publicado previamente, que no se presentará en otra revista antes de conocer la decisión de publicación del Boletín y que el manuscrito ha sido leído y aprobado por todos los autores. Se deberá usar caracteres de estilo Times New Roman o Arial que midan 12 puntos. Todos los márgenes serán de una pulgada (2,4 cm).

La primera página debe incluir el título del trabajo, breve y específico, con máximo de 15 palabras, a continuación los nombres y los apellidos completos de todos los autores, nombre de la institución a la cual pertenecen y la dirección postal. Indicar el autor de correspondencia y su dirección electrónica.

Todos los artículos tendrán título y resumen en español e inglés. Es necesario también un título corto para su inclusión en el encabezado de las páginas pares. Los resúmenes, con un máximo de 15–20 líneas, son contentivos de los aspectos más relevantes y principales conclusiones del trabajo. No deben utilizarse en los resúmenes abreviaturas, referencias o notas a pie de página. Al pie del resumen se incluirá una lista de 3 hasta 5 palabras claves, en español e inglés, que reflejen el contenido del documento. Se utilizarán como palabras claves únicamente aquellas que son aceptadas por bases de datos internacionales, las cuales pueden ser consultadas en las siguientes direcciones:

Palabras claves (Español): <http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>

Key Words (Inglés): <http://www.nlm.nih.gov/mesh/>

En el texto de los artículos originales se deberá seguir el siguiente orden: Resumen en español, Introducción, Materiales y métodos, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Título y Resumen en inglés, Referencias y Anexos (Tablas y Figuras) en hojas aparte.

En las investigaciones en humanos, animales y el ambiente, deben ser tomados en consideración acuerdos internacionales sobre los aspectos éticos, por tanto debe ser expresamente citada en el trabajo la revisión y aprobación por un Comité de Bioética debidamente identificado.

Los artículos incluirán en los Agradecimientos, los apoyos recibidos de instituciones públicas o privadas para la realización del estudio, así como las relaciones personales o institucionales que han contribuido en la obtención y análisis de los resultados.

Para las referencias bibliográficas citadas en el texto se utilizará el nombre del autor y el año de la publicación entre paréntesis. Ejemplo:
(Scorza, 1988)

Si se trata de dos autores, ambos serán citados. Ejemplo:
(Scorza & Rojas, 1990)

Cuando son más de dos autores, se citará el nombre del primer autor, seguido por *et al.*, y el año correspondiente de la publicación. Ejemplo:
(Scorza *et al.*, 1988)

En el caso que los autores sean sujeto de la oración, solamente el año se escribirá entre paréntesis.

Ej. Scorza *et al.* (1999) demostraron que.....

La presentación de las referencias bibliográficas, se hará en orden alfabético y de acuerdo a las siguientes normas: Si se trata de revistas o publicaciones periódicas: apellido (s) del autor (es), inicial del nombre (s), (año), título del artículo, abreviatura de la revista (en cursiva), volumen (en negrita) y número de las páginas.

Ejemplo:

Scorza J.V. & Rojas E. (1990). La leishmaniasis tegumentaria venezolana: problemática contemporánea en el estado Trujillo. *Soluciones, Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **30**: 1-6.

Si el trabajo es publicado en un Suplemento debe citarse.

Cuando se trata de seis ó más autores, figurarán los apellidos e iniciales de los primeros 6 y se añadirá la expresión *et al.*

Ejemplo:

Bonfante G.R., Urdaneta I., Alvarado J., Anzola N.H., Torrealba J., Saldivia M.E. *et al.* (1995). Phlebotomine sand flies in five endemic leishmaniasis foci in Lara state, Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **35** (Supl. 1): 53-62.

Si se trata de libros: apellido (s) del autor (es), inicial (es) del nombre (s), (año), título del libro, ediciones, casa editora y lugar de publicación (ciudad, país). Ejemplo:

Mosqueda C. G. (1974). *Hipótesis estadística con aplicaciones*. 2ª edición. Ed. Sobre Visión CA, Caracas, Venezuela.

Si se trata del capítulo de un libro: apellido (s) del autor (es), inicial (es) del nombre (s), (año), título del capítulo. página (s). En: Título del libro (en cursiva), apellido (s) e inicial (es) del editor del libro, edición, casa editora, lugar de publicación (ciudad), país:

Bertelli A., Donati L. & March J. (1968). Proteases inflammatory reaction. pp. 66-75. En: *Inflammation Biochemistry and Drug Interaction*. Eds. Bertelli A. & Houck J.C. 2ª ed. Excerta Med., London, U.K.

Citas tales como “datos no publicados” y “comunicación personal” no deben ser incluidas en la lista de referencias, serán incluidas en el texto (en cursiva). En relación a Trabajos en prensa, sólo pueden ser colocados en la lista de referencias, artículos ya aceptados y se citará la revista.

Los autores deben ajustarse al contenido de los Códigos de Nomenclatura Internacional y al Sistema de Medidas Internacionales (SI). Este último se basa en el sistema métrico

decimal según el cual los símbolos de las unidades no toman la terminación del plural (5 km y no 5 kms) ni van seguidos de punto (10 mL y no 10 ML.).

Las tablas y figuras, deben estar referidas oportunamente en el texto y serán debidamente identificadas con el número en el orden correlativo, títulos, fuentes (cuando sea necesario) y leyendas.

Las figuras se presentarán utilizando símbolos claros que permitan identificar puntos que requieran ser resaltados o reducidos. Se identificarán con su número y en hojas apartes se presentarán las leyendas correspondientes.

Las fotografías o imágenes deben ser escaneadas o digitalizadas a una resolución no menor a 300 dpi y guardadas bajo el formato o extensión JPG; de no poder cumplir con estos requerimientos enviar original de la fotografía o imagen con su debida protección o sobrecubierta. En casos especiales se considerará la posibilidad de la publicación de las figuras, fotografías o imágenes en color.

En el caso de las microfotografías y dibujos, tratar de la misma manera que las fotografías e imágenes y señalar el aumento o escala correspondiente. En relación a Mapas y Planos, cada uno en una hoja aparte con su leyenda correspondiente en un formato de 11,3 x 18,4 cms. como máximo.

La extensión de los artículos no debe ser mayor de 20 páginas en papel tamaño carta (28 x 21,5 cm), escritas a doble espacio.

Envío de los artículos

Los trabajos deben ser enviados a los editores del Boletín preferiblemente por vía electrónica (bmsave@yahoo.com) o por correo aéreo o terrestre en sobre contentivo de la carta dirigida a los Editores y el artículo en un CD en lenguajes compatibles con Microsoft® Windows®, con original y una (1) copia.

Igualmente, para el envío de toda correspondencia relacionada o solicitando constancias, referencias, sugerencias, observaciones y otros deberán dirigirse a la atención al Editor, por correo especial a la dirección:

Boletín de Malariología y Salud Ambiental,
antiguo Edificio de Malariología, Av. Bermúdez Sur,
Maracay, Edo. Aragua -Venezuela.
Teléfonos: (58-0243) 2325633 / 2320833 / 2322645.
Fax: (58-0243) 2325633
E-mail: bmsave@yahoo.com

Sobre el arbitraje y la aceptación de los artículos

Los trabajos sometidos para publicación en el Boletín de Malariología y Salud Ambiental serán sometido a un proceso de revisión y arbitraje. El plazo para la respuesta a los autores dependerá de la complejidad del tema y de la disponibilidad de los especialistas en el área.

En una primera revisión el Comité Editorial seleccionará los artículos con base en los criterios generales y objetivos de la revista. Seguidamente el artículo es enviado a dos (2) especialistas en el área específica. Los Editores y el Comité Editorial estarán atentos a los posibles conflictos de interés que puedan inhabilitar los árbitros para evaluar un determinado manuscrito.

Estos examinarán la calidad científica del manuscrito independientemente y emitirán su opinión razonada, recomendando o no la aceptación del artículo para la publicación. El trabajo con las observaciones y sugerencias de los árbitros será devuelto al Autor de correspondencia quien deberá enviar la nueva versión con una explicación detallada sobre los cambios efectuados, acatando las recomendaciones o, de no aceptarlas, argumentando las razones del porqué no las aceptan.

Es competencia del Comité Editorial la decisión final acerca de la publicación del artículo, una vez que haya verificado el cumplimiento de las condiciones señaladas y analizado la respuesta de los autores.

Toda decisión se comunicará por escrito al Autor de correspondencia con la mayor rapidez posible.

Después del arbitraje, los manuscritos se someterán a un procesamiento editorial que puede incluir, en caso necesario, su condensación y la supresión o adición de cuadros, ilustraciones y anexos. La versión editada (prueba de imprenta) se remitirá al Autor principal para su revisión y aprobación y para que conteste cualquier pregunta adicional del editor.

El Boletín de Malariología y Salud Ambiental se reserva todos los derechos legales de los manuscritos aprobados para su publicación, así como el derecho de hacer los ajustes y cambios que aseguren la calidad de la publicación. Sin embargo, no se hace responsable de los conceptos u opiniones expresados en el trabajo. Los originales no se devolverán en ningún caso.

Los Editores, el Comité Editorial y los árbitros se declaran formalmente no autorizados para utilizar con fines privados o particulares, la información obtenida a través de la revisión de los manuscritos. Así mismo, se respetará el derecho a la confidencialidad de los revisores y editores.

Una vez publicado el trabajo, el autor de correspondencia recibirá vía e-mail la versión PDF.

BOLETÍN DE MALARIOLOGÍA Y SALUD AMBIENTAL INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Style and format

Contributions should be unpublished and written in Spanish, English or Portuguese.

Each work should be accompanied by a signed declaration by the corresponding author in which he specifies that the work has not been previously published and that it has not been presented to another publication prior to a decision about publishing in the Bulletin of Malariology and Environmental Health and that the manuscript has been read and approved by all the authors. Font should be Times New Roman or Arial, 12 points. All margins should be 2.4 cm (0.9 inch).

The first page should include the title of the work, brief and specific, with a maximum of 15 words, the complete names of all the authors, the name of the institution for each author and the postal address. The corresponding author and his electronic address should be indicated.

All articles will have a title and abstract in Spanish and English. A short title is necessary for the running title in the headers of the even pages. The abstracts, with a maximum length of 15—20 lines, summarize the most relevant aspects and the principal conclusions of the work. Abbreviations or footnotes should not be used in the abstract. At the end of the abstract, there should be a list of 3 to 5 key words, in Spanish and English, which reflect the content of the document. Use only key words that are accepted by international data bases, which can be consulted at the following site:

Key words (Spanish): <http://decs.bvs.br/E/homepage.htm>

Key words (English): <http://www.nlm.nih.gov/mesh/>

The text of articles should be in the following order: Abstract in Spanish, Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgement, Title and Summary in English, References and Annexes (Tables and Figures on separate pages).

In investigations of humans, animals and the environment, consideration should be given to international accords on ethical aspects, which should be expressly cited the work with review and approval by a properly identified Bioethics Committee.

Articles will include in the Acknowledgement the support received from public or private institutions for completion of the study as well as the people or institutions which have contributed in the obtaining and analysis of the results.

For bibliographic references cited in the text, place the name of the author and the year of publication in parentheses: (**Scorza, 1988**)

Two-author citations are cited as follows:
(**Scorza & Rojas, 1990**)

When there are more than two authors, cite the name of the first author, followed by *et al.* and the year of publication of the cited reference; e.g. (**Scorza et al., 1988**)

In the event the authors may be the subject of a sentence, only the year is placed in parentheses; e.g. **Scorza et al. (1999)** demonstrated that....

Bibliographical references will be listed in alphabetical order in the following manner:

If the work is a journal or periodical publication: name(s) of author(s), initial of the first name(s), (year), title of the article, abbreviated name of the journal in italics, volume in bold type, and the page numbering.

Example:

Scorza J.V. & Rojas E. (1990). La leishmaniasis tegumentaria venezolana: problemática contemporánea en el estado Trujillo. *Soluciones. Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **35**: 1-6.

If the work is a supplement and when there are 6 or more authors, list the names and initials of the first 6 and add *et al.*

Example:

Bonfante G. R., Urdaneta L., Alvarado J., Anzola N. H., Torrealba J., Saldiva M. E. *et al.* (1995) Phlebotomine sand flies in five endemic leishmaniasis foci in Lara state, Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **35** (Supl. 1): 53-62.

If the work is a book: list the name(s) of the author(s), initials of first name(s), (year), title of the book, edition, publishing house and place of publication (city and country).

Example:

Mosqueda C. G. (1974). *Hipótesis estadística con aplicaciones*. 2nd edición. Ed. Sobre Visión CA, Caracas, Venezuela.

If the work is a chapter in a book: list the name(s) of author(s), initial(s) of first name(s), (year), title of the chapter, and page(s). Give book title (in italics), name(s) and initial(s) of the editor(s) of the book, the edition, the publishing house, and place of publication (city and country).

Example:

Bertelli A., Donati L. & March J. (1968). Proteases inflammatory reaction. pp. 66-75. In: *Inflammation Biochemistry and Drug Interaction*. Eds. Bertelli A. & Houck J.C. 2nd ed. Excerta Med., London, U.K.

Citations such as “no date of publication” and “personal communication” should not be included in the list of references and should be shown in the text in italics. Regarding works in press, only articles already accepted and cited in the article may be placed in the list of references.

Authors should arrange the content to conform to the Code of International Nomenclature and International System of Measurement (SI). This is based on the metric system in which units do not have plural endings (5 km not 5 kms) nor are they followed by periods (10 mL not 10 mL.).

Tables and figures should be referred to appropriately in the text and will be properly identified in correlative order: titles, sources (when necessary) and legends.

Presented figures will use clear symbols that need to be highlighted or reduced. They will be identified with their number, corresponding legends will be put on separate pages.

Photographs or pictures should be digitized or scanned with a resolution of no less than 300 dpi and saved in JPG format; if these requirements cannot be met, the photographs or pictures should be sent with appropriate protective cover. In special cases, the possibility of publishing photographs or pictures in color will be considered.

Microphotographs and drawings will be treated in the same manner as photographs and pictures and enlargement or scale indicated. Maps and plans should be on a separate page with their corresponding legend with a maximum size of 11.3 x 18.4 cm (4.45 x 7.25 inch).

Papers should be no longer than 20 pages on paper 28 x 21.5 cm (8.5 x 11 inch) as a maximum size.

Article submission

Preferably papers should be sent to the editors of the Bulletin electronically (bmsave@yahoo.com) or by air or terrestrial mail in an envelope with a letter directed to the editors and with the article on a CD in language compatible with Microsoft® Windows® with the original and one (1) copy.

Likewise, all related correspondence or documentary proof, references, suggestions, remarks and other matters should be directed by mail to the editor at the following address:

**Boletín de Malariología y Salud Ambiental,
Antiguo Edificio de Malariología, Av. Bermúdez Sur,
Maracay, Ed. Aragua – Venezuela.
Telephone: (58-0243) 2325633 / 2322645.
Fax: (58-0243) 2325633
E-mail: bmsave@yahoo.com**

Review and acceptance of articles

Articles submitted for publication in the Bulletin of Malariology and Environmental Health will undergo a process of review and refereeing. The period for responding to authors will depend on the complexity of the paper and the availability of specialists in the field.

In the first review the Editorial Committee will select articles on the basis of the general criteria and objectives of the Bulletin. Next the article will be sent to two (2) specialists in the specified area. The editors and the Editorial Committee will be seek to avoid possible conflicts of interest that could disqualify referees from evaluating a particular manuscript.

These specialists will evaluate the scientific quality of the manuscript and will submit their reasoned opinions, recommending, or not recommending, acceptance of the article for publication. The work with the observations and suggestions of the referees will be returned to the corresponding author who will send a new version with a detailed explanation of the changes made, accepting the recommendations or not and presenting the reasons for not accepting them.

The Editorial Committee has the final decision concerning the publication of the article once they have verified compliance with indicated conditions and have analyzed the response of the authors.

All decisions will be sent by letter to the corresponding author as quickly as possible.

After the review, manuscripts will be subject to an editorial process which may include, in the event it is necessary, its condensation and the deletion or addition of charts, illustrations and annexes. The edited version (galley proof) will be sent to the principal author for his review and approval and his reply to any additional questions from the editor.

The Bulletin of Malariology and Environmental Health reserves the legal rights to the manuscripts approved for its publication as well as the right to make adjustments or changes which will insure the quality of the publication. However, it is not responsible for the ideas or opinions expressed in the work. The originals will not be returned under any circumstances.

The editors, the Editorial Committee and the referees formally state they are not authorized to use for private or personal ends information obtained through review of the manuscripts. In the same way they will respect the right of confidentiality of the reviewers and editors.

Once the work is published, the corresponding author will receive by e-mail a PDF version.

BOLETÍN DE MALARIOLOGÍA Y SALUD AMBIENTAL INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Apresentação e redação

As contribuições devem ser inéditas, escritas em espanhol, inglês ou português.

Cada trabalho deve ser acompanhado de duas declarações assinadas pelo autor indicado para correspondência, nas quais seja especificado que o trabalho não foi publicado previamente, e que o mesmo não será apresentado a outra revista antes que seja conhecida a decisão do Boletim e ainda que o manuscrito foi lido e aprovado por todos os autores.

Deve ser utilizada fonte estilo Times New Roman ou Arial tamanho 12. Todas as margens devem medir 2,4 cm.

A primeira página deve incluir (1) o título do trabalho, breve e específico, com o máximo de 15 palavras, (2) o nome completo de todos os autores, (3) nome da(s) instituição(ões) de origem, cidade, estado, país e (4) endereço para correspondência e e-mail do autor principal.

Todos os artigos devem conter título e resumo em espanhol e inglês. É necessário também um título resumido para inclusão no cabeçalho das páginas pares. Os resumos não devem ultrapassar 15-20 linhas, devendo conter os aspectos mais relevantes e as principais conclusões do trabalho. Não devem ser incluídos no resumo abreviaturas, referências ou notas de rodapé. Ao final devem ser incluídas 3 a 5 palavras-chave em espanhol e inglês. Usar obrigatoriamente termos do "Medical Subject Headings, do Index Medicus" (podem ser consultados na página eletrônica: www.decs.bvs.br para termos em português, espanhol e inglês ou a página eletrônica: www.nlm.nih.gov/mesh para termos somente em inglês).

O texto dos artigos originais deverão seguir a seguinte ordem: resumo em português, introdução, materiais e métodos, resultados, discussão, agradecimentos, título e resumo em inglês, referências e anexos (tabelas e figuras) em folhas a parte.

Nas investigações com seres humanos, animais e ambiente, devem ser considerados os acordos internacionais sobre os aspectos éticos, sendo expressamente citada a revisão e aprovação por um comitê de ética devidamente identificado.

Os artigos devem incluir nos agradecimentos os apoios recebidos de instituições públicas ou privadas para a realização do estudo, assim como as relações pessoais ou institucionais que tenham contribuído para a obtenção ou análise dos resultados.

Para as referências bibliográficas citadas no texto deve ser utilizado apenas o nome do autor e o ano da publicação entre parênteses. Exemplo: (Scorza, 1988).

No caso de dois autores, ambos serão citados.
Exemplo: (Scorza & Rojas, 1990).

Quando são mais de dois autores, será citado o nome do primeiro autor, seguido por *et al.*, e o ano correspondente a publicação. Exemplo: (Scorza *et al.*, 1988).

No caso em que os autores são sujeito da oração, apenas o ano virá entre parênteses. Exemplo: Scorza *et al.* (1999) demonstraram...

A apresentação das referências bibliográficas deve ser feitas em ordem alfabética e de acordo as seguintes normas: Se provenientes de revistas ou publicações periódicas: sobrenome do (s) autor (es), iniciais do (s) nome (s), (ano), título do artigo, abreviatura da revista (em itálico), volume da revista (em negrito) e número das páginas.

Exemplo:

Scorza J. V. & Rojas E. (1990). La leishmaniasis tegumentaria venezolana: problemática contemporánea en el estado Trujillo. *Soluciones. Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **30**: 1-6.

Se o trabalho citado é proveniente de suplemento deve-se especificar.

Quando se trata de 6 ou mais autores, especifica-se os sobrenomes e iniciais dos 6 primeiros e se utiliza a expressão *et al.*

Exemplo:

Bonfante G. R., Urdaneta I., Alvarado J., Anzola N. H., Torrealba J., Saldivia M. E. *et al.* (1995). Phlebotomine sand flies in five endemic leishmaniasis foci in Lara state, Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **35** (Supl. 1): 53-62.

Se a referência é proveniente de livros: sobrenome do (s) autor (es), iniciais do (s) nome (s), (ano), título do livro, número da edição, editora, lugar da publicação (cidade, país).

Exemplo:

Mosqueda C. G. (1974). *Hipótesis estadística con aplicaciones*. 2ª edición. Ed. Sobre Visión CA, Caracas, Venezuela.

Se a referência é proveniente de capítulo de livro: sobrenome do (s) autor (es), iniciais do (s) nome (s), (ano), título do capítulo. Páginas. Em: título do livro (em itálico), sobrenome do (s) autor (es), iniciais do (s) nome (s), número da edição, editora, lugar da publicação (cidade, país).

Exemplo:

Bertelli A., Donati L. & March J. (1968). Proteases inflammatory reaction. pp. 66-75. En: *Inflammation Biochemistry and Drug Interaction*. Eds. Bertelli A. & Houck J.C. 2ª ed. Excerta Med., London, U.K.

Citações de dados não publicados ou de comunicações pessoais não devem ser incluídas na lista de referências, devem ser incluídas e especificadas no texto (em itálico). Em relação a trabalhos não publicados no prelo esses só podem ser colocados na lista de referências se forem artigos já aceitos, citando a revista.

Os autores devem seguir ao conteúdo dos Códigos de Nomenclatura Internacional e ao Sistema de Medidas Internacionais (SI). Esse último se baseia no sistema métrico decimal, segundo o qual os símbolos das unidades não assumem a terminação no plural (5 km e não 5 kms) nem são seguidos por pontos (10 mL e não 10 mL.)

As tabelas e figuras devem estar referidas oportunamente no texto e serem devidamente identificadas com número, e em ordem, títulos, fontes (se necessário) e legendas.

As figuras devem ser apresentadas utilizando símbolos claros que permitam identificar pontos que necessitam ser destacados ou reduzidos. Devem ser identificadas com número e apresentadas em folhas a parte com as legendas correspondentes.

As fotografias ou imagens devem ser escaneadas ou digitalizadas em uma resolução igual ou superior a 300dpi e salvas no formato JPG; caso não seja possível cumprir esses requisitos pede-se enviar o original da fotografia ou imagem protegida ou envelope. Nos casos especiais será considerada a possibilidade da publicação das figuras, fotografias ou imagens em cores.

No caso de microfotografias e desenho, usar o mesmo procedimento recomendado para fotografias e imagens e indicar a ampliação ou escala correspondente. Em relação a mapas e planos, cada um deve ser colocado em uma folha à parte com a legenda correspondente com o formato máximo 11,3 x 18,4 cm.

A extensão dos artigos não deve ultrapassar 20 páginas em papel tamanho carta (28 x 21,5 cm), com espaço duplo.

Envio dos artigos

Os trabalhos devem ser enviados aos editores do Boletim preferencialmente por via eletrônica (bmsave@yahoo.com) ou por correio, acompanhado de carta dirigida aos editores e o artigo impresso (original e cópia) além do arquivo em CD (em linguagem compatível com Microsoft®, Windows®).

Do mesmo modo, o envio de toda correspondência relacionada ou solicitação de declarações, referências, sugestões, observações e outros devem ser direcionadas aos cuidados do editor, por correio ao endereço:

Boletín de Malariología y Salud Ambiental,
antiguo Edificio de Malariología, Av. Bermúdez Sur N° 93,
Maracay, Edo. Aragua -Venezuela.
Teléfonos: (58-0243) 2325633 / 2320833 / 2322645.
Fax: (58-0243) 2325633
E-mail: bmsave@yahoo.com

Sobre o julgamento e aceitação dos artigos

Os trabalhos submetidos para publicação no Boletim de Malariologia e Saúde Ambiental serão submetidos a um processo de revisão julgamento. O prazo para resposta aos autores dependerá da complexidade do tema e da disponibilidade dos especialistas na área.

Em uma primeira revisão o Comitê Editorial selecionará os artigos com base nos critérios gerais e objetivos da revista. E seguida o artigo é remetido a dois especialistas na área específica. Os editores e o Comitê Editorial estarão atentos aos possíveis conflitos de interesses que possam comprometer os pareceristas para a avaliação de determinado manuscrito.

Os pareceristas examinarão a qualidade científica do manuscrito independentemente e emitirão sua opinião justificada, recomendando ou não a aceitação do artigo para a publicação. O trabalho com as observações e sugestões dos pareceristas serão devolvidos ao autor indicado para correspondência, que deverá enviar a nova versão com o relato detalhado das alterações efetuadas, das recomendações acatadas e das recomendações não aceitas com respectiva argumentação.

Ao Comitê Editorial compete a decisão final acerca da publicação do artigo, uma vez que atendidas todas as condições indicadas e analisadas a resposta dos autores.

Toda decisão será comunicada por escrito ao autor da correspondência no menor prazo possível.

Após o julgamento, os manuscritos serão submetidos ao processo editorial que pode incluir, se necessário, a condensação e a supressão ou adição de quadros, ilustrações e anexos. A versão editada (prova de impressão) será remetida ao autor principal para sua revisão e aprovação, sendo necessária resposta a qualquer indagação adicional do editor.

Ao Boletim de Malariologia e Saúde Ambiental se reservam todos os direitos legais dos manuscritos aprovados para sua publicação, assim como o direito de fazer ajustes e modificações que assegurem a qualidade da publicação. Entretanto, não se responsabiliza por conceitos ou opiniões expressos no trabalho. Os originais não serão devolvidos em hipótese alguma.

Os editores, o Comitê Editorial e os pareceristas se declaram formalmente não autorizados a utilizar com fins privados ou particulares, a informação obtida através da revisão dos manuscritos. Além disso, serão respeitados os direitos a confidencialidade dos revisores e editores.

Uma vez publicado o trabalho o autor da correspondência receberá via e-mail a versão em PDF.

Traducido por:

Mcs. Benny L. Suárez H.¹

Mcs. Cristiane de Olivera Novaes.²

¹ Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon". Ministerio del Poder Popular para la Salud. Maracay, Venezuela.

² Instituto Nacional de Câncer. (INCA) Rio de Janeiro, Brasil.

BOLETÍN DE MALARIOLOGÍA Y SALUD AMBIENTAL

(ISSN-1690-4648)

(antes: Boletín de Malariología y Saneamiento Ambiental)

El Boletín de Malariología y Salud Ambiental es una revista científica que publica artículos sobre diferentes aspectos de la Medicina Tropical (incluyendo patología, estudios clínicos, experimentales y terapéuticos, estudios sociales, epidemiología y control), Parasitología (protozoología, helmintología, entomología, malacología, bioquímica, inmunología, biología molecular, genética), Ingeniería Sanitaria y Salud Ambiental.

Es objetivo de la revista publicar nuevos conocimientos y metodologías para el entendimiento de la dinámica de la transmisión de enfermedades infecciosas virales y parasitarias y sus vectores, dentro de su contexto eco- y socio-epidemiológico, en apoyo y para el diseño y manejo oportuno de los programas de prevención y control y la salud ambiental.

El Boletín de Malariología y Salud Ambiental es una publicación periódica semestral con un (1) volumen y dos(2) números (Julio y Diciembre) por año, distribuida nacional e internacionalmente en formato impreso y en formato electrónico a través de la siguiente dirección de Internet: <http://www.iaesp.edu.ve>

El Boletín está estructurado en nueve Secciones

- I.- Artículos Originales.** Aportes inéditos en las áreas antes mencionadas de Medicina Tropical, Parasitología, Ingeniería Sanitaria, Salud Ambiental.
 - II.- Revisiones** sobre los temas de competencia del Boletín.
 - III.- Notas Científicas y/o Tecnológicas.** Comunicaciones cortas sobre hallazgos y/o resultados preliminares, nuevas técnicas y metodologías.
 - IV.- Reportes Epidemiológicos.** Actualización de los datos epidemiológicos sobre distribución geográfica y demográfica, prevalencia e incidencia.
 - V.- Revista de revistas.** Resúmenes de artículos publicados en otras revistas o de Trabajos Especiales de Grado.
 - VI.- Forum.** Discusión acerca de controversias sobre análisis de situaciones, programas, proyectos o intervenciones de salud.
 - VII.- El Hombre y la Ciencia.** Biografía de Científicos que se han destacado a nivel nacional y/o internacional en el área de la Salud y del Saneamiento Ambiental.
 - VIII.- Cartas al Editor.** Comunicaciones dirigidas a la redacción relacionadas con tópicos de interés para difusión en el Boletín de Malariología.
 - IX.- Noticias.** Información sobre reuniones científicas nacionales e internacionales, Congresos, Simposios, Talleres y otros eventos relevantes.
-



Servicio Autónomo
Instituto de Altos Estudios
"Dr. Arnoldo Gabaldon"



Gobierno **Bolivariano**
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular
para la **Salud**

