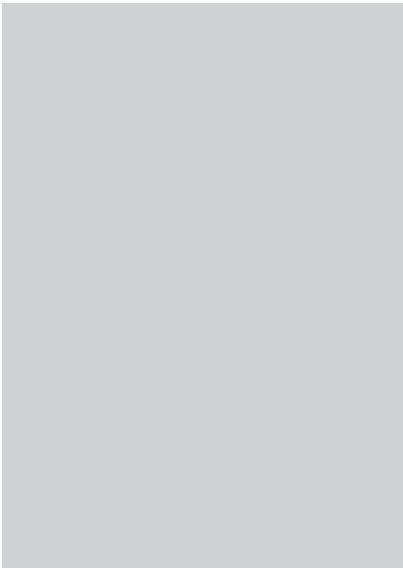




Boletín

de Malariología
y Salud Ambiental

Ministerio de Salud



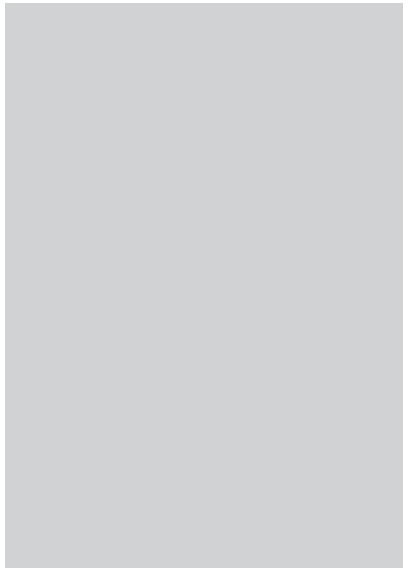
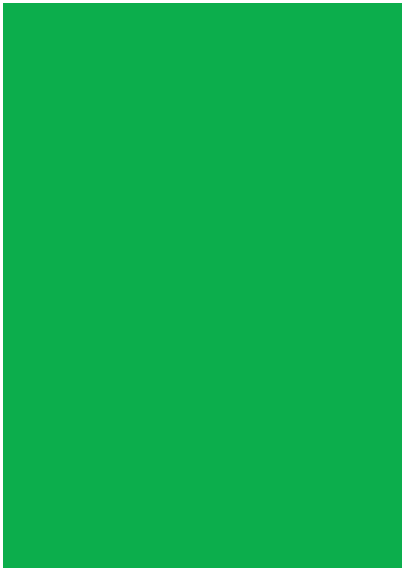
Ciencias

Físicas

Biológicas

Sociales

Vol. XLVI, N° 1, 2006



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



Maracay - Aragua - Venezuela

BOLETÍN DE MALARIOLOGÍA Y SALUD AMBIENTAL

Vol. XLVI, N° 1, ENERO-JULIO, 2006

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

(antes Boletín de Malariología y Saneamiento Ambiental)

MINISTERIO DE SALUD

FRANCISCO ARMADA
MINISTRO

VICEMINISTERIO DE SALUD

JOSÉ MENDOZA
VICEMINISTRO

**DIRECCIÓN GENERAL
DE SALUD AMBIENTAL
Y CONTRALORÍA SANITARIA**

RAMÓN PERDOMO
DIRECTOR

**INSTITUTO DE ALTOS ESTUDIOS
EN SALUD PÚBLICA
“DR. ARNOLDO GABALDON”**

FERNANDO COLMENARES BOTTARO
DIRECTOR

Editores

José Vicente Scorza
M. Dora Feliciangeli

**Directora (E) de
Gestión de Información**
Wuilman Gómez

Secretaría Técnica
Wuilman Gómez

Diseño y Diagramación
Oswaldo Flores S.

Comité Editorial
Francisco Armada
Rafael Cásares
Rafael Borges
Oscar Feo
Oscar Noya
Omar Verde

Comité Honorario

José R. Coura
Philippe Desjeux
Oswaldo Forattini
Felipe Guhl
Santiago Mas Coma
Carlos Ponce
Christopher Schofield
Rodrigo Zeledón

Comité Asesor

Roberto Briceño León
Milady Guevara de Sequeda
Marcelo Mazzarri
Marcos Rondón
Yasmín Rubio-Palis
Rolando Sifontes Ferrer

Para suscripciones: **publpeiaesp@yahoo.com**
Apartado de Correos N° 2171. Maracay 2101. Estado Aragua, Venezuela.

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

Publicada por el Instituto de Altos Estudios en Salud Pública “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.iaesp.edu.ve

Boletín de Malariología y Salud Ambiental

Vol. XLVI, N° 1

Maracay, Aragua, Venezuela

Enero-Julio, 2006

CONTENIDO

REVISIÓN

Teniasis/Cisticercosis: Avances en diagnóstico inmunológico y molecular
Taeniasis/cysticercosis: Advances in immunological and molecular diagnosis.

Elizabeth Ferrer..... 1

ARTÍCULOS ORIGINALES

The finding of *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 (Reduviidae: Triatominae) in palm trees (*Attalea butyracea*) in north Costa Rica

Hallazgo de Rhodnius pallescens Barber, 1932 (Reduviidae: Triatominae) en palmeras (Attalea butyracea) en el norte de Costa Rica

Rodrigo Zeledón, Juan A. Morales, Myriam Scally, Jorge Torres, Sergio Alfaro, Heriberto Gutiérrez & José A. Vargas.....15

Estructura y dinámica poblacional de *Triatoma sordida* Stål 1859 en una comunidad de *Butia yatay* en Argentina

Population structure of Triatoma sordida Stål 1859 collected in a community of Butia yatay in Argentina

María Esther Bar.....21

Concentraciones letales (CL_{50} y CL_{95}) y dosis diagnosticas de fenitrotion y lambdacialotrina para *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) de los Pajones, estado Trujillo, Venezuela

Lethal concentrations (CL_{50} y CL_{95}) and diagnostic doses of phenitrothion and lambdacyhalothrin on Lutzomyia evansi from Los Pajones, Trujillo State, Venezuela

Leslie Álvarez, Yulimar Duran, Adalberto González, Jorge Suárez & Milagros Oviedo...31

Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado Aragua

Mechanisms of resistance to organosynthetic insecticides in a population of Anopheles aquasalis Curry (Diptera: Culicidae) from Aragua State

Luisa Elena Figueroa Acosta, María Marín Álvarez, Enrique Pérez Pinto & Darjaniva Molina de Fernández.....39

Concordancia del diagnóstico malárico en Venezuela, año 2003 <i>Concordance of the diagnosis of malaria in Venezuela in 2003</i> José Luis Cáceres G., Elena Vaccari, Evangelina Campos, Evencia Terán, Ana Ramírez, Carmen Ayala & María Itriago	49
Síntesis de un complejo antimonial pentavalente (Ulamina) y su aplicación experimental para el tratamiento de leishmaniasis cutánea localizada en Venezuela <i>Synthesis of a pentavalent antimonial complex (Ulamina) and its experimental application for treatment of localized cutaneous leishmaniasis in Venezuela</i> José Vicente Scorza Dagert, Carmen Morales, Yaneira Petit de Peña, Laura Vásquez, Elina Rojas & José Vicente Scorza B.	59
Valuación de corrosión e incrustaciones en instalaciones hidráulicas de una planta de potabilización en el estado Bolívar, Venezuela <i>Evaluation of corrosion and incrustations in the hydraulic installations of a water treatment plant in Bolívar State, Venezuela</i> Víctor Mora Arellano & Jorge Luis Cedeño	67
Determinación de emisiones de solventes volátiles en un laboratorio docente y de investigación de ingeniería química, Valencia, Venezuela <i>Determination of volatile solvents in a teaching and research laboratory of chemical engineering, Valencia, Venezuela</i> Viky Mujica & Cathy Pérez	79
NOTA CIENTÍFICA	
Detección de infecciones subclínicas por <i>Trypanosoma vivax</i> en bovinos de fincas ganaderas de Mérida, Venezuela <i>Detection of Trypanosoma vivax subclinic infections in cattle from Merida, Venezuela</i> Ana Maria Bolívar, Pablo García-Lugo, Gladys Crisante, Agustina Rojas, Marta MGTeixeira & Nestor Añez	87
REVISTA DE REVISTAS	91

REVISIÓN

Teniasis/Cisticercosis: Avances en diagnóstico inmunológico y molecular

Elizabeth Ferrer*

La teniasis es la infección parasitaria producida por el adulto de *Taenia solium* y *T. saginata*, mientras que la cisticercosis es causada por el estadio larvario (cisticerco) de estos ténidos en hospedadores intermediarios; el hombre puede de forma accidental adquirir la cisticercosis. El binomio teniasis/cisticercosis causa graves problemas de salud pública y económicos en las zonas endémicas de África, Asia, y Latinoamérica, además de otras áreas como consecuencia de los viajes y las migraciones. La neurocisticercosis es la enfermedad parasitaria más importante del sistema nervioso central. El diagnóstico de la teniasis se logra generalmente mediante exámenes coprológicos, mientras que el diagnóstico de la cisticercosis se lleva a cabo por métodos parasitológicos, por técnicas de imágenes y una amplia variedad de ensayos inmunológicos. Los métodos de diagnóstico inmunológico convencional presentan graves limitaciones, baja sensibilidad y especificidad, no estandarizados convenientemente y basados en la utilización como antígeno del siempre escaso material parasitario. Actualmente se están utilizando nuevas herramientas y técnicas que permiten un mejor diagnóstico de estas enfermedades, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, antígenos recombinantes, péptidos sintéticos, PCR, cuya manipulación es de fácil estandarización e independientes de las fuentes del siempre preciado material parasitario.

Palabras claves: teniasis, cisticercosis, diagnóstico, antígeno recombinante, péptido sintético, PCR.

INTRODUCCIÓN

El binomio teniasis/cisticercosis es producido por parásitos del género *Taenia*. Así, la teniasis es causada por la fase adulta de *Taenia saginata* o *Taenia solium*, mientras que la cisticercosis es consecuencia de la infección por el estado larvario del parásito (cisticerco o metacestode). La teniasis solo afecta al humano ya que éste es el único hospedador definitivo del parásito, mientras que la cisticercosis ocurre en hospedadores intermediarios. El cisticerco de *T. saginata* (*Cisticercus bovis*) provoca la cisticercosis bovina y el cisticerco de *T. solium* (*Cisticercus cellulosae*) causa la cisticercosis porcina y humana, ya que el hombre también puede accidentalmente

convertirse en hospedador intermediario de *T. solium*. (White, 1997).

Estudios recientes revelan la presencia de otro ténido que afecta a humanos (Fan, 1988), el cual tiene como hospedadores intermediarios al cerdo y otros animales silvestres (Hoberg, 2002). Este ténido ha sido clasificado como una subespecie de *T. saginata* (*T. saginata asiatica*) por algunos autores (Fan *et al.*, 1995; Loos-Frank, 2000) y como otra especie (*T. asiatica*) por otros (de Queiroz & Alkire, 1998; Hoberg, 2002), por lo que su clasificación taxonómica todavía es incierta. Aún no se ha confirmado si este ténido produce cisticercosis en el humano, algunos investigadores han sugerido esta posibilidad (Galán-Puchades & Fuentes, 2000).

En el ciclo biológico se distinguen tres estadios: el adulto, el cisticerco y el huevo. Los huevos son eliminados en las heces del portador del adulto, contaminando aguas, suelos o alimentos, y son ingeridos por cerdos o vacas. En el sistema digestivo de estos animales se libera y activa la oncosfera, la cual penetra la pared intestinal, alcanza la circulación

Departamento de Parasitología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo Sede Aragua. Final de Avenida Leonardo Ruiz Pineda, La Morita II, Maracay, Edo. Aragua. Venezuela

Centro de Investigaciones Biomédicas (BIOMED) Universidad de Carabobo Sede Aragua. Final de Calle Cecilio Acosta, Urbanización Cantarrana, Las Delicias, Maracay, Edo. Aragua. Venezuela.

*Autor de correspondencia: elizabeth.ferrer@gmail.com

general y es transportada a diferentes tejidos y órganos, donde evoluciona a cisticerco. Cuando el hombre ingiere la carne de cerdo o vaca, contaminada con cisticercos viables, se desarrolla la teniasis. El hombre también puede de forma accidental adquirir la cisticercosis al ingerir los huevos de *T. solium* a través alimentos y aguas contaminadas. Estos huevos se desarrollan hasta la fase larvaria (cisticerco o metacestode) en diferentes tejidos, como músculo esquelético, tejido subcutáneo, ojo y sistema nervioso central (SNC), causando en este último caso la neurocisticercosis (NCC) (Del Brutto *et al.*, 1996).

La teniasis es generalmente asintomática, aunque los individuos pueden desarrollar algunos síntomas tales como dolor abdominal, debilidad, pérdida de peso, etc. La gravedad de la cisticercosis en el hombre depende de la localización y número de cisticercos. En músculo esquelético y tejido subcutáneo generalmente no se producen patologías importantes. La localización del cisticerco en ojo causa daño en la visión y puede conducir a la ceguera. La NCC produce una serie de manifestaciones clínicas como convulsiones, mareos, cefaleas, desórdenes mentales, hidrocefalia, hipertensión intracraneal, crisis epilépticas, etc, pudiendo ocasionar en algunos casos la muerte. La enfermedad se ha clasificado según la viabilidad de los cisticercos como activa (cisticercos viables) e inactiva (cisticercos calcificados) (Del Brutto *et al.*, 1996).

AVANCES EN DIAGNÓSTICO

DIAGNÓSTICO DE TENIASIS

Es importante tener en cuenta, que junto a la teniasis por *T. solium* el paciente puede padecer cisticercosis, consideración de relevancia a la hora del diagnóstico y seguimiento del individuo, así como de sus contactos. Además, hay que destacar que los enfermos con teniasis son el origen de la cisticercosis vacuna por una parte y de la porcina y humana por otra (Topley & Wilson, 1999).

Diagnóstico parasitológico

El diagnóstico Parasitológico se basa en el hallazgo y diferenciación de proglótides grávidas, el cual se puede hacer mediante tamizaje de heces, o por encuentro casual en las heces del paciente. Proglótides

con menos de 15 ramas uterinas corresponden a *T. solium*, mientras que las de *T. saginata* presentan más de 15. Hay que tener en cuenta que muchas veces las proglótides están en mal estado por lo que la identificación específica es muy difícil (Mayta *et al.*, 2000). Por otra parte, la observación microscópica de huevos, mediante examen directo o método de Graham, sólo puede indicar teniasis, pero no sirve para determinar si la enfermedad está producida por *T. solium* o *T. saginata*, dado que morfológicamente los huevos son indistinguibles. Estos métodos Parasitológicos se caracterizan por exhibir baja sensibilidad (Allan *et al.*, 2003).

Diagnóstico inmunológico

El diagnóstico inmunológico se basa en la detección de antígenos del parásito o anticuerpos contra el parásito en el hospedador. En cuanto al primer caso, se han desarrollado técnicas de detección de coproantígenos utilizando para su captura anticuerpos policlonales de conejos inmunizados con extractos crudos del verme adulto. Esta técnica presenta 100% de sensibilidad y 94% de especificidad ya que permite detectar a los portadores de *Taenia* sp, pero no consigue distinguir entre *T. solium* y *T. saginata*. Cuando la determinación se realiza en tira reactiva (“dipsticks”), la sensibilidad disminuye al 85%, aunque con esta variante se puede analizar un mayor número de muestras y no se necesita de equipo costoso (Allan *et al.*, 1990, 1993). Este ensayo ha sido empleado en trabajos epidemiológicos y demostró ser una técnica muy sensible en la determinación de la prevalencia de teniasis (Allan *et al.*, 1996), además de su gran utilidad en la evaluación de la eficacia de tratamiento en masa de poblaciones de las áreas endémicas (Allan *et al.*, 1997). Otros grupos han desarrollado métodos de detección de coproantígenos similares donde los sueros policlonales de conejos están dirigidos contra antígenos de excreción/secreción o antígenos de superficie de *T. saginata* (Deplazes *et al.*, 1991; Machnicka *et al.*, 1996), pero presentan el mismo inconveniente que la técnica descrita por Allan *et al.*, (1990), de no permitir un diagnóstico especie-específico. También existen variantes diagnósticas que utilizan anticuerpos monoclonales para la identificación de huevos de *T. solium*, que empleados con la técnica de EITB (“Enzyme-Linked Immunelectrotransfer Blot Assay” o “Western blot”), rinden 100% de sensibilidad y especificidad (Montenegro *et al.*, 1996).

Por otro lado se han desarrollado diversas técnicas para la detección de anticuerpos en sueros de individuos con teniasis, la mayoría con pobre sensibilidad y especificidad. Sin embargo, en 1999, se estandarizó un ensayo de detección de anticuerpos mediante “EITB”, utilizando un antígeno de excreción/secreción de *T. solium*, con el que lograron obtener 95% de sensibilidad y 100% de especificidad en la identificación de portadores del ténido. Dicho ensayo logró detectar teniasis en Guatemala, Perú e Indonesia. (Wilkins *et al.*, 1999). Ultimamente, se han identificado por proteómica 2 antígenos de el adulto de *T. solium*, TSES33 y TSES38, que fueron reconocidos por sueros de teniasicos y no por aquellos de pacientes con cisticercosis, demostrando que son estadio-específicos (Levine *et al.*, 2004). A pesar de estos avances hay que tener en cuenta que la detección de anticuerpos en teniasis tiene como desventaja que después del tratamiento los anticuerpos permanecen y podrían rendir falsos positivos (Allan *et al.*, 2003).

Diagnóstico molecular

Para el diagnóstico diferencial de *T. solium* y *T. saginata* se han utilizado técnicas de biología molecular, tales como sondas de ADN y PCR (“Polymerase Chain Reaction” o reacción en cadena de la polimerasa). En 1990, Harrison *et al.*, clonaron 2 sondas de ADN, HDP1 y HDP2, en una genoteca genómica de *T. saginata*, que permitieron la identificación diferencial por hibridación de los dos grandes ténidos del hombre. Igualmente, en 1995, Chapman *et al.*, clonaron de genotecas genómicas de *T. solium* y *T. saginata* dos sondas, pTsol-9 y pTsag-16, específicas de *T. solium* y *T. saginata* respectivamente y que logran distinguir los dos ténidos. La primera PCR en *Taenia* fue desarrollada por Gottstein *et al.* (1991) y lograba la identificación de *T. saginata*. Posteriormente otros grupos desarrollan PCRs que diferencian *T. saginata* de *T. saginata asiatica* (Zarlenga *et al.*, 1991; Bowles & McManus, 1994). A partir de la secuencia de la sonda HDP2 (Harrison *et al.*, 1990), se ha diseñado una “multiplex PCR” que posibilita un diagnóstico diferencial de *T. solium* y *T. saginata*. (González *et al.*, 2000, 2002a; Montero *et al.*, 2003a). Esta PCR ha sido utilizada para la identificación de aislados de los ténidos procedentes de distintas zonas geográficas (González *et al.*, 2002b). Paralelamente, Mayta *et al.*, (2000) realizaron la detección diferencial de *T. solium* y *T. saginata* mediante una PCR-RFLP

(“PCR-restriction fragment length polymorphism”, polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), basada en la amplificación del gen 5.8S ribosomal además de los espaciadores intergénicos ITS1 e ITS2 y posterior digestión con enzimas de restricción. Recientemente se ha desarrollado una PCR-RFLP que amplifica la secuencia 12S ribosomal del ADN mitocondrial, seguido por digestión con la enzima DdeI, que permite diferenciar *T. solium* de *T. saginata* (Rodríguez-Hidalgo *et al.*, 2002). También se han realizado estudios filogenéticos utilizando distintas técnicas, que además de identificar los ténidos han demostrado, en base a análisis de los genes mitocondriales, que *T. solium* forma dos grupos filogenéticos o genotipos, uno constituido por los aislados americanos y africanos y otro por los asiáticos (Gasser *et al.*, 1999; Hancock *et al.*, 2001; Nakao *et al.*, 2002; Yamasaki *et al.*, 2002; Ito *et al.*, 2003). Utilizando la PCR basada en la amplificación de la secuencia HDP2 en Brasil se logró la diferenciación de *T. solium* y *T. saginata* (Nunes *et al.*, 2003). Posteriormente, se han desarrollado “multiplex” PCRs que permiten diferenciar *T. saginata* de *T. saginata asiática* (González *et al.*, 2004) y *T. saginata*, *T. saginata asiática* y los 2 genotipos de *T. solium* (Yamasaki *et al.*, 2004). Recientemente, Nunes *et al.* (2005) han desarrollado una PCR-RFLP que amplifica la secuencia HDP2, seguido por digestión con la enzima DraI, que permite diferenciar *T. solium* de *T. saginata*.

Todos estos trabajos demuestran que las técnicas de biología molecular, en especial la PCR son un gran avance en el diagnóstico especie-específico de teniasis.

DIAGNÓSTICO DE CISTICERCOSIS

El diagnóstico de cisticercosis se lleva a cabo por métodos parasitológico, por técnicas de imágenes y una amplia variedad de ensayos inmunológicos.

Diagnóstico parasitológico

El diagnóstico parasitológico requiere la demostración del parásito, y en este caso se realiza generalmente en autopsias (post-mortem) y pocas veces en biopsias del paciente (Restrepo *et al.*, 2001; Schantz *et al.*, 1992). En formas extracerebrales, los

cisticercos pueden localizarse en el globo ocular donde son visualizados mediante examen oftalmológico, en los músculos esqueléticos o tejido subcutáneo, en los que se les puede identificar por palpación y biopsia, aunque éstos deben diferenciarse de nódulos producidos en otras enfermedades.

Diagnóstico por imágenes

Las técnicas de neuroimágenes, tales como Tomografía Axial Computarizada (TAC) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN), son útiles para el diagnóstico, porque proveen evidencia objetiva del número y topografía de las lesiones, su estado de evolución y el grado de reacción inflamatoria del hospedador contra el parásito (García & Del Brutto, 2003), pero la infección puede pasar desapercibida cuando el número de cisticercos es bajo o las imágenes no son concluyentes. Es imprescindible un diagnóstico diferencial con otras enfermedades infecciosas y con neoplasias del SNC. Por otro lado, estas técnicas aunque son de amplio uso en las zonas urbanas, son muy costosas y de difícil acceso en la mayoría de las áreas donde la cisticercosis es endémica (Del Brutto *et al.*, 1996).

Diagnóstico inmunológico

Las técnicas de inmunodiagnóstico incluyen la detección de antígenos circulantes del parásito y de anticuerpos anti-cisticerco tanto en suero como en líquido céfalo-raquídeo (LCR) y resultan de gran utilidad para la identificación de cisticercosis (Del Brutto *et al.*, 1996).

Se han desarrollado varios ensayos para la detección de antígenos circulantes tanto en suero como en LCR pero los mejores son los basados en el uso de anticuerpos monoclonales. En 1989, Harrison *et al.*, diseñaron un sistema de inmunodiagnóstico por captura de antígeno utilizando un anticuerpo monoclonal (HP10), que reconoce un epítipo glucídico repetido, presente en proteínas secretadas por los cisticercos de *T. saginata* y otros ténidos. La prueba ha sido utilizada tanto en suero como en LCR con buenos resultados (Correa *et al.*, 1989; García *et al.*, 1998, 2002; Ferrer *et al.*, 2002, 2003a). Se ha encontrado una sensibilidad del 85%, sin embargo este parámetro desciende al 65% en pacientes con un solo quiste (García *et al.*, 2000). En 1992, Wang

et al., produjeron un anticuerpo monoclonal contra antígenos de cisticerco de *T. solium* que también lo utilizaron en un sistema de captura para la detección de antígeno circulante en LCR de pacientes con NCC. En el mismo año Brandt *et al.*, desarrollan un método de captura de antígenos con dos anticuerpos monoclonales 12G5 y 2H8, este ensayo mostró buena correlación con TAC y biopsias (Erhart *et al.*, 2002), permitiendo hacer el diagnóstico de cisticercosis activa y la evaluación del tratamiento (Nguekam *et al.*, 2003). Además se han estandarizado sistemas de captura de antígenos basados en el uso de anticuerpos policlonales de conejo, rindiendo buena sensibilidad y especificidad (Pardini *et al.*, 2001, Wagner, 2001). En cuanto a la detección de anticuerpos contra el parásito se han desarrollado varios ensayos en suero, saliva y LCR, empleando diferentes técnicas. Es importante tener en cuenta que la detección de anticuerpos indica exposición a la infección y no necesariamente una infección activa, ya que los anticuerpos pueden persistir por mucho tiempo después que el parásito ha sido eliminado, bien por el sistema inmune o por tratamiento (Harrison *et al.*, 1989; García *et al.*, 2001). En zonas endémicas, más del 10% de la población puede tener anticuerpos anti-*T. solium* y no reflejar la verdadera prevalencia de la cisticercosis (Bern *et al.*, 1999; García *et al.*, 2001). Durante años, la mayoría de los ensayos para la detección de anticuerpos han utilizado como antígeno extractos crudos o fluido vesicular del parásito (Diwan *et al.*, 1982; Larralde *et al.*, 1986), pero estas pruebas carecen de la adecuada sensibilidad y especificidad debido a la gran reactividad cruzada con otras parasitosis, tales como hidatidosis, esquistosomiasis, himenolepiasis, y otras helmintiasis (Gottstein *et al.*, 1987; Pammenter *et al.*, 1992).

Debido a la dificultad en la obtención de material parasitario específico se ha recurrido al empleo de antígenos heterólogos. Así, se ha utilizado en el diagnóstico de cisticercosis humana, antígenos de *T. saginata* (Harrison & Parkhouse, 1989), *T. crassiceps* (Larralde *et al.*, 1990; Vaz *et al.*, 1997; Pardini *et al.*, 2002; Espíndola *et al.*, 2002, 2005) y *T. hydatigena* (Hayunga *et al.*, 1991), que pueden sustituir a los de *T. solium* en la detección serológica de cisticercosis.

En las últimas décadas se han realizado esfuerzos para caracterizar antígenos que puedan mejorar la especificidad de los ensayos y utilizar estos

antígenos purificados en el inmunodiagnóstico de la enfermedad.

Uno de los antígenos mejor caracterizados del cisticerco de *T. solium* es el antígeno B (AgB). AgB fue identificado como un arco de precipitación en inmunoelectroforesis al confrontar un extracto de cisticercos con sueros de pacientes con neurocisticercosis y fue el antígeno reconocido con mayor frecuencia por anticuerpos de los sueros de pacientes con la enfermedad (Flisser *et al.*, 1980, 1986). Estudios moleculares demostraron que AgB corresponde a paramiosina, una proteína de músculo del ténido (Laclette *et al.*, 1991 Landa *et al.*, 1993). Las glicoproteínas han sido señaladas como antígenos específicos en cisticercosis, al respecto Tsang *et al.* (1989) lograron purificar por cromatografía de afinidad con lectina de lenteja, siete glicoproteínas (GP13, GP14, GP18, GP21, GP24, GP39-42, GP50) de metacestodos de *T. solium*, que exhibían un 98% de sensibilidad y 100% de especificidad en el diagnóstico de cisticercosis, empleándolas en la técnica de EITB. Dicho ensayo fue reconocido por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) como el método inmunológico de elección para el inmunodiagnóstico de neurocisticercosis (Greene *et al.*, 2000).

La caracterización bioquímica completa de estas glicoproteínas no se ha realizado. Plancarte *et al.* (1999) estudiaron parcialmente dos de ellas, GP39-42 y GP24, por ser las más frecuentemente reconocidas y también una banda de 10 kDa (GP10), que se forma cuando estas glicoproteínas son reducidas.

Se han realizado varios estudios para evaluar las propiedades diagnósticas de estas glicoproteínas. Así, un trabajo reciente demuestra mayor sensibilidad del EITB que del ELISA con antígeno crudo (Proaño-Narvaez *et al.*, 2002), aunque se encontró que la sensibilidad del EITB es muy baja (28%) cuando se evaluaron casos de neurocisticercosis con un solo quiste en el cerebro (Wilson *et al.*, 1991). En otro estudio se compararon los ensayos de EITB comercial con "Western blot", utilizando glicoproteínas obtenidas por cromatografía de afinidad y fluido vesicular, y se encontraron resultados similares con los tres ensayos, por lo que se sugiere la utilización del fluido vesicular en "Western blot" como herramienta diagnóstica en países en vías de desarrollo, donde el ensayo de EITB comercial y la purificación de glicoproteínas resultan más costosos (Villota *et al.*, 2003).

Además, otro grupo ha desarrollado un método de purificación de glicoproteínas por iso-electroenfoque en un solo paso, extracto aplicable en ELISA y "Western blot" que presenta la misma sensibilidad y especificidad que el EITB clásico y que se ha utilizado con buenos resultados en el diagnóstico de cisticercosis (Ito *et al.*, 1998).

Los antígenos de excreción/secreción (E/S) de cisticercos de *T. solium* también han sido evaluados en el diagnóstico de la enfermedad, obteniendo buenos resultados. En este sentido, en un estudio en 1994, Ng & Ko compararon los antígenos E/S con extracto crudo, antígeno de membrana y fluido vesicular mediante ELISA y FAST-ELISA y, de los cuatro antígenos evaluados, el antígeno E/S fue el más sensible y específico. Posteriormente se ha descrito que antígenos de E/S de 14 y 18 kDa son reconocidos por sueros de pacientes con cisticercosis, y un anticuerpo monoclonal anti-E/S es capaz de detectar estos antígenos en LCR de pacientes con cisticercosis (Espíndola *et al.*, 2002). A su vez se debe destacar que los antígenos E/S han mostrado tener la capacidad de discriminar entre cisticercosis activa e inactiva (Molinari *et al.*, 2002).

Los antígenos de bajo peso molecular de cisticercos de *T. solium* (8-30 kDa) han sido muy estudiados debido a su alta especificidad. Nascimento *et al.* (1987) purificaron dichos antígenos de cisticercos de *T. solium* por cromatografía de afinidad, utilizando anticuerpos monoclonales contra proteínas de esta fase parasitaria, y emplearon estos productos purificados en el diseño de un sistema de inmunodiagnóstico de cisticercosis mediante ELISA. De igual manera, estudios de "Western blot" con extractos de metacestodos de *T. solium* revelaron el reconocimiento mayoritario de dos bandas de 8 y 26 kDa, cuando se utilizaban suero y LCR de pacientes con neurocisticercosis (Gottstein *et al.*, 1987). Ev *et al.* (1999) analizaron 3 antígenos de pesos moleculares de 13, 17 y 26 kDa, encontrando especificidades de 53%, 88% y 100%, respectivamente. Además, diversos trabajos demuestran la importancia de un antígeno de 10 kDa que ha sido identificado en el fluido quístico de las diferentes especies de *Taenia* y ha resultado útil en el diagnóstico de cisticercosis. La detección de este antígeno es bastante patente en los casos de cisticercosis activa (Hayunga *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 1998; Park *et al.*, 2000).

DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO-MOLECULAR

Antígenos recombinantes

Aunque se han realizado múltiples estudios sobre antígenos específicos para el diagnóstico de la enfermedad, la purificación de éstos requiere gran cantidad de material parasitario, además de equipos sofisticados y técnicas laboriosas, por lo que se ha recurrido a la tecnología del ADN recombinante para la clonación de las moléculas de interés diagnóstico. La utilización de los antígenos recombinantes, o péptidos derivados de sus secuencias, obtenidos a partir de genes de *T. solium* y otras tenias podría solventar las limitaciones actuales, del diagnóstico serológico de la enfermedad (Greene *et al.*, 2000).

Así, la clonación y expresión de la paramiosina, y fragmentos truncados de ésta, ha permitido estudiar el valor diagnóstico de la misma y hacia cual región de la proteína se dirige la respuesta inmune del hospedador. Varios estudios demuestran que los anticuerpos reaccionan principalmente con el extremo carboxilo-terminal de la molécula (Vazquez-Talavera *et al.*, 2001; Ferrer *et al.*, 2003b).

Chung *et al.*, en 1999 caracterizaron en una genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium*, un gen que expresa un antígeno de 10 kDa (CyDA). El antígeno recombinante mostró una sensibilidad del 97% y especificidad del 98% en el inmunodiagnóstico de la neurocisticercosis activa, mientras que en pacientes crónicos la sensibilidad descendió al 14%. Otros autores (Hubert *et al.*, 1999) aislaron dos clones, NC-3 y NC-9, de una genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium* mediante cribado con mezcla de sueros de pacientes con cisticercosis. NC-3 y NC9 codifican proteínas de 8 y 13 kDa respectivamente. Estas proteínas expresadas las utilizaron en ELISA para el diagnóstico de pacientes con cisticercosis, NC-3 presentó una sensibilidad de 96,3% y 91,5% de especificidad, mientras que NC-9 exhibió una sensibilidad de sólo 33,3%. Posteriormente, Greene *et al.* (2000) clonaron, en una genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium*, dos genes que expresan las glicoproteínas de 14 kDa (TS14) y 18 kDa (TS18), descritas anteriormente por Tsang *et al.* (1989). Al hacer la evaluación serológica de dichos antígenos, observaron que eran reconocidos por sueros de los pacientes con cisticercosis y no por los de los pacientes con parasitosis relacionadas. En otro trabajo, Sako *et al.* (2000) aislaron de una

genoteca de expresión de metacestodes de *T. solium*, mediante inmunocribado, cuatro genes muy similares entre sí, Ag1, Ag1V1, Ag2 y Ag2V1. Dichos genes, expresaban moléculas de bajo peso molecular, entre 7 y 10 kDa y tras su evaluación serológica encontraron que los antígenos más reactivos eran Ag1V1 y Ag2 y construyeron una quimera de estas 2 moléculas que fue utilizada en ensayos de ELISA, apreciando una sensibilidad del 89,7% y una especificidad del 100%. Recientemente, en otro trabajo, se ha clonado un gen de metacestodes de *T. solium*, F18, cuyo producto expresado ha mostrado gran utilidad en el diagnóstico de la enfermedad (Montero *et al.*, 2003b). En el 2004 se clonó el gen correspondiente a la glicoproteína de 50 kDa (descrita por Tsang en 1989) en el sistema Baculovirus. La proteína expresada mostró eficacia en el diagnóstico de cisticercosis (Hanckok *et al.*, 2004). Recientemente se ha clonado un gen de choque térmico de bajo peso molecular, cuyo antígeno recombinante expresado mostró 83,9% de sensibilidad en el diagnóstico de NCC activa y 71% en NCC inactiva, dicho antígeno exhibió una especificidad de 88,5% (Ferrer *et al.*, 2005a).

Péptidos sintéticos

La utilización de péptidos sintéticos derivados de antígenos previamente caracterizados evitaría la necesidad de purificación de los antígenos recombinantes y podría asegurar la reproducibilidad de los ensayos. Por ello, últimamente se han realizado diversos trabajos en este sentido. Gevorkian *et al.* (1996) describen la utilización de tres péptidos sintéticos, GK1, GK2 y GK3, derivados de la secuencia del clon KETc7, gen obtenido del cribado de una genoteca de expresión de metacestodes de *T. crassiceps* (Manoutcharian *et al.*, 1996); dichos péptidos fueron evaluados con sueros de pacientes con cisticercosis, y aunque la sensibilidad no fue muy alta, sí se apreció cierta respuesta humoral frente a los péptidos. Posteriormente se reportó la utilización de otros péptidos sintéticos (KETc1, KETc12, KETc410 y KETc413) diseñados a partir de las secuencias de ADNc de los clones KETc1, KETc4 y KETc12 aislados también en el cribado de la genoteca mencionada anteriormente (Manoutcharian *et al.*, 1996) y se propuso un sistema de diagnóstico basado en la utilización combinada de los péptidos citados (Hernández *et al.*, 2000). En un estudio sobre glicoproteínas de metacestodes de *T. solium* se prepararon péptidos sintéticos con la secuencia

aminoacídica completa de las glicoproteínas TS14 (sTS14) y TS18 (sTS18) y se evaluaron en el diagnóstico de cisticercosis, mediante FAST-ELISA, siendo sTS14 reconocido por el 53% de los sueros de pacientes con cisticercosis, mientras que la sensibilidad de sTS18 fue mucho menor; la especificidad de ambos péptidos fue del 100%. Paralelamente, los autores realizaron la mezcla de sTS14 y sTS18 pero no mejoraron los resultados obtenidos (Greene *et al.*, 2000). En otro trabajo con esta familia de moléculas, ahora llamada “antígenos de 8 kDa de metacestodes de *T. solium*” (debido al tamaño del esqueleto peptídico de las distintas glicoproteínas) se sintetizaron químicamente nueve péptidos distintos y se utilizaron en ELISA en el inmunodiagnóstico de la enfermedad. Uno de estos péptidos (TsRS1) ha mostrado 100% de sensibilidad y especificidad cuando fue sometido a una batería de sueros de pacientes con la enfermedad, enfermedades heterólogas e individuos sanos (Hancock *et al.*, 2003). En otro trabajo el mismo grupo de investigadores compararon los péptidos sintéticos TS14, TS18var1, TSRS1, y TSRS2var1 por ELISA y “Western blot” obteniendo mejor sensibilidad y especificidad de estos péptidos con el formato de “Western blot” (Scheel *et al.*, 2005). En otro estudio se evaluaron por ELISA cinco péptidos sintéticos derivados de moléculas protectoras de oncosferas de *T. saginata* (HP6-3, Ts45W-1, Ts45W-5, Ts45S-10, TEG-1) con LCR de individuos con cisticercosis obteniendo buena sensibilidad y especificidad (Fleury *et al.*, 2003). Posteriormente estos mismos péptidos fueron estudiados con sueros de individuos con cisticercosis de diferentes zonas geográficas de Venezuela obteniendo con la mayoría de ellos buena sensibilidad y especificidad, pero apreciándose un reconocimiento diferencial de algunos péptidos en las distintas zonas, por lo que se sugiere el uso de un cóctel de péptidos (Ferrer *et al.*, 2005b).

Por los diferentes trabajos descritos se puede inferir que el uso de antígenos recombinantes y péptidos sintéticos en el inmunodiagnóstico de cisticercosis podría mejorar la especificidad de los ensayos.

CONCLUSIONES

El binomio teniasis/cisticercosis continúa siendo un problema de salud pública. Las mejoras en el diagnóstico han contribuido a conocer mejor

la magnitud del problema. La utilización de técnicas de PCR en el diagnóstico de teniasis ha mejorado la detección especie-específica de los portadores de *Taenia* sp. El inmunodiagnóstico de cisticercosis basado en antígenos recombinantes y péptidos sintéticos ha mostrado resultados prometedores, mejorando la especificidad de las técnicas, sin embargo, hacen falta mas estudios para la completa evaluación de estas nuevas herramientas y su aplicación en el diagnóstico de la enfermedad.

Taeniasis/cysticercosis: Advances in immunological and molecular diagnosis.

SUMMARY

Taeniasis is a parasitic infection caused by the adult of *Taenia solium* and *T. saginata*, while cysticercosis is caused by the larval stage (*Cysticercus*) of these parasites in intermediary hosts; humans can accidentally acquire cysticercosis. Taeniasis/cysticercosis causes serious public health and economic problems in endemic areas of Africa, Asia, and Latin America, in addition to other areas as a result of the travel and migration. Neurocysticercosis is the most important parasitic disease of the central nervous system. Taeniasis diagnosis is obtained generally by stool exams, whereas cysticercosis diagnosis is carried out by parasitological methods, imaging techniques and several immunological tests. Conventional methods of diagnosis have serious limitations, such as poor sensitivity and low specificity, are not standardized properly and are based on the parasitic material which is difficult to obtain. At present new technical tools are being used that allow a better diagnosis of these diseases, for example, monoclonal antibodies, recombinant antigens, synthetic peptides, PCR, whose manipulation is easily standardized and independent of the sources of the always valuable parasitic material.

Key words: taeniasis, cysticercosis, diagnosis, recombinant antigen, synthetic peptide, PCR.

REFERENCIAS

Allan J.C., Ávila G., García-Noval J., Flisser A. & Craig P.S. (1990). Immunodiagnosis of Taeniasis by coproantigen detection. *Parasitology*. **101**: 473-477.

- Allan J.C., Mencos F., García-Noval J., Flisser A., Wang Y., Liu D. *et al.*, (1993). Dipstick dot ELISA for the detection of *Taenia* coproantigens in humans. *Parasitology*, **107**: 79-85.
- Allan J.C., Velasquez-Tohom M., García-Noval J., Torres-Alvarez R., Yurrita P., Fletes C. *et al.*, (1996). Epidemiology of intestinal *Teniasis* in four, rural, Guatemalan communities. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **90**: 157-165.
- Allan J.C., Velasquez-Tohom M., Fletes C., Torres-Alvarez R., Lopez-Virula G., Yurrita P. *et al.*, (1997). Mass chemotherapy for intestinal *Taenia solium* infection: effect on prevalence in humans and pigs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **91**: 595-598.
- Allan J.C., Wilkins P., Tsang V. & raig P.S. (2003). Immunodiagnostic tools for *Teniasis*. *Acta Trop.* **87**: 87-93.
- Bern C., García H.H., Evans C., González A.E., Verastegui M., Tsang, V.C. *et al.*, (1999). Magnitude of the disease burden from neurocysticercosis in a developing country. *Clin. Infect. Dis.* **29**: 1203-1209.
- Bowles J.R. & McManus D.P. (1994). Genetic characterization of the Asian *Taenia*, a newly described taeniid cestode of humans. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **50**: 33-44.
- Brandt J.R., Geerts S., De Deken R., Kumar V., Ceulemans F., Brijs L. *et al.*, (1992). A monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating excretory-secretory antigens in *Taenia saginata* cysticercosis. *Int. J. Parasitol.* **22**: 471-477.
- Chapman A. Vallejo V., Mossie K.G., Ortiz D., Agabian N. & Flisser A. (1995). Isolation and characterization of species-specific DNA probes from *Taenia solium* and *Taenia saginata* and their use in an egg detection assay. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 1283-1288.
- Chung J.Y., Bahk Y.Y., Huh S., Kang S.Y. & Kong Y., Cho S.Y. (1999). A recombinant 10 kDa protein of *Taenia solium* metacestodes specific to active neurocysticercosis. *J. Infect. Dis.* **180**: 1307-1315.
- Correa D., Sandoval M.A., Harrison L.J., Parkhouse R.M., Plancarte A., Meza-Lucas A. *et al.*, (1989). Human neurocysticercosis: comparison of enzyme immunoassay capture techniques based on monoclonal and polyclonal antibodies for the detection of parasite products in cerebrospinal fluid. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **83**: 814-816.
- Del Brutto O.H., Wadia N.H., Dumas M., Cruz M., Tsang V.C. & Schantz P.M. (1996). Proposal of diagnostic criteria for human neurocysticercosis. *J. Neurol. Sci.* **42**: 1-6.
- Deplazes P., Eckert J., Pawlowski Z.S., Machowska L. & Gottstein B. (1991). An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnostic detection of *Taenia saginata* copro-antigens in humans. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **85**: 391-396.
- de Queiroz A. & Alkire N.L. (1998). The phylogenetic placement of *Taenia* cestodes that parasitize humans. *J. Parasitol.* **84**: 379-383.
- Diwan A.R., Coker-Vann M., Brown P., Subianto D.B., Yolken R. *et al.*, (1982). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to cysticerci of *Taenia solium*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **20**: 775-779.
- Erhart A., Dorny P., Van De N., Vien H.V., Thach D.C., Toan N.D. *et al.*, (2002). *Taenia solium* cysticercosis in a village in northern Viet Nam: seroprevalence study using an ELISA for detecting circulating antigen. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **96**: 270-272.
- Espindola N.M., Vaz A.J., Pardini A.X. & Fernández I. (2002). Excretory/secretory antigens (ES) from in-vitro cultures of *Taenia crassiceps* cysticerci, and use of an anti-ES monoclonal antibody for antigen detection in samples of cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **96**: 361-368.
- Espindola N.M., Iha A., Fernandes I., Takayanagui O., Machado L., Livramento J. *et al.*, (2005). Cysticercosis immunodiagnosis using 18- and 14-kilodalton proteins from *Taenia crassiceps* cysticercus antigens obtained by immunoaffinity chromatography. *J. Clin. Microbiol.* **43**: 3178-3184.

- Ev L.V., Maia A. A., Pianetti G. & Nascimento E. (1999). Immunological evaluation of a 26-kDa antigen from *Taenia solium* larvae for specific immunodiagnosis of human neurocysticercosis. *Parasitol. Res.* **85**: 98-102.
- Fan, P.C. (1988). Taiwan *Taenia* and *Taeniasis*. *Parasitol. Today*. **4**: 86-88.
- Fan P.C., Lin C.Y., Chen C.C. & Chung W.C. (1995). Morphological description of *Taenia saginata asiatica* (Cyclophyllidae: Taeniidae) from man in Asia. *J. Helminthol.* **69**: 299-303.
- Ferrer E., Cortéz M. M., Pérez H., De La Rosa M., De Noya A B., Dávila I. *et al.*, (2002) Serological evidence for recent exposure to *Taenia solium* in Venezuelan Amerindians. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 170-174.
- Ferrer E., Cabrera Z., Rojas G., Lares M., Vera A., Alarcón de Noya B. *et al.*, (2003a) Evidence for high seroprevalence of *Taenia solium* cysticercosis in individuals from three rural communities in Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **97**: 522-526.
- Ferrer E., Moyano E., Benítez L., González L.M., Bryce D., Foster-Cuevas M. *et al.*, (2003b) cloning and characterization of *Taenia saginata* paramyosin cDNA. *Parasitol. Res.* **91**: 60-67.
- Ferrer E., González L.M., Foster-Cuevas M., Cortéz M.M., Dávila I., Rodríguez M. *et al.*, (2005a) *Taenia solium*: characterization of a small heat shock protein (Tsol-sHSP35.6) and its possible relevance to the diagnosis and pathogenesis of neurocysticercosis. *Exp. Parasitol.* **110**: 1-11.
- Ferrer E., Cortéz M.M., Cabrera Z., Rojas G., Dávila I., Alarcón de Noya B. *et al.*, (2005b) Oncospheral peptide-based ELISAs as potential seroepidemiological tools for *Taenia solium* cysticercosis/neurocysticercosis in Venezuela. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **99**: 568-576.
- Fleury A., Beltran C., Ferrer E., Gárate T., Harrison L.J., Parkhouse R.M.E. *et al.*, (2003). Application of synthetic peptides to the diagnosis of neurocysticercosis. *Trop. Med. Int. Health.* **8**: 1124-1130.
- Flisser A., Woodhouse E. & Larralde C. (1980). Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders. *Clin. Exp. Immunol.* **39**: 27-37.
- Flisser A., Espinoza B., Tovar A., Plancarte A. & Correa D. (1986). Host-parasite relationship in cysticercosis: immunologic study in different compartments of the host. *Vet. Parasitol.* **20**: 95-102.
- Galán-Puchades M.T. & Fuentes M.V. (2000). Human cysticercosis and larval tropism of *Taenia asiatica*. *Parasitol. Today*. **16**: 174.
- García H. H., Harrison L. J., Parkhouse R. M., Montenegro T., Martínez S. M., Tsang V. C. *et al.*, (1998) A specific antigen-detection ELISA for the diagnosis of human neurocysticercosis. The cysticercosis working group in Peru. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **92**: 411-414.
- García H.H., Parkhouse R.M., Gilman R.H., Montenegro T., Bernal T., Martinez S.M. *et al.*, (2000). Serum antigen detection in the diagnosis, treatment, and follow-up of neurocysticercosis patients. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **94**: 673-676.
- García H.H., González A.E., Gilman R.H., Palacios L.G., Jimenez I., Rodríguez S. *et al.*, (2001). Short report: transient antibody response in *Taenia solium* infection in field conditions-a major contributor to high seroprevalence. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **65**: 31-32.
- García H.H., González A.E., Gilman R.H., Bernal T., Rodríguez S., Pretell E.J. *et al.*, (2002). Circulating parasite antigen in patients with hydrocephalus secondary to neurocysticercosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 427-430.
- García H. & Del Bruto O. (2003). Imaging findings in neurocysticercosis. *Acta Trop.* **87**: 71-78.
- Gasser R.B., Zhu X. & Woods W. (1999) Genotyping *Taenia* tapeworms by single-strand conformation polymorphism of mitochondrial DNA. *Electrophoresis*, **20**: 2834-2837.
- Gevorkian G., Manoutcharian K., Larralde C., Hernandez M., Almagro J.C., Viveros M. *et al.*,

- (1996). Immunodominant synthetic peptides of *Taenia crassiceps* in murine and human cysticercosis. *Immunol. Lett.* **49**: 185-189.
- González L.M., Montero E., Harrison L.J.S., Parkhouse R.M.E. & Gárate T. (2000). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infection by PCR. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 737-744.
- González L. M., Montero E., Sciutto E., Harrison L. J. S., Parkhouse R. M. E. & Gárate T. (2002a). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* infections: from DNA probes to polymerase chain reaction. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **96**: S243-250.
- González L. M., Montero E., Puente S., Lopez-Velez R., Hernández M., Sciutto E. *et al.*, (2002b). PCR tools for the differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* Taeniasis/cysticercosis from different geographical locations. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **42**: 243-249.
- González L. M., Montero E., Morakote N., Puente S., Diaz De Tuesta J., Serra T. *et al.*, (2004). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia saginata asiatica* Taeniasis through PCR. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **49**: 183-188.
- Gottstein B., Zini D. & Schantz P. M. (1987). Species-specific immunodiagnosis of *Taenia solium* cysticercosis by ELISA and immunoblotting. *Trop. Med. Parasitol.* **38**: 299-303.
- Gottstein B., Deplazes P., Tanner I. & Skaggs J. (1991). Diagnostic identification of *Taenia saginata* with the polymerase chain reaction. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **85**: 248-249.
- Greene R. M., Hancock K., Wilkins P. P. & Tsang V. C. (2000) *Taenia solium*: molecular cloning and serologic evaluation of 14 and 18 kDa related, diagnostic antigens. *J. Parasitol.* **86**: 1001-1007.
- Hancock K., Broughel D. E., Moura I. N., Khan A., Pieniazek N. J., Gonzalez A. E. *et al.*, (2001). Sequence variation in the cytochrome oxidase I, internal transcribed spacer 1, and Ts14 diagnostic antigen sequences of *Taenia solium* isolates from South and Central America, India, and Asia. *Int. J. Parasitol.* **31**: 1601-1617.
- Hancock K., Khan A., Williams F. B., Yushak M. L., Patabhi S., Noh J. *et al.*, (2003). Characterization of the 8-Kilodalton Antigens of *Taenia solium* Metacestodes and Evaluation of Their Use in an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Serodiagnosis. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 2577-2586.
- Hancock K., Patabhi S., Greene R. M., Yushak M., Williams F. B., Khan A. *et al.*, (2004). Characterization and cloning of GP50, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol. Biochem. Parasitol.* **133**: 115-124.
- Harrison L. J. S & Parkhouse R. M. E. (1989) *Taenia saginata* and *Taenia solium*: reciprocal models. *Acta Leiden.* **57**: 143-152.
- Harrison L. J. S., Joshua G. W., Wright S. H. & Parkhouse R. M. E. (1989). Specific detection of circulating surface/secreted glycoproteins of viable cysticerci in *Taenia saginata* cysticercosis. *Parasite Immunol.* **11**: 351-370.
- Harrison L. J. S., Delgado J. & Parkhouse R. M. E. (1990). Differential diagnosis of *Taenia saginata* and *Taenia solium* with DNA probes. *Parasitology.* **100**: 459-461.
- Hayunga E. G., Sumner M. P., Rhoads M. L., Murrell K. D. & Isenstein R. S. (1991). Development of a serologic assay for cysticercosis, using an antigen isolated from *Taenia* spp cyst fluid. *Am. J. Vet. Res.* **52**: 462-470.
- Hernández M., Beltran C., García E., Fragoso G., Gevorkian G., Fleury A. *et al.*, (2000) Cysticercosis: towards the design of a diagnostic kit based on synthetic peptides. *Immunol. Lett.* **71**: 13-17.
- Hoberg E. P. (2002). *Taenia* tapeworms: their biology, evolution and socioeconomic significance. *Microbes Infect.* **4**: 859-866.
- Hubert K., Andriantsimahavandy A., Michault A., Frosch M. & Mühlischlegel F. (1999). Serological diagnosis of human cysticercosis by use of recombinant antigens from *Taenia solium* cysticerci. *Clín. Diagn. Lab. Immunol.* **6**: 479-482.

- Ito A., Plancarte A. & Ma L. (1998). Novel antigens for neurocysticercosis: simple method for preparation and evaluation for serodiagnosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **59**: 291-294.
- Ito A., Yamasaki H., Nakao M., Sako Y., Okamoto M., Sato M. *et al.*, (2003). Multiple genotypes of *Taenia solium*-ramifications for diagnosis, treatment and control. *Acta Trop.* **87**: 95-101.
- Laclette J. P., Landa A., Arcos L., Willms K., Davis A. E. & Shoemaker C. B. (1991). Paramyosin is the *Schistosoma mansoni* (Trematoda) homologue of antigen B from *Taenia solium* (Cestoda). *Mol. Biochem. Parasitol.* **44**: 287-296.
- Landa A., Laclette J. P., Nicholson-Weller A. & Shoemaker C. B. (1993). cDNA cloning and recombinant expression of collagen-binding and complement inhibitor activity of *Taenia solium* paramyosin (AgB). *Mol. Biochem. Parasitol.* **60**: 343-347.
- Larralde C., Laclette J., Owen C., Madrazo I., Sandoval M., Bojalil R. *et al.*, (1986). Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemagglutination tests. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **35**: 965-973.
- Larralde C., Sotelo J., Montoya R. M., Palencia G., Padilla A., Govezensky T. *et al.*, (1990). Immunodiagnosis of human cysticercosis in cerebrospinal fluid. Antigens from murine *Taenia crassiceps* cysticerci effectively substitute those from porcine *Taenia solium*. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **114**: 926-928.
- Levine M., Calderon J., Wilkins P. P., Lane W., Asara J., Hancock K. *et al.*, (2004). Characterization, cloning, and expression of two diagnostic antigens for *Taenia solium* tapeworm infection. *J. Parasitol.* **90**: 631-638.
- Loos-Frank B. (2000). An up-date of Verster's (1969). 'Taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus' (Cestoda) in table format. *Syst. Parasitol.* **45**: 155-183.
- Machnicka B., Dziemian E. & Zwierz C. (1996). Detection of *Taenia saginata* antigens in faeces by ELISA. *Appl. Parasitol.* **37**: 106-110.
- Manoutcharian K., Rosas G., Hernández M., Fragoso G., Aluja A., Villalobos N. *et al.*, (1996). Cysticercosis: identification and cloning of protective recombinant antigens. *J. Parasitol.* **82**: 250-254.
- Mayta H., Talley A., Gilman R. H., Jiménez L., Verastegui M., Ruiz M. *et al.*, (2000). Differentiating *Taenia solium* and *Taenia saginata* infections by simple Hematoxylin-Eosin Staining and PCR-Restriction Enzyme Analysis. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 133-137.
- Molinari J. L., García-Mendoza E., de la Garza Y., Ramírez J. A., Sotelo J. & Tato P. (2002). Discrimination between active and inactive neurocysticercosis by metacestode excretory/secretory antigens of *Taenia solium* in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **66**: 777-781.
- Montenegro T. C., Miranda E. A. & Gilman R. (1996). Production of monoclonal antibodies for the identification of the eggs of *Taenia solium*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **90**: 145-155.
- Montero E., Gonzalez L. M., Puente S. & Gárate T. (2003a). Diagnosis of human *Taeniasis* by multiplex-PCR. *Med. Clin. (Barc)*. **120**: 37.
- Montero E., González L. M., Harrison L. J., Parkhouse R. M. & Gárate T. (2003b). *Taenia solium* cDNA sequence encoding a putative immunodiagnostic antigen for human cysticercosis. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* **786**: 255-269.
- Nakao M., Okamoto M., Sako Y., Yamasaki H., Nakaya K. & Ito A. (2002). A phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia solium* worldwide. *Parasitology*. **124**: 657-662.
- Nascimento E., Tavares C.A. & Lopes J. D. (1987). Immunodiagnosis of human cysticercosis (*Taenia solium*) with antigens purified by monoclonal antibodies. *J. Clin. Microbiol.* **25**: 1181-1185.
- Ng T.F. & Ko R.C. (1994). Serodiagnosis of cysticercosis: specificity of different antigens and enzyme-linked immunosorbent assays. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **88**: 421-422.

- Nguekam J. P., Zoli A. P., Ongolo-Zogo P., Dorny P., Brandt J. & Geerts S. (2003) Follow-up of neurocysticercosis patients after treatment using an antigen detection ELISA. *Parasite*. **10**: 65-68
- Nunes C., Lima L., Manoel C., Pereira R., Nakano M. & García J. (2003). *Taenia saginata*: polymerase chain reaction for Taeniasis diagnosis in human fecal samples. *Exp. Parasitol.* **104**: 67-69.
- Nunes C., Dias A., Dias F., Aoki S., de Paula H., Lima L. *et al.*, (2005). *Taenia saginata*: differential diagnosis of human Taeniasis by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay. *Exp. Parasitol.* **110**: 412-415.
- Pammenter M. D., Epstein S. R. & Rees R. T. (1992). Cross reactions in the immunodiagnosis of schistosomiasis and cysticercosis by a cerebrospinal fluid enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **86**: 51-52.
- Pardini A. X., Vaz A. J., Dos Ramos Machado L. & Livramento J. A. (2001). Cysticercus antigens in cerebrospinal fluid samples from patients with neurocysticercosis. *J. Clin. Microbiol.* **39**: 3368-3372.
- Pardini A. X., Peralta R. H., Vaz A. J., Dos Ramos Machado L. & Peralta J. M. (2002). Use of *Taenia crassiceps* cysticercus antigen preparations for detection of antibodies in cerebrospinal fluid samples from patients with neurocysticercosis (*Taenia solium*). *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **9**: 190-193.
- Park S. K., Yun D. H., Chung J. Y., Kong Y. & Cho S. Y. (2000). The 10 kDa protein of *Taenia solium* metacestodes shows genus specific antigenicity. *Korean J. Parasitol.* **38**: 191-194.
- Plancarte A., Hirota C., Martinez-Ocaña J., Mendoza-Hernandez G., Zenteno E. & Flisser A. (1999). Characterization of GP39-42 and GP24 antigens from *Taenia solium* cysticerci and their antigenic GP 10 subunit. *Parasitol. Res.* **85**: 680-684.
- Proaño-Narvaez J. V., Meza-Lucas A., Mata-Ruiz O., García-Jeronimo R. C. & Correa D. (2002). Laboratory diagnosis of human neurocysticercosis: double-blind comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and electroimmunotransfer blot assay. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 2115-2118.
- Restrepo B. I., Alvarez J. I., Castano J. A., Arias L. F., Restrepo M., Trujillo J. *et al.*, (2001). Brain granulomas in neurocysticercosis patients are associated with a Th1 and Th2 profile. *Infect. Immun.* **69**: 4554-4560.
- Rodríguez-Hidalgo R., Geysen D., Benitez-Ortiz W., Geerts S. & Brandt J. (2002). Comparison of conventional techniques to differentiate between *Taenia solium* and *Taenia saginata* and an improved polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay using a mitochondrial 12S rDNA fragment. *J. Parasitol.* **88**: 1007-1011.
- Sako Y., Nakao M., Ikejima T., Piao X.Z., Nakaya K. & Ito A. (2000). Molecular characterization and diagnostic value of *Taenia solium* low-molecular-weight antigens genes. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 4439-4444.
- Schantz P. M., Moore A. C., Muñoz J. L., Hartman B. J., Schaefer J. A., Aron A.M. *et al.*, (1992). Neurocysticercosis in an Orthodox Jewish community in New York City. *N. Engl. J. Med.* **327**: 692-695.
- Scheel C., Khan A., Hancock K., García H. H., González A. E., Gilman R. H. *et al.* (2005). Serodiagnosis of neurocysticercosis using synthetic 8-kd proteins: comparison of assay formats. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **73**: 771-776.
- Topley & Wilson (1999). Microbiology and microbial infections. Ninth edition. Volume 5 *Parasitology* U.K.
- Tsang V., Brand J. A. & Boyer A. E. (1989). An enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J. Infect. Dis.* **159**: 50-59.
- Vaz A. J., Nunes C. M., Piazza R. M., Livramento J. A., Da Silva M. V., Nakamura P. M. *et al.*, (1997). Immunoblot with cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis using antigens from cysticerci of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **57**: 354-357.

- Vazquez-Talavera J., Solis C. F., Medina-Escutia E., Lopez Z. M., Proaño J., Correa D. *et al.*, (2001). Human T and B cell epitope mapping of *Taenia solium* paramyosin. *Parasite Immunol.* **23**: 575-579.
- Villota G. E., Gomez, D. I., Volcy M., Franco A. F., Cardona E. A., Isaza R. *et al.*, (2003). Similar diagnostic performance for neurocysticercosis of three glycoprotein preparations from *Taenia solium* metacestodes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **68**: 276-280.
- Wagner A. (2001). *Inmunodiagnóstico de la cisticercosis: ensayos de detección de anticuerpos y de antígenos circulantes*. Trabajo especial de grado presentado en la Universidad Central de Venezuela para optar al título de Magíster Scientiarum.
- Wang C. Y., Zhang H. H. & Ge L. Y. (1992). A Mab-based ELISA for detecting circulating antigen in CSF of patients with neurocysticercosis. *Hybridoma*. **11**: 825-827.
- White A.C., Jr. (1997). Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide. *Clin. Infect. Dis.* **24**: 101-115.
- Wilkins P. P., Allan J. C., Verastegui M., Acosta M., Eason A. G., García, H. H. *et al.*, (1999). Development of a serologic assay to detect *Taenia solium* Taeniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **60**: 199-204.
- Wilson M., Bryan R. T., Fried J. A., Ware D. A., Schantz P. M., Pilcher J. B. *et al.*, (1991). Clinical evaluation of the cysticercosis enzyme-linked immunoelectrotransfer blot in patients with neurocysticercosis. *J. Infect. Dis.* **164**: 1007-1009.
- Yamasaki H., Nakao M., Sako Y., Nakaya K., Sato M.O., Mamuti W. *et al.*, (2002). DNA differential diagnosis of human taeniid cestodes by base excision sequence scanning thymine-base reader analysis with mitochondrial genes. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 3818-3821.
- Yamasaki H., Allan J., Sato M., Nakao M., Sako Y., Nakaya K. *et al.*, (2004). DNA differential diagnosis of *Taeniasis* and cysticercosis by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 548-553.
- Yang H. J., Chung J. Y., Yun D. H., Kong Y., Ito A., Ma L. *et al.*, (1998). Immunoblot analysis of a 10 kDa antigen in cyst fluid of *Taenia solium* metacestodes. *Parasite Immunol.* **20**: 483-488.
- Zarlenga D. S., McManus D. P., Fan P. C. & Cross J. H. (1991) Characterization and detection of a newly described Asian taeniid using cloned ribosomal DNA fragments and sequence amplification by the polymerase chain reaction. *Exp. Parasitol.* **72**: 174-183.

Recibido el 15/12/2005
Aprobado el 03/04/2006

The finding of *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 (Reduviidae: Triatominae) in palm trees (*Attalea butyracea*) in north Costa Rica

Rodrigo Zeledón^{*1}, Juan A. Morales², Myriam Scally³, Jorge Torres³, Sergio Alfaro¹, Heriberto Gutiérrez¹ & José A. Vargas¹

A total of 167 nymphs and adults of *Rhodnius pallescens* was collected from the basal parts of dead fronds of two palm trees (*Attalea butyracea*) in the town of Los Chiles, province of Alajuela, Costa Rica, close to the Nicaraguan border. Previous records of this species in the same habitat come from Panama and Colombia. A group of 32 insects examined for *Trypanosoma cruzi* revealed that all were infected. By examining their hemolymph, none of 24 of the insects was found infected with *T. rangeli*. Balb/c mice inoculated with the *T. cruzi* strain from infected insects showed a typical acute myocarditis reaction with numerous groups of parasites among the heart fibers at autopsy. The geographical distribution of *R. pallescens* as well as its possible presence in other Central American countries and in Mexico where it is still unknown, coinciding with the distribution of the same species of palm tree, is discussed. Likewise, the potential of *R. pallescens* in becoming adapted to domestic environments is analyzed in light of recent information, and the epidemiological implications of the phenomenon are also discussed.

Key words: *Rhodnius pallescens*, palm trees, *Attalea butyracea*, *Trypanosoma cruzi*, Costa Rica.

INTRODUCTION

Triatomine bugs can be divided into those that have become adapted to live in human dwellings, after a long domestication process, and those that still remain entirely sylvatic. Between these two extremes are species that can periodically visit man-made ecotopes, becoming or not adapted to domiciliary or peridomiciliary areas, sometimes reaching a certain degree of domestication when they are able to succeed in this process of adaptation (Zeledón, 1974).

The efforts to systematically control the domestic populations of these bugs have been implemented and coordinated in specific programs in the different regions of Latin America under the name of "Initiatives". These programs have witnessed the new invasion of dwellings by species of bugs different from the domestic ones, particularly when

previous niches become available, as a consequence of insecticide spraying campaigns for control. These invasions or reinvasions of households by different species or by the same species of bug, when they are well represented in wild habitats or remain in residual foci after spraying, constitute a new problem that has to be faced in the efforts to control vectorial transmission of Chagas disease (Dias *et al.*, 2002).

Another condition is presented by those places in which homes are being visited frequently, for the first time, by adult insects of a particular species of bug that has a wild habitat in the surroundings (Zeledón, 2003).

The above pose new challenges to control campaigns and demand more detailed study of the natural habitat and behavior of those species of triatomines that are partially adapted or are new visitors to human dwellings.

We report here for the first time the finding of *Rhodnius pallescens* in palm trees in Costa Rica, a species whose adults have been found visiting but not colonizing households in certain areas of the country (Marín & Vargas, 1986; Zeledón, 2003).

¹ Laboratorio de Zoonosis, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

² Laboratorio de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

³ Instituto Monteverde, Guanacaste, Costa Rica.

*Correspondence author: rodrigozeledon@ice.co.cr

MATERIAL AND METHODS

Los Chiles county, Alajuela province, is located at 11° 11' 51" N and 84° 42' 56" W, about 6 km from the Nicaraguan border. It is at 43 m above sea level and its climate is warm and humid (Tropical rain forest) with a mean temperature of 26°C (21-31°C) and a mean annual rainfall of 2627 mm and three months of reduced precipitation (February to April).

A small patch of secondary forest about 200 m long and 50 m wide in a new settlement in the town of Los Chiles, 400 m N of the local hospital, was chosen for the search of *R. pallescens* in April, 2004. Palm trees, locally called "corozo" (*Attalea butyracea*) are common in this forest and two adult specimens of *Rhodnius* had been caught in one of the neighboring houses by Dr. Dennis Méndez, a microbiologist who works at the hospital.

Two palm trees located about 15 m from each other, 10 and 13 m high respectively, were selected and cut down on separate days, with the help of a 14 inch gasoline chain saw (McCulloch, Model CS38EM). The remains of the lower dry fronds were carefully dissected to the upper ones without examining the green crown. By cutting the fronds at their proximal end and examining the inside portions, we were able to expose the fibrous tissue found in the narrow spaces formed by the base of the frond and the trunk where the insects were concealed.

A group of 32 insects (9 adults and 23 nymphs) found living in these trees, was examined for *Trypanosoma cruzi*, by observing a drop of feces in saline solution (0.9 %) under the microscope, and 8 adults and 16 nymphs of this group were studied for *T. rangeli*, by examining a drop of their hemolymph. Three Balb/c mice were injected subcutaneously with a suspension of feces in saline solution from 10 positive insects. Blood from infected mice was used

to maintain the strain in new Balb/c mice. The hearts of the first three were used to prepare sections that were stained with hematoxylin-eosin for observation of parasites and pathological reaction.

RESULTS

A total of 167 *R. pallescens* was captured from the fronds of the two trees. In the first tree, 35 insects were collected at heights between 2.5 m and 3.8 m from the ground. In the second tree, 132 bugs were found in the frond bases located 5 to 8 m in height. The number and stages of insects found on each tree are shown in Table I.

The sample of adults and larger nymphs (2 females, 7 males, 5 V instar, 14 IV instar and 4 III instar) from tree N° 2 examined for *T. cruzi* yielded positive results in 100 % of them. No flagellates were found in the hemolymph of the insects examined, indicating that *T. rangeli* was not present.

The infected mice showed few trypanosomes two to three weeks after inoculation and remained with low parasitemias. The first three died about three to four weeks after infection. In the animals where the strain is being maintained, the parasitemia was always low and most of the animals died within one month. The sacrificed animals showed a clear diffuse mononuclear infiltration process with degeneration and necrosis of myocardial fibers in two of them and the presence of moderate to numerous pseudocysts with amastogote forms of the parasite.

DISCUSSION

Rhodnius pallescens was described from Panamanian specimens in 1932 and later it was reported in Colombia and Belize (Lent & Wygodzinsky, 1979). There is a mention of its presence in the

Table I. Distribution of adult and nymph instar of *R. pallescens* found in two palm trees in Costa Rica

Tree N°	Adults		Nymphs					Total
	♀♀	♂♂	I	II	III	IV	V	
1	2	3	14	4	4	3	5	35
2	2	13	25	57	15	14	6	132
Total	4	16	39	61	19	17	11	167

Amazon Federal Territory of Venezuela (Ramírez-Pérez, 1987) and adult specimens were found visiting houses in the provinces of Alajuela and Limón in Costa Rica (Marín & Vargas, 1986). These areas of Costa Rica where the presence of the insect has been confirmed by using light traps, correspond to the Humid and Very Humid Tropical Forest according to Holdridge's life zones in the northern and Caribbean lowlands of the country (Zeledón *et al.*, 2001). The visitation phenomenon by *R. pallescens* has also been observed in Nicaragua, Department of Rio San Juan, near the Costa Rican border, in at least 37 localities (Marín, 2003). A previous report of its presence in Nicaragua attributed to Del Ponte, as well as its presence in Mexico attributed to Romaña (Pizarro-Novoa & Romaña, 1998) could not be corroborated and we consider them as mistaken records.

Of the 16 species of *Rhodnius* that have been described, 12 are found living in palm trees, including *R. pallescens* (Dujardin *et al.*, 2002; Galvão *et al.*, 2003). The palms comprising its natural habitat, in chronological order are: *Attalea butyracea*, reported as *Scheelea zonensis*, in Panama (Whitlaw & Chaniotis, 1978; Christensen *et al.*, 1980); in Colombia the first record was in *Jessenia bataua* (Moreno-Mejía *et al.*, 1992a), and then *A. butyracea*, *Cocos nucifera*, *Copernicia tectorum* and *Elaeis oleifera* (Moreno & Jaramillo, 1996; Romaña *et al.*, 1999; Jaramillo *et al.*, 2000).

The marked preference for the palm *A. butyracea* seems to be well supported in those places where the insect has been found. In Panama, 90 to 100 % of the palms of this species are infested (Whitlaw & Chaniotis, 1978; Jabin, 2002) and in Colombia from 82 to 91 % have *R. pallescens* (Pizarro-Novoa & Romaña, 1998; Jaramillo *et al.*, 2000). The selection of this natural ecotope is probably explained by the typical structure of the basal portions of the old fronds of this palm allowing the formation of a space which produces a microclimate suitable for the bug. *R. pallescens* requires ambient relative humidities above 60% (Zeledón, 1974; Jurberg & Rangel, 1984). Furthermore, this type of palm tree is most adequate for small and medium sized mammals and for some birds that rest or nest in it, creating a very convenient biocenosis for the bug. Pizarro-Novoa & Romaña (1998) believe that two generations can be produced in one year under these natural conditions. In fact, in the laboratory the life cycle of the species tends to be

rather short ranging from 102 to 209 days (Jurberg & Rangel, 1984) with a mean of 111 days (Moreno-Mejía *et al.*, 1992b).

The number of *R. pallescens* found in *A. butyracea* varies from 1 to 101 per tree in Panama (Whitlaw & Chaniotis, 1978) and in Colombia the mean was 19.5 insects with a maximum of 104 per palm (Pizarro-Novoa & Romaña, 1998).

The close association of *R. pallescens* with *A. butyracea* suggests that its geographical distribution might correspond to the distribution of this palm, i.e. Middle America including parts of Mexico and northern South America down to Bolivia (Henderson *et al.*, 1995).

The finding of this bug in palm trees of this species in northern Costa Rica implies that it probably lives in the same species of palm in Nicaragua, Honduras, Guatemala, Belize and Mexico, particularly in the Caribbean basin of these countries.

Rhodnius pallescens adults are markedly attracted to electric lights and can probably fly into human dwellings from palm trees as now observed in Colombia, Panama and Costa Rica. In Central Panama the species has been found colonizing huts, particularly those with palm thatched roofs (Pipkin, 1968; Sousa & Johnson, 1973) and has shown a preference for human blood even though it behaves as an eclectic insect in this respect (Christensen & Vásquez, 1981). Recent observations indicate that at least in some areas of Panama, house colonization is disappearing; this is most probably due to social progress leading to house improvement (Jabin, 2002; Vásquez *et al.*, 2004). In Colombia, in places such as Antioquia, domiciliary and peridomiciliary cycles have been observed even though the species tends to be essentially wild (Moreno-Mejía *et al.*, 1992c; Moreno & Jaramillo, 1996). Jaramillo *et al.* (2000) suggested that *R. pallescens* in that country is capable not only of colonizing human habitations, but that it could also invade houses when a primary vector such as *R. prolixus* is eliminated.

Rhodnius pallescens has been found infected with *T. cruzi* and *T. rangeli* in Panama (Sousa & Johnson, 1973) and in Colombia (Moreno-Mejía *et al.*, 1992c), and now with the former parasite in Costa Rica. Some authors in Colombia consider it as

efficient a vector of *T. cruzi* as is *R. prolixus* (Moreno & Jaramillo, 1996; Jaramillo *et al.*, 2000) but Pipkin (1968) in Panama, while comparing these two species in the laboratory, concluded that *R. pallescens* is a tardy defecator relative to *R. prolixus*, suggesting that it is a lesser vector. This difference in the literature awaits an explanation and genetic studies of populations from different geographical areas could throw some light on this important matter.

It is evident that the species has succeeded in its domiciliation trends in some areas and has been implicated as a vector of Chagas disease in Panama and Colombia (Sousa & Johnson, 1973; Moreno & Jaramillo, 1996). The potential for colonization of newly settled houses, in areas where *A. butyracea* trees are common, is a fact that sanitary authorities should keep in mind.

Attention should also be paid to the possibility of transmission by visiting adult insects in certain geographical areas, as suggested by recent serological surveys in children in Panama “despite the apparent absence of insect domiciliation” (Jabin, 2002).

Hallazgo de *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 (Reduviidae: Triatominae) en Palmeras (*Attalea butyracea*) en el norte de Costa Rica

RESUMEN

En la población de Los Chiles. Provincia de Alajuela, Costa Rica, cerca de la frontera con Nicaragua, se recolectó un total de 167 ejemplares (ninfas y adultos) de *Rhodnius pallensces*, encontrados en la base de las hojas muertas de dos palmeras (*Attalea butyracea*). La especie había sido reportada previamente de Panama y Colombia colonizando la misma palmera. El examen de 32 insectos reveló que todos estaban infectados con *Trypanosoma cruzi* y no fue posible demostrar la presencia de *T. rangeli* en la hemolinfa de 24 insectos. La inoculación en ratones Balb/c con heces de los insectos infectados, mostró una moderada parasitemia y una típica miocarditis aguda con numerosos grupos de parásitos en las fibras cardíacas. Se analiza la distribución geográfica de *R. pallescens*, así como su posible presencia en los países centroamericanos y en México, en donde la especie es aún desconocida, en coincidencia con

la distribución de la misma especie de palmera. Asimismo, se discute el potencial de *R. pallescens* de adaptarse a ecotopos domésticos y las implicaciones epidemiológicas del fenómeno.

Palabras clave: *Rhodnius pallescens*, palmeras, *Attalea butyracea*, *Trypanosoma cruzi*, Costa Rica.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Dr. Paul Hanson, School of Biology, University of Costa Rica and to Dr. Ellen M. Dotson, Division of Parasitic Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Camblee, GA, for revision of the manuscript and to Dr. Cleber Galvão, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, for confirming the species. This work benefited from the Network for Research and Training in Tropical Diseases in Central America (NeTropica).

REFERENCES

- Christensen H. A. & Vásquez A. M. de (1981). Host feeding profiles of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) in rural villages of Central Panama. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* **30**: 278-283.
- Christensen H. A., Whitlaw J. T., Chaniotis B. N. & Vásquez A. M. de, (1980). Sylvatic hosts of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) nymphs in the Panama Canal Zone. *J. Med. Entomol.* **17**: 182.
- Dias J. C. P., Silveira A. C. & Schofield C. J. (2002). The impact of Chagas' disease control in Latin America. A review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **97**: 603-612.
- Dujardin J. P., Schofield C. J. & Panzera F. (2002). *Los vectores de la enfermedad de Chagas*. Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Mem. 8°, N. Serie, Tome 25, fasc. 3, Bruxelles, Belgique, 189 pp.
- Galvão C., Carcavallo R., Rocha D. S. & Jurberg, J. (2003). A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa.* **202**: 1-36.

- Henderson A., Galeano G. & Bernal R. (1995). *Field guide to the palms of the Americas*. Princeton University Press, N. Jersey, 352 pp.
- Jabin D. (2002). Palm trees of the species *Attalea butyracea* as ecological indicator of risk areas for Chagas disease in Panama. *Progr. Abstr. 51st Ann. Meet. Am. Soc. Trop. Med. Hyg., Suppl. Am. J. Trop. Med. Hyg.* **67**: 289.
- Jaramillo N., Schofield C. J., Gorla D., Caro-Riano H., Moreno J., Mejia E. & Dujardin J. P. (2000). The role of *Rhodnius pallescens* as a vector of Chagas disease in Colombia and Panama. *Res. Rev. Parasitol.* **60**: 75-82.
- Jurberg J. & Rangel E. F. (1984). Ciclo biológico de *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en laboratorio. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **79**: 303-308.
- Lent H. & Wygodzinsky P. (1979). Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **163**: 123-520.
- Marín F. (2003). Control de *Rhodnius prolixus* en Nicaragua. In: Reunión Internacional para el establecimiento de criterios de certificación de la eliminación de *Rhodnius prolixus* (Stal, 1859), Guatemala, 5-7 marzo de 2003, OPS- OMS, JICA, p. 15-16.
- Marín R. E. & Vargas M. (1986). *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) in Costa Rica. *J. Med. Entomol.* **23**: 333.
- Moreno J. & Jaramillo N. (1996). Estudios epidemiológicos sobre la enfermedad de Chagas en los Departamentos de Antioquia, Sucre y Tolima, Colombia. In: Proc. Intl. Workshop. Pop. Gen. Contr. Triatominae, Santo Domingo de los Colorados, Ecuador, 24-28 sept. 1995, p. 27.
- Moreno- Mejía J., Jaramillo N., Lages-Silva E. & Ramírez L. E. (1992a). Biological study of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in the Magdalena Valley of Antioquia, Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **87**: 216.
- Moreno-Mejía J., Valencia F. L., Jaramillo N., Lages-Silva E. & Ramírez L. E. (1992b). Biological cycle of *Rhodnius pallescens* in laboratory conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **87**: 217.
- Moreno-Mejía J., Jaramillo N., Lages-Silva E. & Ramírez L. E. (1992c). Study of Triatomines of the Magdalena Valle and Northeast in the state of Antioquia- Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **87**: 216.
- Pipkin A. C. (1968). Domiciliary Reduviid bugs and the epidemiology of Chagas' disease in Panama (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *J. Med. Entomol.* **5**: 107-124.
- Pizarro-Novoa J. C. & Romana C. (1998). Variación estacional de una población silvestre de *Rhodnius pallescens* Barber, 1932 (Heteroptera: Triatominae) en la costa caribe colombiana. *Bull. l'Inst. Français d'Etudes Andines.* **27**: 309-325.
- Ramírez-Perez J. (1987). Revisión de los tratominos (Hemiptera, Reduviidae) en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **27**: 118-146.
- Romaña C. A., Pizarro J. C., Rodas E. & Guilbert E. (1999). Palm trees as ecological indicators of risk areas for Chagas' disease. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* **93**: 594-595.
- Sousa O. E. & Johnson C. M. (1973). Prevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in triatomines (Hemiptera: Reduviidae) collected in the Republic of Panama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **22**: 18-23.
- Vásquez A. M., de Samudio F. E., Saldaña A., Paz H. M. & Calzada J. E. (2004). Eco-epidemiological aspects of *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli* and their vector (*Rhodnius pallescens*) in Panama. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* **46**: 217-222.
- Whitlaw J. T. & Chaniotis B. N. (1978). Palm trees and Chagas' disease in Panama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **27**: 873-881.
- Zeledón R. (1974). Epidemiology, modes of transmission and reservoirs hosts of Chagas' disease. In: *Trypanosomiasis and leishmaniasis with special*

- reference to Chagas' disease*. Ciba Found. Symp. 20 (new series), p: 51-77. Elsevier Excerpta Medica, Amsterdam.
- Zeledón R. (2003). A new entomological indicator useful in epidemiological studies and in control campaigns against Chagas disease. *Entomol. Vect.* **10**: 269-276.
- Zeledón R., Ugalde J. A. & Paniagua L. A. (2001). Entomological and ecological aspects of six sylvatic species of triatomines (Hemiptera, Reduviidae) from the collection of the National Biodiversity Institute of Costa Rica, Central America. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **96**: 757-764.

Recibido el 01/04/2006
Aprobado el 26/04/2006

Estructura y dinámica poblacional de *Triatoma sordida* Stål 1859 en una comunidad de *Butia yatay* en Argentina

María Esther Bar*

Se estudió la estructura poblacional de *Triatoma sordida* que infesta *Butia yatay* y su abundancia relativa durante un año, en Colonia Laurel, Departamento San Roque, Corrientes, Argentina (28° 28' S; 58° 26' W). Los muestreos se realizaron en primavera de 1998, verano, otoño e invierno de 1999. Se disecaron 55 ejemplares de palmas y se confirmó el predominio de *T. sordida* (N= 423) en relación al reducido número de *Triatoma platensis* y de *Psammolestes coreodes* capturados. Es la primera cita para Argentina sobre la presencia de *T. sordida* en esta especie de palma. La abundancia relativa de *T. sordida* mostró una marcada estacionalidad. En primavera el total de individuos colectados triplicó al hallado en las restantes estaciones y las abundancias relativas oscilaron entre 57 y 88 individuos por mes, coincidiendo con el período reproductivo de la especie. Todos los estadios ninfales estuvieron presentes, con predominio de NIII, NIV y NV. En forma global, las ninfas representaron el 91,7%, los huevos el 4,3% y los adultos el 4,0% de la población total colectada. La menor abundancia se verificó en Enero y podría interpretarse como una inhibición del desarrollo causado por las temperaturas elevadas. Algo semejante ocurrió en Junio, al registrarse la temperatura ambiental más baja, en invierno se produciría la mayor mortalidad de ninfas menores, conduciendo a la presencia de pocos ejemplares y aún a la extinción. Las fluctuaciones en la densidad de esta especie se atribuyen a factores bioclimáticos y a la disponibilidad de fuentes de alimentación.

Palabras clave: *Triatoma sordida*; *Butia yatay*; estudios poblacionales; estacionalidad; Corrientes; Argentina

INTRODUCCIÓN

Los triatomínos infestan numerosas especies de palmas en América Latina. Las especies citadas con mayor frecuencia son *Rhodnius prolixus*, *R. neglectus*, *R. pictipes*, *R. nasutus*, *R. pallescens*, *R. neivai*, *R. robustus*, *Triatoma maculata*, *T. pseudomaculata*, *T. sordida*, *Panstrongylus megistus*, *P. lignarius*, *Eratyrus mucronatus* y *E. cuspidatus* (Barretto *et al.*, 1969; Forattini *et al.*, 1971; Gamboa, 1973; Feliciangeli & Torrealba, 1977; D' Alessandro *et al.*, 1984; Rossell Reyes, 1984; Teixeira *et al.*, 2001; Bar, 2001).

Algunas de ellas como *R. prolixus* y *P. megistus* juegan un importante rol epidemiológico como vectores del *Trypanosoma cruzi*. En Corrientes, Argentina *T. sordida* es el vector principal en la transmisión silvestre, tal lo comprobado en el alto

índice de infestación de *Butia yatay* (96,2%) y la elevada tasa de infección por *T. cruzi* (38,5%) de las poblaciones que habitan en palmeras (Bar & Wisnivesky- Colli, 2001).

Entre las especies predominantes en la Provincia de Corrientes, *Triatoma infestans* (Klug, 1834) mantiene su condición intradoméstica en las áreas rurales de los departamentos investigados (Bar, 2001; Bar *et al.*, 1992; Bar *et al.*, 1996; Bar *et al.*, 1997; Bar *et al.*, 2002). Los triatomínos son especies oportunistas con habilidad para dispersarse y colonizar hábitats más estables, conducta que aparece cuando los vectores domésticos son eliminados, creando un nicho vacante que tarde o temprano será ocupado por especies secundarias (Bar, 2001).

Respecto a *T. sordida* (Stål, 1859) se comprobó su presencia en 31 viviendas urbanas localizadas en barrios céntricos de la ciudad de Corrientes (Bar *et al.*, 1993) y en 3 viviendas rurales de San Luis del Palmar y San Miguel, lo que refleja su tendencia a invadir el domicilio. (Bar *et al.*, 1992; Bar

Cátedra de Artrópodos, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

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

et al., 1996). No obstante ello, *T. sordida* continúa siendo la colonizadora mayoritaria de los corrales de aves (Damborsky et al., 2001). Esta especie demostró así su adaptación a diferentes ecotopos, confirmando una amplia valencia ecológica (Bar, 2001).

De allí la importancia creciente que asumen los triatomínos extradomésticos en el esquema epidemiológico de una región. En cuanto a la ocurrencia de otros vectores potenciales en el área de estudio se citan a *Triatoma platensis* (Neiva, 1913) y *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843). La primera se colectó en nidos de Furnariidae habitados secundariamente por *Didelphis albiventris*, principal reservorio silvestre del *T. cruzi* (Bar et al., 1999; Schweigmann et al., 1999). En el caso de *T. rubrovaria* se verificó su presencia en canteras de piedras lajas, correspondientes a afloramientos de areniscas, en el Departamento Mercedes (Bar et al., 2003).

La coexistencia de varias especies de triatomínos en una misma palma es común, si bien la abundancia es muy variable y los valores más frecuentes están comprendidos entre 7-10 individuos por palmera, con rangos que oscilan entre 0,2 y 229 (Barretto et al., 1969; Tonn et al., 1976; Feliciangeli & Torrealba, 1977; Whitlaw & Chaniotis, 1978; Bento et al., 1984).

En Belo Horizonte, Brasil en la disección de *Acrocomia sclerocarpa* se constató una densidad media de 9,45 *R. neglectus* por palma y el predominio de formas inmaduras sobre adultos. La densidad poblacional de esta especie está relacionada con la disponibilidad de alimento y con la presencia de predadores como *Telenomus* sp. (Diotaiuti & Dias, 1984).

En San Onofre, Departamento Sucre, Colombia, en la época lluviosa se colectaron más ejemplares de *R. pallescens* que en la época seca, con una media de 17,6 y 23,6 individuos respectivamente por ejemplar de *Attalea butyracea* (Pizarro Novoa & Romaña, 1998).

El objetivo de la presente investigación fue conocer la estructura poblacional de *T. sordida* integrante de la comunidad de *Butia yatay* y su abundancia relativa durante doce meses de muestreo en un área rural de la Provincia de Corrientes, localizada en el Nordeste Argentino.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en Colonia Laurel, Departamento San Roque, (28° 28' S y 58° 26' W). El área pertenece a la Provincia Chaqueña, incluida en la Subregión Chaqueña de la Región Neotropical. Esta Provincia comprende el centro y norte de Argentina, sur de Bolivia, oeste de Paraguay y sur este de Brasil (Morrone, 2000).

En Colonia Laurel se realizaron muestreos mensuales en Octubre, Noviembre y Diciembre (primavera 1998), Enero, Febrero y Marzo (verano), Abril, Mayo y Junio (otoño) y Julio, Agosto y Setiembre (invierno) de 1999.

En cada muestreo se trazaron 4 transectas de 300 metros de longitud equidistantes entre sí, separadas de los límites con los ambientes heterogéneos adyacentes por aproximadamente 25 metros, para evitar el efecto borde. En cada una de las transectas se disecó una palmera seleccionada por muestreo al azar.

Para ello se obtuvo un número al azar con una calculadora manual y el producto de ese número por la longitud total de la transecta representó la cantidad de metros a recorrer, seleccionándose en cada ocasión la palma más próxima a ese punto.

En el palmar seleccionado el muestreo fue longitudinal y sistemático, realizándose 4 réplicas por mes, por lo que el esquema de monitoreo permitió detectar cambios y tendencias a lo largo del estudio. Para estimar la densidad de cada clase de edad de *T. sordida* se tomó como unidad de volumen a cada ejemplar de palmera. La identificación taxonómica de palmas se realizó en base a claves específicas (Henderson et al., 1995).

Se colectaron los triatomínos vivos, muertos y exuvias en recipientes de plástico rotulados, con papel de filtro plegado en su interior y se trasladaron al laboratorio. Se identificaron según sexo y estado de desarrollo mediante claves (Lent & Wygodzinsky, 1979; Brewer et al., 1983; Carcavallo et al., 1997).

Disección del biotopo

La disección de cada palmera consistió en derribarla con una motosierra desde su base y colocarla

sobre un lienzo blanco para facilitar la detección de ejemplares y evitar su dispersión. Se examinaron detalladamente: estípite, base de copa, axila de la fronda, vaina tubular, peciolo, fronda, inflorescencia y espata. Las citadas partes se rociaron con irritante químico (tetrametrina al 0,2 %) para provocar que los triatominos abandonaran sus refugios. Se estimó el tiempo medio de disección de las palmas por operador.

Para cada palmera derrumbada se completó una planilla con los siguientes datos: número de palmera, especie, altura, diámetro del estípite, tiempo de disección, distancia a la vivienda más cercana, y temperatura y humedad relativa del ambiente. En cada palma infestada se anotaba la especie de triatomo detectada y la población viva y/o muerta discriminada por clase de edad. También se registró la presencia de nidos de aves y si estaban infestados, detallándose en ese caso los estadios evolutivos capturados. Para comparar las abundancias relativas y la composición de las clases de edad de los triatominos colectados según estación climática se aplicó el test de χ^2 a un nivel de significación del 5% (Sokal & Rohlf, 1995).

RESULTADOS

Análisis de la estructura poblacional de Triatoma sordida capturada en B. yatay, discriminada según estaciones climáticas.

Se disecaron en total 55 ejemplares de palmeras, pertenecientes a la Familia Palmaceae (= Arecaceae = Palmae), cuyas características fueron: altura media 6,54 metros, con una mínima de 3,75 y una máxima de 10,50 y el diámetro promedio del estípite fue 0,32 m. La distancia media de las palmas a la vivienda más cercana fue de 151,7 m., con una mínima de 30 y una máxima de 1.000. El tiempo promedio de disección de las palmeras fue de 1,54 hora, con una duración máxima de 3 y una mínima de 55'; el esfuerzo de captura fue de 7, 36 horas.

El índice de infestación de las 50 *B. yatay* fue del 90,9% y la población total de triatominos colectada fue de 429 ejemplares, por lo que a cada palma le correspondió, en promedio, 8,6 individuos. La densidad máxima por palmera fue de 60 ejemplares vivos y la mínima de 1.

Se identificaron las siguientes especies: *T. sordida*, *T. platensis* y *Psammolestes coreodes* (Bergroth, 1911). Se colectaron todos los estados de desarrollo de *T. sordida* mientras que las restantes especies fueron capturadas únicamente en el estado de ninfa.

El 80,0% de las palmas estaba colonizado únicamente por ninfas de *T. sordida*, en 8 palmas (16,0%) se hallaron ninfas y adultos y el 2,0% albergaba solamente adultos. Asimismo en una palma se registró la presencia de adultos y de huevos y en otra de huevos y de ninfas. En un nido de ave localizado en un ejemplar de *B. yatay*, se comprobó la coexistencia de 16 individuos de *T. sordida*, 2 ninfas de primer estadio de *T. platensis* (las que llegaron al estado adulto en condiciones de laboratorio) y 4 ninfas de quinto estadio de *P. coreodes*.

En primavera el total de individuos colectados triplicó al hallado en las restantes estaciones y las abundancias relativas, oscilaron entre 57 y 88 individuos por mes, coincidiendo con el periodo reproductivo de la especie. Todos los estadios ninfales estuvieron presentes, constatándose una mayor densidad mensual de NIII, NIV y NV respectivamente (Fig. 1A).

En verano las abundancias relativas fluctuaron entre 5 y 41 ejemplares, colectándose el menor número en Enero. En Febrero y Marzo se hallaron todos los estadios ninfales. Si bien las muestras fueron irregulares, se observó mayor frecuencia de NV (Fig. 1B).

Durante el otoño las densidades relativas variaron entre 10 triatominos colectados en Junio y 49 en Mayo. En otoño temprano (Abril y Mayo) se detectaron todos los estadios ninfales, con predominio de NII, inclusive se capturó un ejemplar macho. En Junio se verificó mayor abundancia de NIV y la presencia de una hembra (Fig. 1C).

En invierno las abundancias relativas oscilaron entre 18 y 23 individuos por mes, colectándose pocas ninfas menores (n= 14). A diferencia, las NIII, NIV y NV si bien en número relativamente bajo (3 - 8), siempre estuvieron presentes. La colecta estacional de NV fue mayor, en relación directa con la aparición de hembras en la primavera temprana (Fig. 1D).

Análisis de las muestras mensuales de Triatoma sordida, discriminadas según estados de desarrollo.

En la composición de la población según cada uno de los estados de desarrollo (separando a las ninfas por estadios y a los adultos en machos y hembras), se observó diferencias altamente significativas entre las cuatro estaciones ($\chi^2=75,86$; G. L. 21; $P<0,0001$) (Tabla I).

El análisis de la población total de *T. sordida* muestra que las ninfas representaron el 91,7%, los huevos el 4,3% y los adultos el 4,0%. Se observó diferencia altamente significativa en la proporción de cada clase de edad ($\chi^2= 649, 03$; G. L. 2; $P\leq 0,001$). El 70,6% de los adultos capturados ($N= 17$) fueron machos y el 29,4% hembras. El estadio ninfal dominante fue NIV (100/388) representando un 25,8% del total de ninfas, siguieron en abundancia las NIII (24,7%) y las NV (22,2%). El 27,3% restante correspondió a NII y a NI con un porcentaje relativo de 15,5% y 11,8% respectivamente. El estado de desarrollo colectado en menor número de muestreos ($n=2$) fue el de huevo.

Los huevos ($N=18$) se colectaron mayoritariamente en Noviembre ($n=17$) y fue la clase de edad más abundante del mes, y otro se halló en Enero.

Las NI se detectaron durante 11 meses, salvo en Agosto, siendo más numerosas en las muestras de Diciembre ($n= 11$), Abril ($n= 10$) y Mayo ($n= 7$). Las NII presentaron abundancias relativas muy variables y no se capturaron en Enero, Junio y Julio, coincidiendo con las temperaturas extremas. Esta edad estuvo mejor representada en Mayo (20/49 ejemplares), en Noviembre (14/57) y fue importante en el porcentaje relativo del total colectado en Agosto, Marzo y Febrero (33,0% 24,0% y 17,0%, respectivamente) (Fig. 1 A, B, C y D).

Las NIII se colectaron en todos los muestreos, excepto en Enero. Las mayores abundancias correspondieron a Octubre, Diciembre, Noviembre y Febrero, meses en que los porcentajes relativos oscilaron entre 23,0 y 31,0%.

Las NIV y NV integraron todas las muestras. Las NIV alcanzaron la mayor densidad relativa en Diciembre (24/72 individuos), Octubre (27/88) y Mayo (12/49). La densidad de NV fue muy variable hallándose en número de 2 a 25 y las mayores abundancias relativas correspondieron a Marzo (8/21), Febrero (13/41) y Octubre (25/88), (Fig. 1 A, B, C y D).

En la primavera se detectaron los machos antes que las hembras, quienes se capturaron en Octubre (4/88) y no se los halló entre Enero y Marzo, encontrándose en Abril un solo ejemplar. Las hembras fueron colectadas un mes después que los machos, capturándose un individuo en Noviembre, tres en Diciembre y uno en Junio. Es decir, que no se hallaron adultos entre Abril y Octubre, salvo excepciones.

La Fig. 2 representa la composición de la población total de *T. sordida*, discriminada según mes de colección y clase de edad, en la cual se visualizan los cambios en la densidad de la población en función del tiempo.

DISCUSIÓN

La presente investigación sobre la presencia de triatomínos en palmas representa el primer estudio longitudinal que se realiza en Argentina.

T. sordida fue la especie dominante en *B. yatay*; hallándose en las palmas infestadas sólo unos

Tabla I. Abundancia relativa de Triatoma sordida colectada en Butia yatay, discriminada por clase de edad y estación. Áreas rurales de la Provincia de Corrientes, Argentina.1998-1999.

	Huevos	Ninfas					Adultos		Total
		NI	NII	NIII	NIV	NV	Hembra	Macho	
Primavera	17	13	20	60	57	35	4	11	217
Verano	1	8	12	14	9	23			67
Otoño	0	18	21	10	18	10	1	1	79
Invierno	0	7	7	12	16	18			60
Total	18	46	60	96	100	86	5	12	423

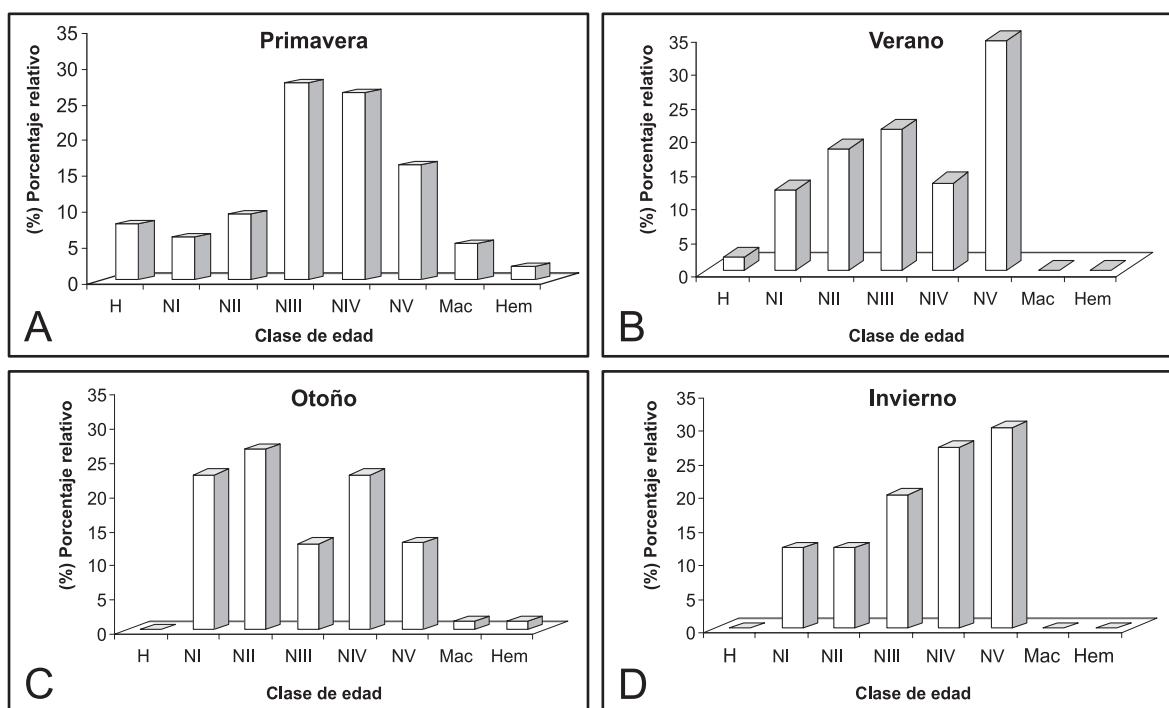


Fig. 1. Estructura de la población de *Triatoma sordida*, según estaciones, colectada en *Butia yatay*, Provincia de Corrientes, Argentina. Octubre 1998-Setiembre 1999.

pocos ejemplares de *T. platensis* y *P. coreodes*, los que coexistían en un nido de ave localizado en el interior de la palma, a semejanza Tonn *et al.* (1978), encontraron *T. maculata* en palmas, frecuentemente asociada con *Rhodnius prolixus*, *R. pictipes* y *R. robustus*.

Es el primer hallazgo de *T. sordida* en esta especie de palma, endémica de América del Sur y

registrada sólo para Argentina, Uruguay y el Estado de Río Grande do Sul en Brasil (Martínez Crovetto & Piccinini, 1950; Henderson *et al.*, 1995).

La abundancia relativa de *T. sordida* en las palmas mostró una marcada estacionalidad confirmándose en la colecta de primavera la mayor densidad. La menor abundancia relativa se verificó en Enero, lo cual podría interpretarse como una inhibición del desarrollo causado por las temperaturas elevadas (42°C). Un evento semejante se constató en Junio, cuando se registró la temperatura ambiental más baja (14°C).

Se presupone que en invierno se produciría la mayor mortalidad de ninfas de los primeros estadios, conduciendo a la presencia de pocos ejemplares y aún a la extinción. En coincidencia, en una investigación sobre las características poblacionales de *T. infestans* realizada bajo condiciones naturales en gallineros experimentales, se observó un aumento de la densidad durante los meses cálidos y una disminución durante el invierno (Gorla & Schofield, 1989).

El total de huevos colectados fue escaso, circunstancia atribuida al pequeño tamaño que dificulta

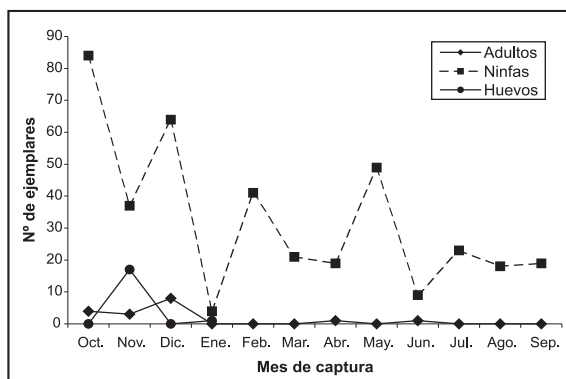


Fig. 2. Densidad poblacional de *Triatoma sordida*, discriminada por mes de captura. Áreas rurales de la Provincia de Corrientes, Argentina. 1998-1999

su visualización durante la disección del biotopo y porque son puestos sin ninguna sustancia que permita su fijación. Se agrega además, que la palma tiene una estructura compleja y ofrece numerosos refugios, hecho que no favorece su hallazgo.

Si bien las NI se capturaron durante 11 meses, no fueron abundantes, no descartándose un efecto de sesgo debido a su pequeño tamaño. Las NI halladas en Abril y Mayo corresponderían a ejemplares nacidos en verano tardío. La detección de NII, NIII, NIV y NV en poblaciones naturales a lo largo de, por lo menos, 9 meses sugiere una superposición de generaciones de la especie investigada.

El hallazgo de adultos fue poco frecuente y la mayoría fue capturado en primavera, estación que coincide con la mayor oferta alimenticia, ya que los vertebrados están en período reproductivo.

En coincidencia con los resultados obtenidos en esta investigación es importante hacer notar que en un censo llevado a cabo en un peridomicilio rural del Departamento San Luis del Palmar (Corrientes, Argentina) la estructura de edad de *T. sordida* fue 1,0% de huevos, 92,0% de ninfas y 7,0% de adultos (Bar *et al.*, 1992). Asimismo las edades de la población capturada en un ecotopo urbano (palomar) de la ciudad de Corrientes fueron 0,3% de huevos, 96,2% de ninfas y 3,5% de adultos (Bar *et al.*, 1993).

Los adultos permanecen en el biotopo el tiempo requerido para que ocurra la fecundación y la oviposición, dispersándose posteriormente por el vuelo para colonizar otros habitats. A semejanza, el desarrollo espontáneo de colonias de *T. sordida* en gallineros experimentales confirmó el carácter ubicuita de este triatomo, constatándose que se movilizan hasta 700 metros, en el Nordeste del Estado de São Paulo (Forattini *et al.*, 1977).

Las fluctuaciones en la densidad de los estados inmaduros y de adultos a lo largo del año están en relación con las estaciones climáticas y seguramente a la disponibilidad de fuentes de alimento. En coincidencia, la densidad poblacional y la proporción de cada estado de desarrollo de *R. neglectus* en *A. sclerocarpa* varían según la época del año en que se realizan los muestreos, Minas Gerais, Brasil (Diotaiuti & Dias, 1984).

Asimismo el número medio de individuos de *R. prolixus* en *Copernicia tectorum* fluctúa a lo largo de las estaciones del año y está correlacionado con los factores bio-climáticos. El vector está presente durante todos los meses del año, siendo la población muy escasa durante los meses de mayor sequía (un ejemplar en Enero), mientras que la mayor densidad media se alcanza en el mes con mayor precipitación (6,7 individuos en Junio) (Felicangeli & Torrealba, 1977).

Los resultados del presente estudio concuerdan con los obtenidos en *R. prolixus* en cuanto a la composición de la población total, ya que se verificó el predominio de NIII y NIV, siendo muy bajo el número de NI. Esto último se explicaría porque las NI y NII resisten menos el ayuno y permanecen menos tiempo en esos estadios, ya que cuando se alimentan mudan rápidamente al estadio siguiente o mueren. La tolerancia al ayuno es mayor en las ninfas mayores y aún cuando se alimentan repetidas veces, permanecen mucho tiempo en esas clases de edad (Felicangeli & Torrealba, 1977).

A semejanza de estos resultados en el Estado Aragua, Venezuela se capturaron todos los estados de desarrollo de *R. prolixus* y el predominio de ninfas (72,2%) sobre adultos (27,8%) fue evidente en la "palma llanera" (*Copernicia tectorum*). La menor densidad de adultos, localizados en sitios más abiertos, se atribuye a factores tales como la quema de grandes extensiones de la palma durante el verano (Gamboa, 1963).

Rhodnius pallescens se halló en altas densidades en *A. butyracea*, comprobándose la existencia de poblaciones estables, con estacionalidad marcada durante todo el año; si bien el índice adultos/ninfas muestra que la población está compuesta en su mayor parte por ninfas. Se confirmó además que la estacionalidad climática no interviene en las variaciones de la densidad, pero sí actúa sobre la composición etaria de las poblaciones, (Pizarro Novoa & Romaña, 1998) en disidencia con los resultados de esta investigación.

El tamaño poblacional de los triatominos parecería jugar un papel dominante en el esquema general de la epidemiología de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, hay aspectos fundamentales no aclarados, como por ejemplo si la limitación

del recurso alimentario actúa como un freno del crecimiento poblacional, o cuál es el grado de eficiencia de los enemigos naturales para controlar las poblaciones de estos insectos (Rabinovich, 1985).

El análisis de la estructura poblacional es de suma utilidad para estimar ensayos de control biológico. Por ejemplo, en el caso de *R. pallescens*, las variaciones en la densidad de los estados de desarrollo según la estación climática y su susceptibilidad a hongos entomopatógenos, permitieron evaluar la eficacia del bio-insecticida (Pizarro Novoa & Romaña, 1998).

Se concluye que la población *T. sordida* en *B. yatay* alcanzó un tamaño importante a partir de octubre, época en las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de la especie.

El menor número de individuos se capturó en verano y otoño. El predominio de ninfas sobre adultos es notorio.

Las fluctuaciones en la densidad de esta especie se atribuyen a factores bio-climáticos (influencia de las temperaturas extremas y amplitud térmica, humedad relativa, vientos, dispersión, patrón de distribución espacial, diapausa) y la disponibilidad de los recursos tróficos.

Population structure of *Triatoma sordida* Stål 1859 collected in a community of *Butia yatay* in Argentina

SUMMARY

The population structure of *Triatoma sordida* in the palm *Butia yatay*, and its relative abundance during 1 year was studied in Colonia Laurel, Departamento San Roque, Corrientes, Argentina (28° 28' S; 58° 26' W). Samples were collected in the spring of 1998 and the summer, autumn and winter of 1999. Fifty-five palms were examined, and the predominance of *T. sordida* (N = 423) was confirmed in relation to the reduced number of *T. platensis* and *Psamolestes coreodes* captured. It is the first citation in Argentina of the presence of *T. sordida* in this species of palm. The relative abundance of *T. sordida* shows a marked seasonality.

In spring, the total of individuals collected tripled those found in the remaining seasons, and the relative abundance oscillated between 57 and 88 individuals per month, coinciding with the reproductive period of the species. All the nymphal stages were present, with a predominance of NIII, NIV and NV. Of the total population collected, nymphs represented 91.7%, eggs 4.3%, and adults 4.0%. The lowest abundance was reported in January and could be interpreted as an inhibition of development caused by elevated temperatures. Something similar occurred in June (winter), when the lowest environmental temperatures were recorded, producing the greatest mortality of small nymphs, resulting in the presence of few or no specimens. The fluctuations in the density of this species can be attributed to bioclimatic factors and the availability of blood meals sources.

Key words: *Triatoma sordida*, *Butia yatay*, population studies, seasonality, Corrientes, Argentina.

AGRADECIMIENTOS

A los Licenciados Elena Oscherov, Miryam Damborsky y Gilberto Avalos por su asistencia técnica en el trabajo de campo y de laboratorio. A la Dra. C. Wisnivesky-Colli por las correcciones y sugerencias y por la redacción del abstract. La investigación ha sido financiada parcialmente por la Secretaria General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste.

REFERENCIAS

- Bar M. E. (2001). *Triatomines de la comunidad de palmeras en la provincia de Corrientes. Ecología e importancia epidemiológica* [Tesis Doctoral]. Corrientes: Argentina. Universidad Nacional del Nordeste.
- Bar M. E., Oscherov E. B., Damborsky M. P., Varela M. E., Mizdraji G. & Porcel E. (1992). Triatomismo del departamento San Luis del Palmar de la Provincia de Corrientes, Argentina. *Medicina (Bs As)*. **52**: 193-201.
- Bar M. E., Oscherov E. B. & Damborsky M. P. (1993). Presencia de *Triatoma sordida* Stål, 1859

- en ecotopos urbanos de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Rev. Saúde Pùb.* **27**: 117-122.
- Bar M. E., Oscherov E. B., Damborsky M. P., Alvarez B. M., Mizdraji G. & Avalos G. (1996). Infestación doméstica por *Triatoma infestans* y prevalencia de seropositivos al *Trypanosoma cruzi* en un área rural del Nordeste Argentino. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **29**: 549-555.
- Bar M. E., Damborsky M. P., Oscherov E. B., Alvarez B. M., Mizdraji G. & Avalos G. (1997). Infestación domiciliar por triatomíneos y seroprevalencia humana en el Departamento Empedrado, Corrientes, Argentina. *Cad. Saúde Pùb.* **13**: 305-312.
- Bar M. E., Damborsky M. P., Alvarez B. M., Oscherov E. B. & Mazza S. (1999). Triatomíneos silvestres detectados en nidos de aves de algunos departamentos de la provincia de Corrientes, Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* **58**: 43-50.
- Bar M. E. & Wisnivesky-Colli C. (2001). *Triatoma sordida* Stål 1859 (Hemiptera, Reduviidae: Triatominae) in palms of Northeastern Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **96**: 895-899.
- Bar M. E., Oscherov E. B., Damborsky M. P., Milano A. M. F., Avalos G. & Wisnivesky-Colli C. (2002). Triatomíneos involved in domestic and wild *Trypanosoma cruzi* transmission in Concepción, Corrientes, Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **97**: 43-46.
- Bar M. E., Milano A. M. F., Damborsky M. P., Oscherov E. B. & Avalos G. (2003). Patrones de alimentación y de defecación de *Triatoma rubrovaria* (Heteroptera: Reduviidae) bajo condiciones de laboratorio. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* **62**: 107-113.
- Barretto M. P., Albuquerque R. D. R. & Funayama G. K. (1969). Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do "*Trypanosoma cruzi*". XXXVI: investigações sobre Triatomíneos de palmeiras no município de Uberaba, MG, Brasil. *Rev. Bras. Biol.* **29**: 577-588.
- Bento D. N. C., Branco A. Z. C. L., Freitas M. R. & Pinto A. S. (1984). Epidemiologic studies of Chagas' disease in the urban zone of Teresina, State of Piauí, Northeastern Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **17**: 199-203.
- Brewer M., Garay M., Gorla D., Murua F. & Favot R. (1983). Caracterización de los estadios ninfales del género *Triatoma* Laporte 1833. II. *Triatoma platensis* Neiva 1913, *Triatoma delponte* Romaña y Ábalos 1947, *Triatoma sordida* Stål 1859. (Hemiptera, Reduviidae) *Rev. Soc. Entomol. Argent.* **42**: 219-241.
- Carcavallo R. U., Galindez Giron I., Jurberg J., Galvão C. & Lent H. (1997). Pictorial keys for tribes, genera and species of the subfamily Triatominae. pp. 107-244. En: *Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas*. Eds. Carcavallo R.U., Galindez Giron I., Jurberg J., Lent H. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, Brasil.
- D' Alessandro A., Barretto P., Saravia N. & Barretto M. (1984). Epidemiology of *Trypanosoma cruzi* in the oriental plains of Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **33**: 1084-1095.
- Damborsky M. P., Bar M. E. & Oscherov E. B. (2001). Detección de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) en ambientes domésticos y extradomésticos. Corrientes, Argentina. *Cad. Saúde Pùb.* **17**: 843-849.
- Diotaiuti L. & Dias J.C.P. (1984). Ocorrência e biologia do *Rhodnius neglectus* Lent 1954 em macaubeiras da periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **79**: 293-301.
- Feliciangeli M. D. & Torrealba J. W. (1977). Observaciones sobre *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) en su biotopo silvestre *Copernicia tectorum*. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **17**: 198-205.
- Forattini O. P., Ferreira O. A., da Rocha e Silva E. O., Rabello E. X. & Santos J. L. F. (1971). Aspectos ecológicos da Tripanossomose Americana. II Distribuição e dispersão local de triatomíneos em ecótopos naturais e artificiais. *Rev. Saúde Pùb.* **5**: 163-191.
- Forattini O.P., Ferreira Santos J.L., Ferreira O.A., da Rocha e Silva E.O., Ravello E.X. (1977). Aspectos

- ecológicos da Tripanossomíase Americana X. Dados populacionais das colônias de *Panstrongylus megistus* e de *Triatoma sordida* espontaneamente desenvolvidas em ecótopos artificiais. *Rev. Saúde Públ.* **11**: 362-374.
- Gamboa, J. (1963). Comprobación de *Rhodnius prolixus* extradomiciliario en Venezuela. *Bol. Ofic. Sanit. Panamer.* **65**: 18-25.
- Gamboa J. C. (1973). La población silvestre de *Rhodnius prolixus* en Venezuela. *Arch. Venez. Med. Trop. Parasit. Med.* **5**: 321-352.
- Gorla D. E. & Schofield C. J. (1989). Population dynamics of *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in the Argentine Chaco. *Med. Vet. Entomol.* **3**: 179-194.
- Henderson A., Galeano G. & Bernal R. (1995). Field guide to the palms of the Americas. Ed. Princeton University Press. New Jersey. U S A.
- Lent H. & Wygodzinsky P. (1979). Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull. Am. Mus. Nat. History.* **163**: 123-520.
- Martínez Crovetto R. & Piccinini B. G. (1950). La vegetación de la República Argentina. I. Los palmares de *Butia yatay*. *Rev. Invest. Agrícola.* **4**: 153-185.
- Morrone J. J. (2000). What is the Chacoan subregion? *Neotropica.* **46**: 51-68.
- Pizarro Novoa J. C. & Romaña C. (1998). Variación estacional de una población silvestre de *Rhodnius pallescens* Barber 1932 (Heteroptera: Triatominae) en la costa caribe colombiana. *Bull. Inst. Fr. Etudes Andines.* **27** (Supl. 2): 309-325.
- Rabinovich J. E. (1985). Ecología poblacional de los triatomíneos. pp. 121-147. En: *Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas*. Vol I. OPS. Servicio Nacional de Chagas, Ministerio de Salud y Acción Social. Eds. Carcavallo R. U.; Rabinovich J. E., Tonn R. J. Buenos Aires, Argentina.
- Rossell Reyes O. (1984). *A Comparison of the feeding performances of Rhodnius prolixus Stål and Rhodnius robustus Larrousse (Hemiptera: Triatominae)* [PhD Thesis]. London: University of London.
- Schweigmann N. J., Pietrokovsky S. M., Bottazzi V., Conti O., Bujas M. A. & Wisnivesky-Colli C. (1999). Estudio de la prevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* en zarigüeyas (*Didelphis albiventris*) en Santiago del Estero, Argentina. *Pan. Am. J. Pub. Health.* **78**: 371-377.
- Sokal R. R. & Rohlf F. J. (1995). Biometry. Ed. Freeman WH. New York. U S A.
- Teixeira A. R. L., Monteiro P. S., Rebelo J. M., Argañaraz E. R., Viera D., Lauria-Pires L., Nascimento R., Vexenat C. A., Silva A. R., Ault S. K. & Costa J.M. (2001). Emerging Chagas disease: Trofic network and cycle of transmission of *Trypanosoma cruzi* from palm trees in the Amazon. *Emerging Infectious Diseases.* **7** (Supl. 1): 100-112.
- Tonn R. J., Carcavallo R. U., Ortega R. & Carrasquero B. (1976). Métodos de estudio de Triatomíneos en el medio silvestre. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **16**: 146-152.
- Tonn R. J., Otero M. A., Mora E., Espínola H. & Carcavallo R. U. (1978). Aspectos biológicos, ecológicos y distribución geográfica de *Triatoma maculata*. (Erichson, 1848), (Hemiptera, Reduviidae), en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **18** (Supl. 1): 16-24.
- Whitlaw J.T. & Chaniotis B.N. (1978). Palm trees and Chagas' disease in Panamá. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **27** (Supl. 5): 873-881.

Recibido 13/12/2005
Aprobado 12/04/2006

Concentraciones letales (CL_{50} y CL_{95}) y dosis diagnósticas de fenitrotion y lambdacialotrina para *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) de los Pajones, estado Trujillo, Venezuela

Leslie Álvarez^{1*}, Yulimar Duran², Adalberto González², Jorge Suárez² & Milagros Oviedo²

Lutzomyia evansi es considerado un vector alternativo de la leishmaniasis visceral americana (LVA) en localidades de Colombia y Venezuela. En el estado Trujillo, Venezuela, estudios sobre la biología de esta especie han revelado que está asociada a los principales focos de LVA con tasas de infección natural de 0,23%, antropofilia y comportamiento intra y peridomiciliar, aspectos que nos motivaron a precisar bajo condiciones experimentales la respuesta de una población silvestre de esta especie frente a fenitrotion y lambdacialotrina para determinar las concentraciones letales 50 y 95 y dosis diagnósticas. La población de *L. evansi* fue capturada con trampa de Shannon en la localidad de Los Pajones, Estado Trujillo, por ser una localidad no sometida a presión con insecticidas. Los bioensayos fueron realizados por exposición de los insectos durante una hora a papeles impregnados con diferentes concentraciones de fenitrotion y lambdacialotrina y la mortalidad fue registrada luego de 24 horas. Las CL_{50} y CL_{95} con el insecticida fenitrotion fueron de 0,012% y 0,05% respectivamente y para lambdacyhalotrina una CL_{50} de 0,0004% y CL_{95} de 0,0017%. Los valores de las dosis diagnósticas obtenidos fueron de 0,189% para fenitrotion y 0,0063% para lambdacialotrina. Estos resultados son útiles para establecer comparaciones con otras poblaciones de *L. evansi* de áreas endémicas de LVA que estén sometidas a fuerte presión con insecticidas y así determinar las concentraciones que permitirían reducir la población de este vector e interrumpir la transmisión de la enfermedad.

Palabras claves: *Lutzomyia evansi*, control, insecticidas, leishmaniasis visceral.

INTRODUCCIÓN

Lutzomyia evansi (Diptera: Psychodidae) fue descrita por Núñez Tovar en 1924 a partir de ejemplares machos capturados en la localidad de Mariara, estado Carabobo. Su distribución en el Neotrópico ha sido referida para Centro América en Nicaragua, El Salvador, Honduras, Costa Rica y México (Young & Duncan, 1994, Ibáñez *et al.*, 2004) y en Suramérica en Colombia y Venezuela (Feliciangeli *et al.*, 1992, Young & Duncan, 1994). En Venezuela, *L. evansi* ha sido hallada en 14 de las 23 entidades

federales del país, en altitudes comprendidas entre los 100 y 1200 m snm y en una gran variedad de zonas de vida (Feliciangeli *et al.*, 1988, 1992).

La importancia de *L. evansi* en salud pública radica en el hecho de que ha sido implicada como transmisor de la Leishmaniasis visceral americana (LVA). Las primeras sugerencias de su implicación en la cadena epidemiológica fueron hechas por Pifano & Romero (1964, 1973) en localidades de Venezuela donde ocurrían casos de LVA y estaba ausente *Lutzomyia longipalpis*, transmisor comprobado de la enfermedad. Estas sugerencias fueron reforzadas por los hallazgos de Travi *et al.* (1990) al encontrarla naturalmente infectada con *Leishmania chagasi* en Colombia. Más recientemente ha sido encontrada con infección natural en focos de la región centro norte de Venezuela y en el estado Trujillo, región andina (Aguilar *et al.*, 1998; Feliciangeli *et al.*, 1999; Vivenes, 2000).

¹. Laboratorio Control de vectores, Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba", Universidad de Los Andes, Núcleo Trujillo,

². Laboratorio Biología de Lutzomyia, Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba", Universidad de Los Andes, Núcleo Trujillo Apdo. 214

*Autor de correspondencia: hleslieag@hotmail.com

En el estado Trujillo, región de los andes venezolanos, donde se registra una casuística relevante de la enfermedad (3,6 casos confirmados por año durante 25 años) con tasa de letalidad infantil de 2,1% (Oviedo *et al.*, 2002), los estudios sobre la fauna flebotomina asociada a los principales focos de LVA evidencian que la especie es dominante, fotoactiva y con actividad picadora tanto en el peridomicilio como en el intradomicilio (González, 1998). En esta misma entidad, Vivenes (2000) y Montoya *et al.* (2003) la señalan como la especie predominante y naturalmente infectada con parásitos de desarrollo suprapilórico, característico del subgénero *Leishmania*, con tasas de 0,23%. Estos aspectos nos hacen pensar en la potencialidad de *L. evansi* como transmisor de la enfermedad en esta entidad y la necesidad de plantear medidas para su control.

El control de la Leishmaniasis, tanto en su forma cutánea como visceral en Venezuela, se ha basado únicamente en la detección de casos y la aplicación de tratamientos, por cuanto la enfermedad, en su forma cutánea, se consideró rural y selvática, y en su forma visceral, como rural y esporádica (Mazzarri *et al.*, 1997); por ello no ha existido una campaña organizada para el control del vector, a pesar de que Scorza (1995) señaló el incremento de la leishmaniasis cutánea en áreas periurbanas y urbanas del estado Trujillo y Aguilar *et al.* (1998) han referido casos de LVA en la localidad periurbana de los Magallanes, en Valencia, estado Carabobo.

Estudios sobre el comportamiento de especies flebotominas frente a diferentes insecticidas han sido realizados en el país por Mazzarri *et al.* (1997) con una población de *L. longipalpis*, encontrando bajos niveles de resistencia a los insecticidas: fenitrotión, pirimiphos metyl y permetrina y susceptibilidad a deltametrina, lambdacialotrina, propoxur y malatión. En Trujillo, Scorza *et al.* (1995) señalan para *L. youngi* de la localidad de las Calderas, alta susceptibilidad al piretroide sintético lambdacialotrina y Álvarez *et al.* (2002) refieren que bajas concentraciones de este insecticida, son efectivas para el control de la especie.

El uso indiscriminado de estos químicos tanto en la agricultura como para el control de poblaciones de vectores de enfermedades de interés en salud pública, ha ocasionado la aparición de poblaciones de flebótomos resistentes a insecticidas;

así tenemos que el primer reporte de su aparición fue, en el Viejo Mundo, en *Phlebotomus argentipes* (Kaul *et al.*, 1978), por lo que se hace necesario conocer, antes de la aplicación de medidas de control, el comportamiento de las especies a controlar frente al insecticida que se desee utilizar. En este estudio nos proponemos conocer el comportamiento de una población silvestre de *L. evansi* de la localidad de Los Pajones en el estado Trujillo, Venezuela, frente a los insecticidas fenitrotión y lambdacialotrina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lutzomyia evansi

Los ensayos fueron realizados con una población silvestre de *L. evansi*, ya que en colonias de laboratorio se obtiene una baja productividad de adultos lo cual limita su estudio. Los ejemplares, fueron colectados en la localidad de Los Pajones, al Norte de la ciudad de Trujillo (9°30' 29" N y 70°33'19" O), con zona de vida de bosque seco tropical a una altitud de 110 msnm y una temperatura media anual de 27°C. Esta localidad fue seleccionada en virtud de que no es un área de producción agrícola y la aplicación continua de insecticida para el control de vectores fue suspendida en el año 1975 y tan solo dos rociamientos con propoxur y fentión fueron realizados en el año 2001, por lo cual las poblaciones de flebótomos de la localidad no están sometidas permanentemente a presión con insecticidas.

Las capturas de los ejemplares fueron realizadas quincenalmente desde agosto 2003 hasta agosto 2004 con una trampa de Shannon colocada en el peridomicilio de una vivienda, encendida entre las 19 y 20 horas. Los insectos fueron colocados en jaulas metálicas cubiertas de organdí y mantenidos en condiciones de humedad adecuada hasta su traslado hasta el laboratorio "Pablo Anduze" del Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba".

Bioensayos de susceptibilidad.

Los bioensayos fueron realizados siguiendo la metodología de exposición de los insectos a papeles de filtro impregnados con los diferentes insecticidas según lineamientos de la WHO (1981). Sin embargo se hizo una modificación en los dispositivos utilizados.

Estos eran constituidos por 2 envases de vidrio de 7,5 cm x 2,4 cm con un orificio terminal para introducir y retirar los flebótomos. En uno de ellos se colocaba el papel impregnado con el insecticida separándose del otro envase por una doble lámina de madera de 10 cm x 6,2 cm con dos aperturas circulares. Entre las láminas se insertaba una corredera móvil de plástico (0,5 mm) para impedir que por su pequeño tamaño, los flebótomos pudieran escapar a través de la malla de la corredera como sucede con los dispositivos tradicionales. Terminado el tiempo de exposición, al abrir la corredera de plástico, los insectos se hacían pasar del envase con los papeles tratados al envase sin papeles, para transferirlos posteriormente a los envases de recuperación (Álvarez, 1997; Rojas & Álvarez, 1998).

La impregnación de los papeles de filtro Whatman N° 1, se realizó siguiendo el protocolo de la WHO (1976) en el Laboratorio de Control de Vectores del Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba” de la Universidad de los Andes. Papeles de filtro Whatman N° 1 de 7,5 y 8 cm previamente identificados (nombre del insecticida, concentración y fecha de preparación) fueron impregnados con una inyectora de 1cc con un volumen de 0,66 mL de cada solución (de acuerdo a la tasa de absorción del papel de 3,6mg/cm²) descendiendo de izquierda a derecha en forma homogénea y posteriormente se dejaron al aire libre para su secado por 24 horas. Luego fueron almacenados en sobres de papel aluminio comercial indicando el nombre del producto químico, concentración y fecha, conservándolos bajo refrigeración a 0 °C hasta su uso.

Los insecticidas utilizados, fenitrotión y lambdacialotrina, grado técnico, fueron gentilmente cedidos por la Dra. Darjaniva Molina, del Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldón”, Maracay, Venezuela y a partir de ellos fueron preparadas soluciones de fenitrotión al 0,01% en aceite de oliva y de lambdacialotrina al 0,01% en aceite siliconado, previa dilución en 1mL de acetona y dejadas al aire libre por 24 horas para la evaporación de la acetona y luego enrasadas con el aceite. Posteriormente se realizaron diluciones para ensayar cuatro diferentes concentraciones para cada uno de los insecticidas.

Por cada insecticida se evaluaron cuatro concentraciones: para fenitrotión 0,008%, 0,01%, 0,03%, 0,05% y para lambdacialotrina 0,00009%,

0,00018%, 0,00035% y 0,0007%, que ocasionaron entre 2 y 98% de mortalidad. Cada una de ellas se evaluó mediante 3 réplicas utilizando en promedio 15 a 20 flebótomos por concentración, para un total de 1.451 ejemplares evaluados.

Antes de realizar los bioensayos, los flebótomos fueron colocados en tubos de prueba con papeles libres de insecticidas por un lapso de una hora para verificar que estuvieran en buenas condiciones. Una vez transcurrido el tiempo de pre-prueba los insectos se trasladaron a los tubos de exposición contentivos de papeles impregnados con los insecticidas por un periodo de exposición de una hora y seguidamente transferidos a tubos de recuperación con papeles libres de insecticidas, mantenidos dentro de una cava de anime bajo condiciones controladas de temperatura y humedad (24-26 °C y 80% HR), con solución saturada de sacarosa como dieta suplementaria. A las 24 horas post-exposición, fueron observados y registradas las mortalidades.

Se utilizó un grupo control con dos réplicas por bioensayo, para un total de 120 insectos por insecticida, tratados bajo las mismas condiciones que los grupos experimentales, con la diferencia que los papeles solo estaban impregnados con una solución de aceite de oliva y acetona para fenitrotión o aceite siliconado y acetona para lambdacialotrina.

Las mortalidades registradas fueron sometidas al análisis Probit (Finney, 1971) usando el programa Probit (Raymond, 1985), determinando la recta concentración-mortalidad lo cual permitió calcular los valores de las CL₅₀ y CL₉₅.

Los bioensayos fueron realizados por triplicado en tres días diferentes para cada insecticida, siguiendo la metodología anteriormente descrita.

RESULTADOS

Los bioensayos para la determinación de las concentraciones letales CL₅₀ y CL₉₅ para fenitrotión y lambdacialotrina fueron hechos con una población de hembras silvestres de *L. evansi*, procedentes de un área no sometida a presión de insecticidas, utilizando un total de 1.451 ejemplares de los cuales 804 fueron evaluados con fenitrotión y 647 con lambdacialotrina (Tabla I).

Tabla I. Número de ejemplares de *Lutzomyia evansi* de la localidad Los Pajones, estado Trujillo, Venezuela, expuestos a diferentes concentraciones de fenitrotión y lambdacyhalotrina.

fenitrotion	Nº de Insectos expuestos	lambdacyhalotrina	Nº Insectos expuestos
0.008%	235	0.00009%	198
0.01%	223	0.00018%	157
0.03%	171	0.00035%	145
0.05%	175	0.0007%	147
Total	804		647
Control	120	Control	120

Tabla II. Concentraciones letales (CL₅₀ y CL₉₅) con intervalos de confianza, pendiente y desviación estándar (DS) para fenitrotión y lambdacyhalotrina con *Lutzomyia evansi* de la localidad Los Pajones, estado Trujillo, Venezuela.

Insecticida	CL ₅₀ (%)	Intervalos de Confianza	CL ₉₅ (%)	Intervalos de confianza	Pendiente y DS	Total insectos expuestos
fenitrotión	0.012	0.011 - 0.013	0.052	0.044 - 0.065	2,6 ± 0,17	804
lambdacyhalotrina	0.00041	0.00037 – 0.00047	0.0017	0.0013 - 0.0024	2,6 ± 0,19	647

CL: Concentraciones letales DS: Desviación estándar IC: Intervalos de confianza p=0,05

Tabla III. Concentraciones letales CL₉₉ y dosis diagnósticas para hembras silvestres de *Lutzomyia evansi* de los Pajones estado Trujillo, con los insecticidas fenitrotión y lambdacyhalotrina.

Insecticida	CL ₉₉ (%)	Intervalos de confianza*	Dosis diagnósticas (%)
fenitrotión	0,09	0,07 – 0,12	0,189
lambdacyhalotrina	0,0031	0,0023 – 0,0048	0,0063

CL: Concentración letal *IC: Intervalos de confianza p=0,05

La CL₅₀ y CL₉₅ al igual que los intervalos de confianza y pendientes de la rectas de regresión, para los insecticidas ensayados se presentan en la Tabla II. Para fenitrotión se obtuvo una CL₅₀ de 0,012% y una CL₉₅ de 0,052%, y para lambdacialotrina se obtuvo una CL₅₀ de 0,00041% y una CL₉₅ de 0,0017%. Las pendientes para las curvas dosis mortalidad fueron de 2,7 ± 0,17 y 2,6 ± 0,19 para fenitrotión y lambdacialotrina respectivamente.

Al calcular las dosis diagnósticas, definidas como el doble del valor de la concentración que mata el 99,99% de la población de insectos expuestos (WHO, 1970), obtuvimos valores de 0,189% para fenitrotión y 0,0063% para lambdacialotrina (Tabla III).

En los grupos control no se observó mortalidad al exponerlos a papeles impregnados con los solventes durante todo el periodo de observación de los tratados.

DISCUSIÓN

En este trabajo investigamos el comportamiento de una población de *L. evansi* procedente de una localidad no sometida a la presión de insecticidas de uso frecuente como los organofosforados y los piretroides. Los resultados de estos bioensayos permitieron obtener una línea de referencia de susceptibilidad de esta especie al fenitrotión y la

lambdacialotrina, conocimiento útil a la hora de evaluar otras poblaciones de *L. evansi* de localidades endémicas para Leishmaniasis visceral americana (LVA), que pudieran estar sometidas a presión de insecticidas por ser áreas de producción agrícola.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado estudios relacionados sobre evaluación de insecticidas con *L. evansi*, tanto en Venezuela como en América, a pesar de ser una especie que se ha asociado con la transmisión de la Leishmaniasis visceral. Estudios previos con poblaciones de flebotominos han sido realizados con *L. youngi*, considerada principal vector de Leishmaniasis cutánea en los valles altos interandinos. En estos estudios Álvarez *et al.* (2002) evaluaron la susceptibilidad a cuatro insecticidas (DDT, malation, propoxur y lambdacialotrina), encontrando que lambdacialotrina fue el más tóxico para *L. youngi* que los otros insecticidas evaluados. Nuestros resultados son similares, lambdacialotrina resultó ser muy tóxico para *L. evansi*.

Comparando la mortalidad causada por diferentes concentraciones de los insecticidas fenitrotión y lambdacialotrina sobre *L. evansi*, podemos destacar que la dosis diagnóstica del piretroide es aproximadamente 30 veces inferior a la del organofosforado fenitrotión, lo que sugiere una alta toxicidad del piretroide para esta especie, lo cual sería de gran importancia al aplicar medidas de control.

Los valores de las pendientes de las rectas de regresión dosis-mortalidad para el fenitrotión ($2,6 \pm 0,17$) y lambdacialotrina ($2,6 \pm 0,19$) indicaron que los insectos de la población estudiada se comportaron en forma heterogénea frente a ambos insecticidas. Sobre la base de nuestros resultados y los reportados por Mazzarri *et al.* (1997) con otra especie flebotomina, lambdacyhalotrina podría ser el insecticida de elección para el control de esta especie.

Debido a que la casuística de LVA referida por Oviedo *et al.* (2002) para el estado Trujillo (92 casos durante el período 1975-2000 con una tasa de letalidad infantil del 2%) no justificaría un programa de control a gran escala, en aquellas localidades de mayor casuística, un programa de interceptación del vector mediante el uso de cortinas impregnadas con piretroides sería factible, tal como ha sido sugerido por Maroli & Majori (1991) y Perruolo (1995).

En conclusión, se estableció la línea base de susceptibilidad y dosis diagnósticas para una población silvestre de *L. evansi* del estado Trujillo, para dos insecticidas de uso común, datos estos de gran importancia ya que pueden ser considerados como referencia a la hora de establecer patrones de comparación con otras poblaciones de esta misma especie que estén sometidas a diferentes grados de presión con insecticidas, bien sea, para el control de plagas agrícolas o vectores de enfermedades de interés en salud pública.

Lethal concentrations (CL₅₀ & CL₉₅) and diagnostic doses of phenitrothion and lambdacyhalothrin on *Lutzomyia evansi* from Los Pajones, Trujillo State, Venezuela

SUMMARY

Lutzomyia evansi is considered an alternative vector of the American visceral *Leishmaniasis* (AVL) in some localities of Colombia and Venezuela. In Trujillo State, Venezuela, studies on the bionomics of this species revealed that it is associated with the main foci of AVL, with a natural infection rate of 0.23% and is anthropophylic with intradomiciliary and peridomiciliary behavior. Such aspects led us to investigate, under experimental conditions, the response of a wild population of this species against lambdacyhalothrin and phenitrothion, and to assess the lethal concentrations 50 and 95 (LC₅₀ & LC₉₅) and diagnostic doses. *L. evansi* was captured with Shannon trap in the locality of Los Pajones, Trujillo State, given the fact that this village has not been under insecticide pressure. Bioassays were done by 1-h insect exposure to impregnated papers at different concentrations. Mortality was recorded after 24 h. LC₅₀ and LC₉₅ with phenitrothion were 0.012% and 0.05%, respectively and for lambdacyhalothrin, LC₅₀ was 0.0004% and LC₉₅ 0.0017%, and diagnostic doses were 0.189% for phenitrothion and 0.0063% lambdacyhalothrin. These results are useful for establishing comparisons with other populations of *L. evansi* in endemic areas for AVL under a strong pressure of insecticides, and thus determine the concentrations that might reduce the vector population and interrupt disease transmission.

Key words: *Lutzomyia evansi*, control, insecticides, Leishmaniasis.

REFERENCIAS

- Aguilar C. M., Fernández E., Fernández R., Cannova, D., Ferrer E., Cabrera Z., *et al.* (1998). Urban visceral *Leishmaniasis* in Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **93**: 15-16.
- Alvarez L. (1997). *Susceptibilidad de hembras de Lutzomyia youngi (Diptera: Phlebotominae) de Trujillo, Venezuela al DDT, Malatión, Propoxur y Lambdacialotrina*. Tesis de Maestría. Mimeografiado. Universidad de los Andes. Núcleo Universitario "Rafael Rangel" Trujillo, Venezuela.
- Álvarez L., Scorza J. V., Molina D., Rojas E., & Bisset J. (2002). Determinación de dosis diagnóstica y tiempos letales en *Lutzomyia youngi* de Las Calderas, Trujillo-Venezuela a cuatro insecticidas. *Bol. Dir. Malariol. y San. Amb.* **42**: 33-38.
- Feliciangeli M. D. (1988). La fauna flebotomina (Diptera: Psychodidae) en Venezuela. I. Taxonomía y distribución geográfica. *Bol. Dir. Malariol. y San. Amb.* **28**: 99-113.
- Feliciangeli M. D., Arredondo C. & Ward R. (1992). Phlebotominae sandflies in Venezuela: Review of the verrucarum species group (in part) of *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) with description of a new species from Lara. *J. Med. Entomol.* **29**: 729-744.
- Feliciangeli M. D., Rodríguez N., De Guglielmo Z. & Rodríguez A. (1999). The re-emergence of American visceral *Leishmaniasis* in an old focus in Venezuela. II Vectors and Parasites. *Parasite.* **6**: 113-120.
- Finney D. (1971). *Probit Análisis*. The Syndics of Cambridge University. Press.
- Gonzalez A. (1998). Flebotomofauna asociada a focos de *Leishmaniasis* visceral en el Estado Trujillo. Tesis de grado. Mimeografiado Núcleo Universitario "Rafael Rangel", ULA – Trujillo.
- Ibáñez B. S., Rodríguez G., Gómez C., Ricardez J. (2004). First record of *Lutzomyia evansi* (Nuñez-Tovar 1924) in Mexico (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **99**: 127-129.
- Kaul S. M., Wattal B., Bhatnagar N. & Mathur K. K. (1978). Preliminary observations on the susceptibility status of *Phlebotomus argentipes* y *Ph. papatasi* to DDT in two districts of North Bihar (India). *J. Communic. Dis.* **10**: 208-211.
- Maroli M. & Majori G. (1991). Permethrin-impregnated curtains against phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) Laboratory and field studies. *Parassitology.* **33**: 399-404.
- Mazzarri M., Feliciangeli M. D., Maroli M., Hernández A. & Bravo A. (1997). Susceptibility of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) to select insecticides in an endemic focus of visceral *Leishmaniasis* in Venezuela. *J. Amer. Mosq. Contr. Assoc.* **13**: 335-341.
- Montoya-Lerma J., Cadena H., Oviedo M., Barazarte R., Travi B., Read P. & Lane R. (2003). Comparative vectorial efficiency of *Lutzomyia evansi* and *Lu. longipalpis* transmitting *Leishmania chagasi* parasites. *Acta Trópica.* **85**: 19-29.
- Oviedo M., González A. & Bendejú H. (2002). *Leishmaniasis visceral en el estado Trujillo*. Sociedad Venezolana de Microbiología. XXVII Jornadas Venezolanas de Microbiología "Dr. Rafael Bonfante-Garrido". Memorias Simposio de *Leishmaniasis*. Barquisimeto - Venezuela. 103-108.
- Pifano F. & Romero M. J. (1964). Investigaciones epidemiológicas sobre la *Leishmaniasis* visceral en la Isla de Margarita estado Nueva Esparta, Venezuela. *Gac. Med. Caracas.* **72**: 425-430.
- Pifano F. & Romero M. J. (1973). Comparación de un foco autóctono de *Leishmaniasis* visceral (Kala-azar) en la Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. *Arch. Venez. Med. Trop. y Parasit. Med.* **5**: 129-144.
- Perruolo G. (1995). Factibilidad de utilización de cortinas impregnadas con deltametrina para el control de flebótomos. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **25**: 295-305.
- Raymond M. (1985). Presentation d'un programme d'analyse log-probit por micro-ordinateur. *Cah. ORSTOM. Ser. Entomol. Med. Parasitol.* **22**: 117-121.

- Rojas E. & Álvarez L. (1998). Sandflies control: A practical device for testing insecticides. *Acta Parasit. Port.* **5**: 55.
- Scorza J. V., Rosario C.L., Scorza, J. V. jr & Rojas E. (1995). Susceptibilidad de hembras silvestres de *Lutzomyia youngi* de Trujillo, Venezuela a insecticidas sintéticos. *Bol. Dir. Malariol. San. Am.* **35**: 311-326.
- Travi B. L., Velez I. D., Brutus L., Segura I., Jaramillo C. & Montoya-Lerma J. (1990). *Lutzomyia evansi*, an alternate vector of *Leishmania chagasi* in a Columbian focus of visceral *Leishmaniasis*. *Trans. Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg.* **84**: 676-677.
- Vivenes M. A. (2000). *Lutzomyia evansi hospedero biológico de parásitos del complejo Leishmania mexicana*. Tesis Magíster Scientiarum en Protozoología. Mimeografiado. Centro de Investigaciones "José Witremundo Torrealba", Universidad de los Andes, Núcleo Trujillo.
- WHO (1970). Insecticides. 17. Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser. No 443.
- WHO (1976). Insecticides. 22 nd. Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser. No 585.
- WHO (1981). Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult blackflies, sandflies and biting midges to insecticides. WHO/VBC/8.810.
- WHO (1990). *Control of leishmaniasis*. Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser. No 793.
- Young D. & Duncan M. (1994). Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the west Indies, Central and America (Diptera: Psychodidae) (New World *Lutzomyia* sandflies). Mem. Am. Ent. Inst. "Published by Associated Publishers. P .O. Bpx. No. 140103. Gainesville, Florida 22614- 0103. USA.

Recibido el 08/09/06
Aceptado el 10/01/06

Mecanismos de resistencia a insecticidas organosintéticos en una población de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) del estado Aragua

Luisa Elena Figueroa Acosta¹, María Marín Álvarez¹, Enrique Pérez Pinto² & Darjaniva Molina de Fernández³

Anopheles aquasalis del estado Aragua se encuentra en zonas de desarrollo agropecuario cercanas al Lago de Valencia y recibe presión de insecticidas en forma indirecta, la misma dirigida al control de plagas agrícolas. En esta especie, se determinó el nivel de resistencia al insecticida piretroide lambdacialotrina y al organofosforado pirimifosmetil. Los bioensayos se realizaron con el método de las botellas tratadas con insecticidas, a fin de determinar el umbral de resistencia el cual es definido como la sobrevivencia de los mosquitos a 60 minutos de exposición a una dosis específica de los productos evaluados. De tal manera que para lambdacialotrina 0,1 µg/mL se obtuvo un TL₉₉ de 140,7 minutos y para pirimifosmetil 0,1 µg/mL se obtuvo un TL₉₉ de 93,0 minutos. Se identificaron mecanismos de resistencia IN VIVO con los sinergistas Butóxido de Piperonilo (PB) y S, S, S, Tributilfosforotriotioato (DEF) e IN VITRO con el sustrato beta naftil acetato. Las enzimas de multifunción oxidasa (MFO) y las esterasas confieren resistencia a estos grupos de insecticidas. Los resultados aquí obtenidos contribuirán al mejor conocimiento de la resistencia a insecticidas en esta especie de importancia médica.

Palabras claves: piretroides, organofosforados, sinergistas, oxidasas, esterasas.

INTRODUCCIÓN

El uso prolongado de insecticidas ha generado la aparición de resistencia en poblaciones de campo de vectores principales de malaria como *Anopheles darlingi* y *An. aquasalis* de los estados Sucre y Aragua (Molina *et al.*, 1997), del estado Monagas (Cortéz, 1999) y en otros vectores secundarios como *Anopheles albimanus* (Molina, 2000). Por lo que la resistencia es un factor que ha dificultado el control de la Malaria a través de la eliminación del vector (Molina *et al.*, 1997). Cuatro especies importantes, vectoras de Malaria en América, *An. albimanus*, *An.*

pseudopunctipennis, *An. darlingi* y *An. vestidipennis*, han demostrado resistencia a uno o más insecticidas, especialmente en áreas tratadas fuertemente con insecticidas (WHO, 1992). También ha sido reportada la resistencia de *An. darlingi* al DDT en Colombia (Suárez *et al.*, 1990).

La resistencia a insecticidas es un problema serio en el éxito de los programas de control de vectores, ya que se ha presentado en géneros de mosquitos de importancia médica. Fueron reportadas 520 especies de artrópodos resistentes a diferentes grupos de insecticidas (Georghiou, 1986). También la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1992) reportó 56 especies de *Anopheles* y 39 de Culicinos, además de triatominos y ácaros, con problemas de resistencia. El Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas (IRAC, 2005), reportan 21 especies de *Aedes* y 63 especies de *Anopheles*, resistentes a uno o varios insecticidas.

En la actualidad los agentes de control químico han dado lugar a la selección genética de individuos con el necesario componente bioquímico o de comportamiento para nulificar

¹ Universidad de Carabobo, Escuela de Bioanálisis. Final avenida Ruiz Pineda, La Morita, Edo Aragua, Venezuela.

² Dirección General Sectorial de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria, urb. Andrés Bello, calle Pérez Bonalde, Maracay, Edo Aragua, Venezuela.

³ Instituto de Altos Estudios en Salud Pública "Dr. Arnoldo Gabaldón" Ministerio de Salud. Avenida Bermúdez Sur No 93, Maracay, Edo Aragua, Venezuela.

Autor de correspondencia: darja12@cantv.net

los efectos tóxicos de los mismos. Para algunas especies plagas, la acción de los insecticidas es baja o ninguna (Saume, 1992). El fenómeno de la resistencia a insecticidas se ha expandido e intensificado considerablemente, pasando a ser un serio obstáculo en el desarrollo e incremento de la producción agrícola y la reducción de tratamientos para el control de vectores de enfermedades de muchos países (Georghiou, 1986).

El fenómeno de la resistencia se origina por la presencia de algunos individuos dentro de una población natural de genes, que regulan algunos mecanismos que hacen que los mismos toleren dosis de insecticidas mayores (Georghiou, 1986). Las modificaciones de las enzimas juegan un papel importante. Así la dehidroclorinasa es el factor de mayor importancia en la resistencia al DDT. Las enzimas carboxilesterasas, fosforotriesterasas, acetilcolinesterasa, glutatión-S-transferasas están envueltas en la resistencia a organofosforados y las oxidasas de función mixta (MFO) en la resistencia a piretroides y DDT. Las esterasas confieren resistencia tanto a organofosforados como a piretroides (Georghiou & Pasteur, 1978; Brogdon & Mc Allister, 1998a).

En tal sentido, la presente investigación se enfocó hacia un estudio que actualiza y caracteriza la resistencia de *An. aquasalis* de Puerta Negra estado Aragua, a insecticidas organosintéticos. Dicha especie es la misma que transmite malaria en el oriente del país, trabajos realizados por algunos autores desde el punto de vista ecológico (Grillet *et al.*, 1998) y genético (Conn *et al.*, 1993; Moncada & Conn, 1992), así lo demuestran. Lo cual significa que la presencia del vector en el estado Aragua, representa un alto riesgo de transmisión de la enfermedad, ante los casos importados de malaria que se presentan, los cuales provienen en su mayoría de los estados Sucre, Bolívar y Apure, con una mayor incidencia en el municipio Girardot, el cual limita con el Lago de Valencia (S. Valero, comunicación personal).

Se pretende con la presente investigación, generar aportes en la implementación de programas dirigidos al manejo integrado del vector, en los que el elemento químico sea utilizado con precisión en el momento que sea necesario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Insectos

La población objeto de este estudio fue la fauna anofelina del lago de Valencia, el cual limita con la localidad de Puerta Negra (10° 06'N, 67° 36'O), municipio Zamora del estado Aragua. La muestra estuvo comprendida por mosquitos adultos de *An. aquasalis*, colectados entre las 18:00 y 20:00 horas, sobre cebo humano, con una frecuencia de dos veces por semana por un periodo de tres meses (Mayo-Julio, 2004). No se contó con una cepa patrón susceptible de la especie.

Insecticidas

Fueron evaluados el piretroide lambda-cialotrina (70% P/P) y el organofosforado pirimifosmetil (89.08% P/P), así como los sinergistas butóxido de piperonilo (PB 90% P/P, sinergista oxidasa) y S, S, S tributilfosforotriotioato (DEF 99% P/P, sinergista esterasa). Los insecticidas grado técnico sin valor comercial fueron suministrados por Insecticidas Internacionales Compañía Anónima (INICA).

Método de exposición

Las pruebas de resistencia a insecticidas y mecanismos "IN VIVO" se realizaron siguiendo el método de las botellas del CDC (Brogdon & Mc Allister, 1998b, Center for Diseases Control, Atlanta, USA). Para ello se utilizaron botellas de vidrio tipo Wheaton de 250 mL, las cuales fueron usadas como cámaras de prueba para detectar la resistencia a los insecticidas en mosquitos adultos.

Tratamiento de las botellas con insecticidas

A partir de soluciones madres de 100 µg/mL de cada uno de los insecticidas a evaluar, se prepararon soluciones a las concentraciones de 5; 1 y 0,1 µg/mL con acetona. Para los sinergistas las soluciones preparadas, fueron de 1 µg/mL para PB y 5 µg/mL para DEF. Las botellas y sus tapas fueron etiquetadas con la identificación del insecticida empleado, concentración y fecha del tratamiento. Cada una de las botellas a utilizar en los bioensayos fueron tratadas previamente con 1 mL de acetona, posteriormente se le añadió 1 mL de la solución de insecticida a las botellas, las cuales fueron cerradas de

tal manera que toda la superficie interna de la botella quedara expuesta a la solución. Una vez que la fase líquida fue uniformemente distribuida y la acetona se evaporó completamente, las botellas y las tapas fueron colocadas invertidas sobre papel absorbente durante 8 horas en un gabinete oscuro. Las botellas controles del experimento solo fueron tratadas con acetona (Santamaría *et al.*, 2003).

Bioensayos

Los bioensayos se realizaron en condiciones de laboratorio, a una temperatura de $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ y humedad relativa de $75\% \pm 5$. Se expusieron aproximadamente 10 mosquitos adultos (♀) por botella y se evaluaron cuatro réplicas por cada concentración de insecticida y dos réplicas como grupo control (Brogdon & Mc Allister, 1998b). De esta manera se determinó el efecto del insecticida en función del tiempo de exposición. Se registró el número de insectos muertos a intervalos regulares de cinco minutos hasta que se obtuvo un 100% de mortalidad. Con esta misma metodología se procedió para los bioensayos con los sinérgicos.

Pruebas bioquímicas

Los mosquitos sobrevivientes a los 60 minutos de exposición a insecticidas en los bioensayos, fueron seleccionados para determinar mecanismos de resistencia “IN VITRO” a través del método bioquímico, para detectar actividad enzimática de la esterasa elevada, la cual se hizo por microtitulación (Brogdon *et al.*, 1989).

Los mosquitos fueron macerados en cada pocillo de la placa de microtitulación para obtener un homogenato por cada mosquito en 100 μL de búfer de fosfato de potasio (0,01 M; pH 7,5). Se colocaron 50 μL de cada homogenato en pocillos individuales con 50 μL de beta-naftil acetato. La preparación se incubó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Posteriormente se le agregó una alícuota de 50 μL de Dianisidina, se incubó por dos minutos y luego se realizó la lectura correspondiente con el lector de Elisa, modelo Multiskan Plus manufacturado por Fisher Scientific. Las absorbancias se leyeron utilizando el filtro de 450 nm. Se dejaron 6 pocillos para los controles, 3 para control positivo y 3 para control negativo. Para control positivo se prepararon: 10 mg de beta-naftil acetato que se disolvieron en 2

mL de acetona y se añadieron 18 mL de búfer fosfato. Para el control negativo se empleó solamente búfer fosfato.

Análisis de los resultados

El análisis de los resultados obtenidos en los bioensayos con insecticidas, se realizó por el modelo estadístico de regresión y correlación lineal o simple, empleando el programa Probit (Raymond, 1985). Dicho análisis arrojó el porcentaje de mortalidad (2-98%) y los tiempos letales (minutos) para cada concentración de insecticida y/o sinérgico. Estos datos fueron graficados en el programa Excel. Los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas de las esterasas elevadas, fueron analizados en función de los valores de absorbancias según el siguiente criterio: de 0 a 1,4 se consideraron homocigotos susceptibles (SS), de 1,4 a 2,0 heterocigotos resistentes (SR) y superiores a 2, homocigotos resistentes (RR). Para la determinación de la frecuencia génica se tomó en cuenta el número de individuos susceptibles, asumiendo que la población está en equilibrio genético (Peiris & Hemingway, 1990). Se determinó la frecuencia de genes resistentes según la fórmula de Hardy-Weinberg (Solomón *et al.*, 1996).

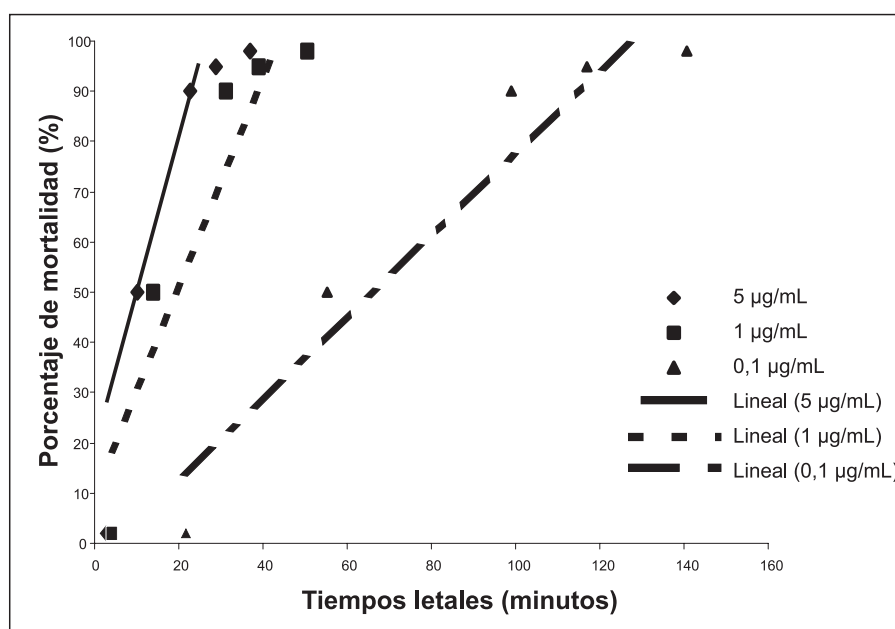
RESULTADOS

En la Tabla I, se presentan los resultados obtenidos para los insecticidas organosintéticos lambdacialotrina y pirimifosmetil, encontrándose que para las concentraciones 5 y 1 $\mu\text{g/mL}$ de lambdacialotrina se obtuvieron valores de TL_{98} inferiores al umbral de resistencia, mientras que se detectó resistencia con la concentración 0,1 $\mu\text{g/mL}$, ya que el valor de TL_{98} fue de 140,74 minutos. También, los resultados obtenidos con el insecticida pirimifosmetil evidencian que la cepa estudiada es resistente a este insecticida ya que los valores de TL_{98} fueron de 69,5 y 93,0 minutos, a las concentraciones de 1 y 0,1 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente; mientras que se obtuvo un valor de TL_{98} inferior al umbral de resistencia a la concentración de 5 $\mu\text{g/mL}$. Las tendencias de los datos tiempo-mortalidad construidas sobre la base de la determinación de los tiempos letales discriminativos para la población evaluada con ambos insecticidas, se presentan en las Fig. 1 y 2. A fin de confirmar la resistencia detectada en los bioensayos, se realizaron pruebas para la determinación del mecanismo de resistencia “IN VIVO”, evaluándose una muestra

Tabla I. Tiempos letales para insecticidas organosintéticos ($\mu\text{g/mL}$) en adultos de *Anopheles aquasalis* de Puerta Negra, estado Aragua; determinados a través de bioensayos con el método de botellas CDC, Atlanta, USA.

Insecticidas	Dosis $\mu\text{g/mL}$	N	TL ₅₀ (min)	IC	TL ₉₈ (min)	IC
Lambdacialotrina	5	111	10.2	8.6-11.8	37.1	7.4-64.1
	1	108	14.0	11.6-15.9	50.5	37.9-87.9
	0,1	117	55.3	51.1-59.3	140.7	123.2-169.3
Pirimifosmetil	5	69	24.1	22.1-26.0	44.9	39.5-54.8
	1	90	25.0	22.5-27.5	69.5	59.5-86.3
	0,1	84	33.2	29.9-36.7	93.0	74.8-131.7

Dosis= $\mu\text{g/mL}$; N=número de insectos evaluados; TL= Tiempo letal en minutos; IC= Intervalo de confianza a 95% (minutos).

**Fig. 1. Tendencia de los datos tiempo-mortalidad, en adultos de *Anopheles aquasalis* expuestos a botellas tratadas con tres concentraciones de Lambdacialotrina.**

de mosquitos colectados del campo, con una mezcla del insecticida lambdacialotrina con el sinergista PB, así como también una mezcla del insecticida pirimifosmetil con el sinergista DEF, pudiéndose notar que los valores de TL₅₀ y TL₉₈ disminuyeron, en relación con el efecto tóxico observado con el insecticida solo (Tabla II y III). Fueron determinados los factores de sinergismo (FS) (Vassena *et al.*, 2000), obteniéndose valores superiores a 1 (FS= 3,1 y 1,9 respectivamente).

El efecto sinérgico se puede apreciar mejor en las Fig. 3 y 4, donde las líneas que representan a los insecticidas solos, están a la derecha y las

que representan mezclas de los insecticidas con los sinergistas, se observan desplazados a la izquierda. Se determinó que está operando la multifunción oxidasa (MFO) como mecanismo de detoxificación para el insecticida lambdacialotrina.

DISCUSIÓN

Por medio de bioensayos en botellas tratadas con insecticidas, en las que fueron expuestos adultos de *An. aquasalis* de la localidad Puerta Negra, Aragua, se demostraron niveles significativos de resistencia al piretroide lambdacialotrina y al organofosforado

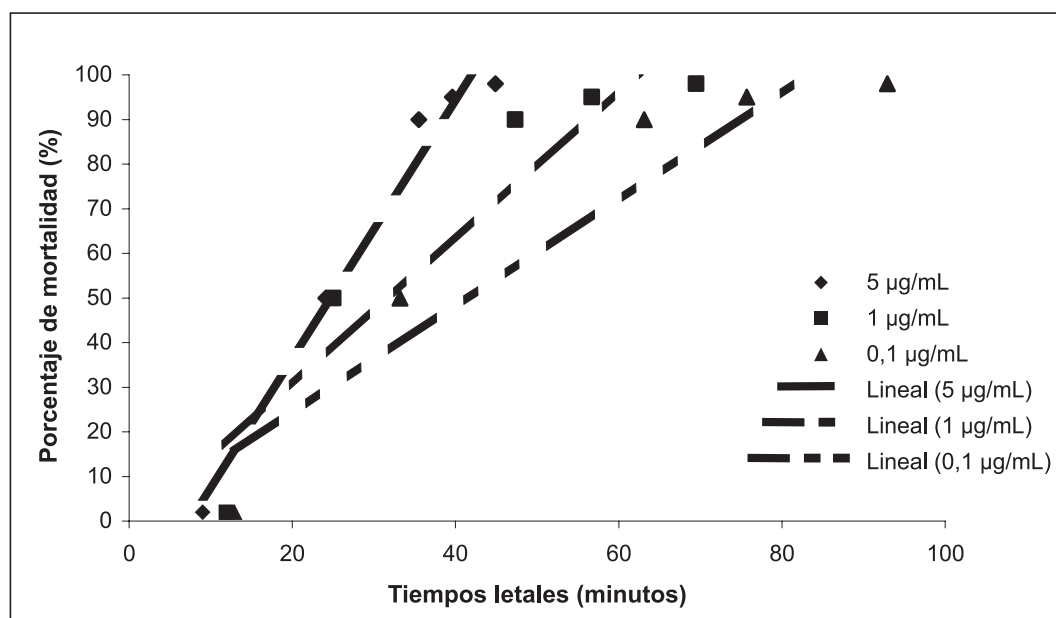


Fig. 2. Tendencia de los datos tiempo-mortalidad, en adultos de *Anopheles aquasalis* expuestos a botellas tratadas con tres concentraciones de Pirimifosmetil.

pirimifosmetil, usados en la localidad experimental para el control de plagas agrícolas. En relación con la resistencia encontrada a lambdacialotrina, los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con los señalados por Molina *et al.* (1997), en los que se reportó resistencia de *An. aquasalis* de la localidad de Caño Rico del estado Aragua (cercana a la localidad experimental, Puerta Negra) a algunos insecticidas piretroides, entre los que se menciona lambdacialotrina. No obstante, en mosquitos de la misma especie de Río de Agua y Putucual del estado Sucre, se reportó susceptibilidad a este insecticida. Esto pudiera explicarse porque las poblaciones de *An. aquasalis* de Aragua comparten ecosistemas agrícolas y la lambdacialotrina es un insecticida muy utilizado en agricultura por lo que se infiere que la especie

recibe presión en forma indirecta ya que la misma es dirigida a plagas agrícolas. La resistencia detectada, en la presente investigación para el organofosforado pirimifosmetil, muestra que la población de *An. aquasalis* se ha seleccionado para este insecticida, ya que los resultados de Molina *et al.* (1997), reportaron como susceptible a *An. aquasalis* de Aragua y de Sucre a insecticidas organofosforados, entre los que se incluye el pirimifosmetil, sin embargo, este insecticida fue el que presentó el mayor valor de Tiempo letal 50 (50,61 minutos) en relación con los insecticidas malation, fenitrothion y fention, cuyos valores de TL₅₀ oscilaron entre 6,7 y 10,2 minutos; lo cual evidencia que ya se estaba desarrollando resistencia incipiente a este insecticida. La resistencia de *An. aquasalis* de Puerta Negra, a pirimifosmetil podría

Tabla II. Respuesta de adultos de *Anopheles aquasalis* de Puerta Negra estado Aragua, al insecticida Lambdacialotrina solo, y mezclado con el sinergista PB, aplicando el método de botellas del CDC, Atlanta, USA.

Insecticidas	Dosis µg/mL	N	TL ₅₀ (min)	IC	TL ₉₈ (min)	IC
Lambdacialotrina	0,1	117	55.3	51.1-59.3	140.7	123.2-169.3
Lambdacialotrina + PB	0,1 + 1	87	18.0	16.2-20.2	41.3	32.7-65.0
Factor de sinergismo (FS)	3.1					

Dosis=µg/mL; N=número de insectos evaluados; TL= Tiempo letal en minutos; IC= Intervalo de confianza a 95% (minutos); FS= TL₅₀ Insecticida/ TL₅₀ insecticida+PB.

Tabla III. Respuesta de adultos de *Anopheles aquasalis* de Puerta Negra estado Aragua, al insecticida Pirimifosmetil solo, y mezclado con el sinergista DEF, aplicando el método de botellas del CDC, Atlanta, USA.

Insecticidas	Dosis	N	TL ₅₀	IC 4	TL ₉₈ 5	IC
Pirimifosmetil	0,1	84	33.2	29.9-36.7	93.0	74.8-131.7
Pirimifosmetil + DEF	0,1 + 5	117	17.8	16.3-19.5	36.6	30.6-49.2
Factor de sinergismo* (FS)	1.9					

Dosis= µg/mL, N= Número de insectos evaluados, TL₅₀= Tiempo letal 50 (minutos), IC= Intervalo de confianza a 95% (minutos), TL₉₈= Tiempo letal 98 (minutos), *FS= TL₅₀ Insecticida/ TL₅₀ Insecticida+DEF.

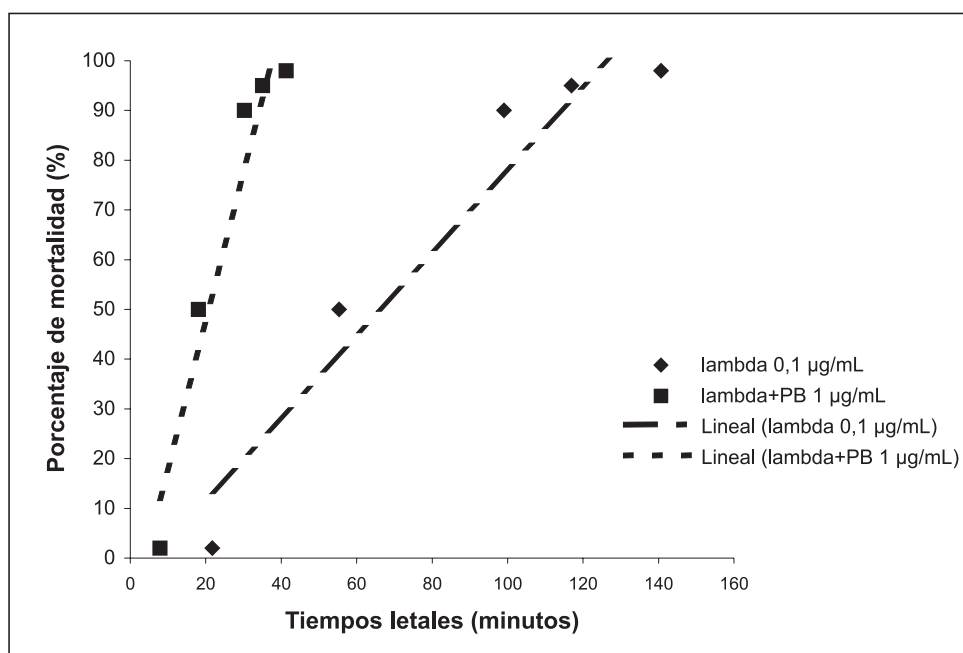


Fig. 3. Tendencia de los datos tiempo-mortalidad, en adultos de *Anopheles aquasalis* expuestos a botellas tratadas con el insecticida Lambdacialotrina y con mezcla Lambdacialotrina + PB 1.

también obedecer a la exposición de estos insectos a la acción de insecticidas utilizados en labores agrícolas, por cuanto la zona es de fuerte explotación agropecuaria y ese insecticida no ha sido nunca usado por organismos de salud para el control de la especie. Los resultados obtenidos concuerdan con reportes de Georghiou (1982), quien señala que la resistencia múltiple a insecticidas organoclorados, organofosforados y carbamatos en *Anopheles albimanus* de la zona costera del Pacífico de Centro América, se debe a la implicación de los insecticidas utilizados en el control de las plagas agrícolas demostrada por evidencias como la aparición de resistencia en los mosquitos antes de la aplicación de compuestos químicos para el control de los insectos vectores.

También estudios realizados sobre la distribución de la resistencia a los organofosforados y carbamatos en zonas rurales de Guatemala con *An. albimanus*, señalaron que la resistencia a estos insecticidas se había presentado por el uso intensivo de insecticidas agrícolas (Brogdon *et al.*, 1989).

En relación con los mecanismos de resistencia identificados, la resistencia a lambdacialotrina en *An. aquasalis* de Puerta Negra fue fuertemente reducida por la acción sinergista del butóxido de piperonilo, sugiriendo que las enzimas de multi función oxidasas (MFO) están involucradas en la resistencia a piretroides. (Wilkinson, 1983; Oppernorth, 1985; Ffrench-Constant *et al.*, 1998).

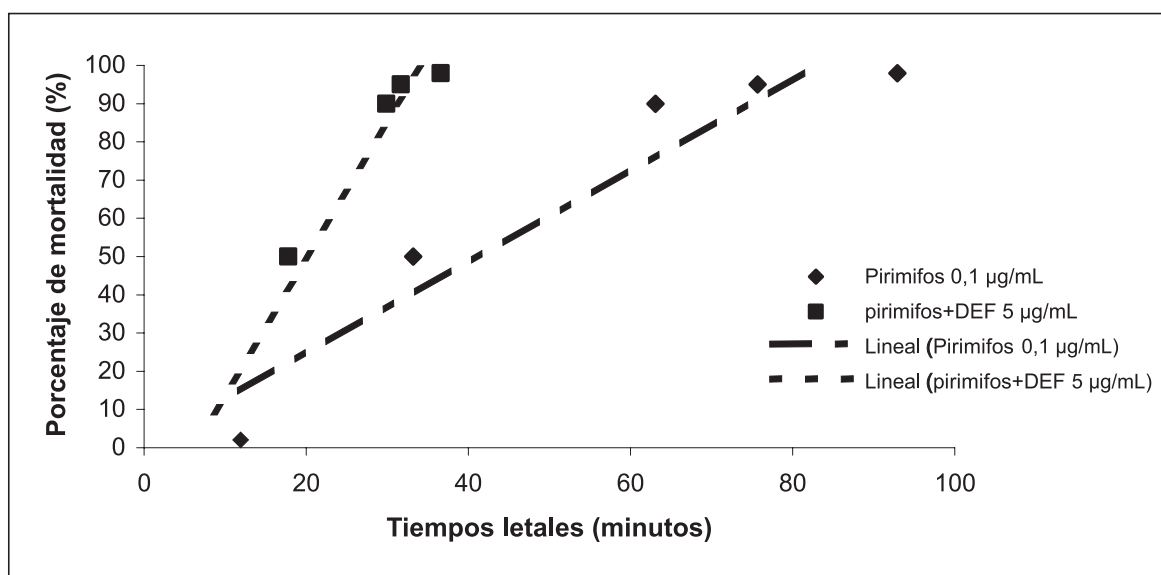


Fig. 4. Tendencia de los datos tiempo-mortalidad, en adultos de *Anopheles aquasalis* expuestos a botellas tratadas con el insecticida Pirimifosmetil y con la mezcla Pirimifosmetil 0.1 µg/mL + DEF 5 ug/mL.

También fue identificado el mecanismo de esterasas elevadas IN VIVO e IN VITRO en insectos resistentes al Pirimifosmetil, encontrándose concordancia con lo reportado por Brogdon *et al.* (1989), con *An. albimanus* de Guatemala, sobre la resistencia a los organofosforados y carbamatos, identificaron el mecanismo de resistencia de esterasas elevadas, operando en las poblaciones.

No obstante, Ocampo *et al.* (2000) trabajando con poblaciones larvales de *An. pseudopuntipennis* de áreas agrícolas del Valle del Río Cauca de Colombia, encontraron que aunque los mosquitos resultaron susceptibles a los insecticidas malation, permetrina y propoxur, las pruebas bioquímicas revelaron un incremento en el nivel de enzimas en algunos individuos que previamente estuvieron expuestos a insecticidas agrícolas, por lo que la presencia de individuos menos susceptibles valida la hipótesis de que esas áreas han tenido una historia de uso fuerte de insecticidas y no excluye la presencia de poblaciones menos susceptibles en el pasado. Esto es también posible que previo a la exposición a DDT, aplicado por agencias públicas tuvo un efecto selectivo, produciendo un aumento en MFO, el cual puede afectar también la susceptibilidad a insecticidas piretroides. También Quiñonez *et al.* (2003) señalan los altos niveles de alfa y beta esterasas encontrados en poblaciones de *Anopheles darlingi*

de Antioquia, Colombia, los cuales no se asocian con la susceptibilidad observada en los bioensayos con insecticidas. En el presente trabajo, hubo correspondencia entre la resistencia encontrada en los bioensayos y el hallazgo de esterasas elevadas y MFO como los mecanismos de resistencia identificados.

La importancia de la información obtenida radica en que se establecieron dosis referenciales, para lambdacialotrina y pirimifosmetil, lo cual facilita monitorear la resistencia a insecticidas en *An. aquasalis* a escala focal. Además se están implementando metodologías estandarizadas a través de ensayos bioquímicos, que permiten establecer líneas base no existentes en esta especie para esta localidad y a su vez se ha revelado la presencia de mecanismos de resistencia.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Centro de Investigaciones de Enfermedades Endémicas y Saneamiento Ambiental y Personal del laboratorio entomológico de malaria del IAESP-Ministerio de Salud. La investigación recibió apoyo del proyecto FONACIT N° 2000001898 y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad de Carabobo, recibió apoyo logístico del Instituto de Altos Estudios en

Salud Pública "Dr. Arnoldo Gabaldón" (IAESP- Ministerio de Salud).

Mechanisms of resistance to organosynthetic insecticides in a population of *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) from Aragua State

SUMMARY

Anopheles aquasalis from Aragua State is found in zones of developed agriculture and fishing near Valencia Lake and receives indirect pressure from the insecticides which are directed against agricultural pests. The level of resistance to the insecticides lambda-cyhalothrin and pirimiphosmethyl was determined. Bioassays were carried out using the bottle method in which mosquitoes are exposed to glass bottles treated with insecticides, estimating as a threshold of resistance the survival of mosquitoes after 60-min exposure to a specific dose of the products evaluated. Mosquitoes turned out to be resistant to the pyrethroid lambda-cyhalothrin at 0.1 µg/mL with TL_{98} at 140.7 min and to the organophosphate primiphosmethyl 0.1 µg/mL with TL_{98} at 93.0 min. Resistance mechanisms were detected IN VIVO using the synergists piperonyl butoxide (PBO) and S, S, S, Trisbutylphosphotrioxate and in IN VITRO using the substrate betanaphthylacetate. Multifunctional oxidases (MFO) and esterases are suggested as cause of resistance in these groups of insects. The values of the slope were between 3.7 and 7.6 which means that the population response was stable and homogenous. The results obtained contribute to a better knowledge of the insecticide resistance of this medically important species.

Key words: pyrethroids, organophosphates, synergists, oxidases, esterases.

REFERENCIAS

Brogdon W., Beach R., Stewart J. & Castanaza L. (1989). Análisis por ensayo de microplaca de la distribución de la resistencia de *Anopheles albimanus* a organofosforados y carbamatos en Guatemala. *PAHO Bull.* **106**: 139-152.

Brogdon W. & Mc Allister J. (1998a). Insecticide resistance and vector control. *Synopses.* **4**: 605-613.

Brogdon W. & Mc Allister J. (1998b). Simplification of adult mosquito bioassays through use of time mortality determinations in glass bottles. *JAMCA* **14**: 159-154.

Conn J., Cockburn F. & Mitchell E. (1993). Population differentiation of the malaria vector *An. aquasalis* using mitochondrial DNA. *J. Hered.* **84**: 248-253.

Cortéz G. Lilia. (1999). *Evaluación de la resistencia a insecticidas y sus mecanismos en Anopheles (Nyssorhynchus) aquasalis Curry, 1932 (Diptera: Culicidae) del Municipio Bolívar del estado Monagas, Venezuela*. Tesis para optar a Licenciatura en Biología. Escuela de Ciencias, Departamento de Biología. Universidad de Oriente.

Ffrench-Constant R. H., Pittendricgh B., Vaughan A. & Anthony N. (1998). Why are there so few resistance-associated mutations in insecticide target genes?. *Phil. Trans. Roy. Soc. London.* **(B) 353**: 1685-1693.

Georgiou G. P. (1982). In: *Resistance to insecticides used in public health and agriculture*. Proc. Int. Workshop. 22-28 February. Colombo. Sri Lanka: Nat. Sci. Council. Sri Lanka.

Georgiou G. P. (1986). In: *Pest Resistance: Strategies and tactics for management*. National Academy Press. Washington, D.C. 14-43.

Georgiou G. P. & Pasteur N. (1978). Electrophoretic esterase patterns in insecticide-resistant and susceptible mosquitoes. *J. Econ. Ent.* **71**: 201-205.

Grillet M. E., Montañez H. & Berti J. (1998). Estudio biosistemático y ecológico de *An. aquasalis* y sus implicaciones para el control de la malaria en el Estado Sucre: II-Ecología de sus criaderos. *Bol. Dir. Mal. y San. Amb.* **38**: 38-46.

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) (2005). *Insecticide resistance management*. En: <http://www.irc-online.org> (Consulta: Noviembre 17, 2005).

- Molina de Fernández D. (2000). *Ecología y Comportamiento de Anopheles albimanus de Aragua frente a insecticidas químicos*. Tesis doctoral Postgrado en Entomología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela.
- Molina de Fernández D., Saume F., Bisset J., Hidalgo O., Anaya W., González J., Salas O. & Barazarte H. (1997). Establecimiento de la línea de susceptibilidad de la fase adulta de *Anopheles* Spp. a insecticidas químicos. *Bol. Dir. Mal. y San. Amb.* **37**: 55-69.
- Moncada A. & Conn J. (1992). Apolytene chromosome study of four populations of *Anopheles aquasalis* from Venezuela. *Genome*. **35**: 327-331
- Ocampo C., Brogdon W., Orrego C., Toro G. & Montoya-Lerma J. (2000). Insecticide susceptibility in *Anopheles pseudopunctipennis* from Colombia: Comparison between bioassays and biochemical assays. *JAMCA*. **16**: 331-338.
- Oppenoorth F. J. (1985). *Biochemistry and genetics of insecticide resistance, comprehensive insect physiology, Biochemistry and pharmacology* 12, Ed by Kerkut GA and Gilbert LI, Pergamon press, Oxford, pp 731-774.
- Peiris H. & Hemingway J. (1990). Mechanisms of insecticide resistance in a temephos-selected *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) strain from Sri Lanka. *Bull. Ent. Res.* **80**: 453- 457.
- Quiñones M., Rojas W., Amud M., Calle D., Ruíz F. & Rúa G. (2003). Evaluación de la susceptibilidad de *Anopheles darlingi* a Lambda cihalotrina (ICON) en una zona de alta transmisión malárica en el Departamento de Antioquia (Colombia). *Rev. Lat. San. Amb. ICOSAN*. **2**: 6- 11.
- Raymond M. (1985). Présentation d'un programme d'analyse log-probit pour microordinateur. *Série Entomol Médical Parasitol*. **23**: 117- 121.
- Saume, F. (1992). *Introducción a la química y toxicología de insecticidas*. Aragua, Venezuela, Industria Gráfica Integral. 184-206.
- Santamaría E., Munstermann L. & Ferro C. (2003). Aproximación al método CDC para determinar susceptibilidad a insecticidas en vectores de leishmaniasis. *Biomédica*. **23**: 115-121.
- Solomon E., Berg L., Martín D. & Villee C. (1996) *Biología de Villee*. Tercera edición en español. Edit. Interamericana Mc Graw-Hill. Mexico.
- Suárez M., Quiñonez M., Palacios J. & Carrillo A. (1990). First record of DDT resistance in *Anopheles darlingi*. *JAMCA*. **6**: 72-74.
- Vassena C., Picollo M. & Zerba E. (2000). Insecticide resistance in Brazilian *Triatoma infestans* and Venezuelan *Rhodnius prolixus*. *Med. Vet. Entomol*. **14**: 51- 55.
- WHO (1992). *Vectors resistance to pesticides*. Fifteenth Report of the WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. Technical reports series. **818**: 17-24.
- Wilkinson, C. F. (1983). Role of mixed function oxidases in insecticide resistance *Pest Resistance to pesticides* (Ed. by G. Georgiou & T. Saito).

Recibido 29/10/2005
Aprobado 24/03/2006

Concordancia del diagnóstico malárico en Venezuela, año 2003

José Luis Cáceres G.^{1*}, Elena Vaccari², Evangelina Campos², Evencia Terán², Ana Ramírez², Carmen Ayala² & María Itriago²

Un estudio comparativo de diagnósticos de gota gruesa y extendido para malaria entre los niveles Regional y Central fue realizado con la finalidad de determinar su concordancia. De las 306.810 muestras tomadas y examinadas durante el año 2003 a nivel nacional, fueron evaluadas 19.414, representando 34% de las positivas y 3% de las negativas. La clasificación correcta de los diagnósticos maláricos fue de 99,6%, con concordancias de $k=0,99$ (óptima) para la evaluación de los "diagnósticos" y de $k=0,98$ (óptima) para las especies *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum*. Cuando se presentaron infecciones mixtas la concordancia alcanzó $k=0,66$ (buena).

Palabras claves: Concordancia, malaria, diagnóstico, gota gruesa, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela durante el año 2003, fueron diagnosticados 31.719 casos de malaria, 31.186 producidos en 17 entidades federales del país y 533 provenientes del exterior. Esta cifra acumulativa representó un aumento de 1.975 casos (6,64%), respecto al año 2002. Los estados que aportaron la mayor parte de la morbilidad fueron: Bolívar 13.982 (44,8%), Amazonas 9.262 (29,7%), Sucre 5.266 (16,9%) y Delta Amacuro 1.489 casos (4,8%). El índice epidémico (I.E.) acumulativo de Venezuela ascendió a 125, lo cual representó 25% de incremento respecto al nivel esperado en el septenio 1996-2002. La Incidencia Parasitaria Anual (IPA) del año 2003 en el país se situó en 1,2 casos por un mil habitantes. La fórmula parasitaria al finalizar el año fue de 82,6% de infecciones maláricas a *P. vivax*, 16,7% a *P. falciparum*; 0,6% a infecciones mixtas (*P. falciparum* y *P. vivax*) y 0,1 a *P. malariae*. Cerca de un tercio de los casos de la enfermedad ocurrieron en menores de 15 años de edad y el género masculino fue el de mayor afectación (63,1%) (Cáceres, 2004).

Además de la IPA, obtenida en los reportes de los Servicios Regionales de Salud Ambiental,

existen dos indicadores utilizados por el Programa Control de la Malaria, con el fin de observar la eficacia de las actividades médicas del mismo: el Índice de Láminas Positivas (ILP) y el Índice Anual de Exámenes de Sangre (IAES). La IPA constituye el más importante indicador que refleja la tasa de incidencia anual, por cada un mil habitantes. El ILP expresa la eficacia de la toma de muestras hemáticas (gota gruesa y extendido) para el diagnóstico de la malaria y no tiene una relación directa con la IPA. Mientras mayor sea el ILP, mayor será la eficacia de la toma de muestras, porque se estará realizando la gota gruesa en aquellos pacientes que realmente presentan los síntomas característicos de la malaria (Blanco *et al.*, 2002).

Los anteriores indicadores reflejan el trabajo de toma de láminas y su respectivo diagnóstico, los cuales son de vital importancia si tenemos en cuenta que el buen diagnóstico de la enfermedad depende de una buena toma de la muestra. El Programa Control de la Malaria en Venezuela, aunque no presenta un "manual de procedimientos" para el control de calidad del diagnóstico parasitológico de la malaria, mantiene la norma de revisar el total de láminas diagnosticadas como positivas y diez por ciento de los diagnósticos negativos realizados en todo su territorio, el cual es efectuado en el Laboratorio Central del Programa con sede en la ciudad de Maracay. Dicho trabajo se realiza inmediatamente después de recibido el material y en un plazo no mayor a un mes, los resultados y sugerencias se hacen llegar a las regiones para sus respectivos

¹ Universidad de Carabobo, Sede: La Morita, Estado Aragua, Venezuela.

² Dirección de Salud Ambiental - MSDS. Maracay, Estado Aragua, Venezuela.

*Autor de correspondencia: jolucag@cantv.net

controles de Centros Diagnósticos y de su personal. En el nivel local, como parte del informe mensual de cada Unidad Operativa de Campo (Demarcación), se debe enviar el material hematológico requerido a su sede regional, para su respectivo control de calidad, a dicho nivel.

La repetibilidad o fiabilidad es la concordancia o la uniformidad de los resultados obtenidos cuando se repite un examen. En nuestro caso, dos personas que observan independientemente las mismas muestras de gota gruesa y extendido, y llegan al mismo diagnóstico, alcanzan el máximo nivel de repetibilidad. Por lo general se obtienen mejores resultados de repetibilidad en el trabajo de laboratorio, donde pueden controlarse más las condiciones de operación (un solo observador, aparatos de alta precisión, calibrados, con poco uso, utilización de muestras de control, ambiente libre de perturbaciones mayores y horario apropiado). Por lo tanto, en investigaciones clínicas y epidemiológicas, raramente se obtiene el nivel de repetibilidad que se encuentran en las investigaciones de laboratorio. En general, un nivel bajo de repetibilidad tiende a atenuar las verdaderas correlaciones entre eventos. Esto limita la utilidad de las investigaciones poblacionales, porque afecta la investigación de las asociaciones entre los factores de riesgo y los daños de la salud (OPS/OMS, 1999).

Existen diversas maneras de verificar la concordancia de los resultados entre lecturas de un mismo evento o comparar métodos diagnósticos diferentes, y de esta manera, estimar el error cometido en la determinación. El tipo de dato, ya sea que se exprese en forma de variable dicotómica (positivo/negativo), categórica (normal/anormal), en medidas continuas (miligramos, mililitros) o títulos de serología, es uno de los elementos que influye en la forma de analizar los resultados. En general, independientemente del tipo de datos producidos por las pruebas de diagnóstico, los médicos tienden a reducirlos a variables dicotómicas o expresadas en categorías para darles más utilidad práctica. Los resultados pueden presentarse por medio de una tasa global de concordancia observada entre los examinadores o por medio del índice Kappa (k) (OPS/OMS, 1999).

Diagnosticar a tiempo malaria puede ser vital para el enfermo, ya que la aparición de

complicaciones está muy relacionada con la demora e instauración del tratamiento (Turrientes & López-Vélez, 2000). Dado el riesgo de morir que se presenta en cada caso de malaria a *P. falciparum*, en áreas de transmisión y receptivas a dicha especie, la certeza en el diagnóstico debe ser de cien por ciento.

El objetivo de esta investigación fue conocer el grado de concordancia de los resultados diagnósticos emitidos a nivel regional, al compararlos con la experticia del laboratorio de referencia nacional y verificar la confiabilidad de los mismos a dicho nivel.

MATERIALES Y METODOS

La investigación fue basada en la información epidemiológica, el material de muestras y los correspondientes resultados diagnósticos del control de calidad regional, recibidos de las 24 zonas geográficas en que se divide el país para el programa antimalárico. Mensualmente los Servicios de Endemias Rurales o sus equivalentes, deben enviar al Laboratorio Central, 100% de las láminas positivas y 10% de sus láminas negativas escogidas aleatoriamente. El Laboratorio Central cuenta con un grupo de microscopistas con muchos años de experiencia, quienes realizan la evaluación en cuanto a concordancia diagnóstica y calidad técnica de las muestras hemáticas. El material es revisado en su totalidad, realizando los respectivos diagnósticos “a ciegas”, para luego reportar mensualmente por escrito, una relación comparativa de los resultados regionales y de los obtenidos en la reedición del diagnóstico de las láminas para cada uno de los estados, junto a las observaciones inherentes a la calidad de las láminas.

En los países donde existe un programa antimalárico, el método más usado en el laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad es el examen microscópico de gota gruesa, el cual requiere una infraestructura adecuada para mantener insumos y equipos así como la capacitación de los trabajadores de salud y garantía continua de la calidad del servicio (WHO, 1993). La toma de muestra se realiza mediante la punción con una lanceta estéril. Se puede extraer la sangre del dedo índice de la mano izquierda, del lóbulo de la oreja (práctica usual en Venezuela), si es suficientemente carnoso o, en el

caso de niños pequeños, del dedo gordo del pie o del talón. Si se opta por el dedo índice, la punción se hará en el costado del dedo en lugar de la yema (OPS/OMS, 1988). Se recoge una gota de sangre en un portaobjetos y con otro se realiza la extensión en capa fina. Para la gota gruesa se recogen 3 ó 4 gotas sobre un portaobjetos y con la esquina de otro se unen en movimientos rápidos, extendiéndose en una capa gruesa y uniforme. Los frotis finos se hacen de manera estándar. La gota gruesa permite analizar una mayor cantidad de sangre, facilitando la detección de parasitemias bajas y un ahorro de tiempo en el examen, aunque al romperse los eritrocitos resulta difícil la identificación de especie (Turrientes & López-Vélez, 2000).

Los errores observados en las evaluaciones de muestras hemáticas para malaria son categorizados en: errores de “diagnóstico”, cuando una lámina siendo positiva o negativa en el nivel evaluado, resulta negativa o positiva en el nivel evaluador y error de “especie”, cuando no presenta concordancia con el diagnóstico positivo de especie reportado por el laboratorio que está siendo evaluado (Gutiérrez & Arróspide, 2003).

En cuanto a la búsqueda de concordancia entre los resultados de los diagnósticos practicados en el nivel regional y los realizados en el nivel central, la manera de expresar la fiabilidad es por medio del índice *k*, el cual constituye un avance en relación con la tasa general de concordancia porque es un indicador de concordancia ajustada, que toma en cuenta la concordancia casual. El índice *k* representa la proporción de concordancia además de la esperada por casualidad y su valor varía de “-1” (desacuerdo total) a “+1” (concordancia total). El cero indica lo mismo que las lecturas hechas por casualidad, observándose valores de: <0,00= “mala”, 0,00-0,20= “pobre”, 0,21-0,40= “sufrible”, 0,41-0,60= “regular”, 0,61-0,80= “buena”, 0,81-0,90= “óptima” y 1,00= “perfecta” (OPS/OMS, 1999).

RESULTADOS

En Venezuela para el año 2003, de un total aproximado de 25.934.467 habitantes, 7.582.301 (29,2%) de la población, se encontraban bajo riesgo malárico, de los cuales 6,8% distribuidos en áreas

de alto riesgo, 2,7% en áreas de mediano riesgo y 90,5% en áreas de bajo riesgo. Fue considerada como población expuesta para contraer malaria, a los residentes de los municipios con transmisión de la enfermedad comprobada, de acuerdo a investigaciones epidemiológicas registradas en los últimos dos años (Cáceres & Vela, 2003).

Según las áreas epidemiológicas de riesgo para la transmisión de la enfermedad, en el área originalmente sin malaria, fueron tomadas y examinadas 0,76% de las muestras del país, con un resultado de 0,17% de los casos a nivel nacional. El área de alto riesgo malárico con 61,6% de las láminas tomadas, reportó 87,4% de los casos. El área considerada por su IPA como de mediano riesgo, contribuyó con 12,9% de las láminas y 6,5% de los casos, mientras que en la gran población asentada en los municipios de bajo riesgo a transmisión de la enfermedad, produjeron 24,7% de los exámenes hematológicos y 5,9% de la casuística malárica. También son importantes los datos referidos a los indicadores IPA, IAES, ILP, sobretodo en el área de alto riesgo, presentando una IPA muy elevada (54,15/1.000 hab.), si tomamos en cuenta que en su rango, el menor valor es de 10/1.000. Igualmente se observa en esa misma área, una excelente cobertura de población (36,9%) en búsqueda de febriles, a expensas de los estados Bolívar, Sucre y Amazonas, los cuales en conjunto acumulan 85,2% del total de exámenes de gota gruesa realizados para el descarte de malaria en sus territorios. Sin embargo la situación no es satisfactoria en cuanto al ILP, donde sólo 14,67% de los exámenes son positivos a la enfermedad (Tabla I).

El rango de láminas positivas entre las entidades federales va desde 1% en el estado Yaracuy, hasta 86% en el estado Mérida. En los estados con mayor número de gotas gruesas tomadas, ocasionadas debido al criterio de hacer el examen a todo febril consultante, los índices de positividad son de 22% en Amazonas, 12% en Bolívar y 5% en Sucre, lo cual refleja la baja eficacia del indicador y de la eficiencia del programa en dichas áreas (Tabla II).

Del total de 306.810 gotas gruesas examinadas en el país, 31.719 fueron positivas y 27.5091 negativas. De las positivas, 34% fueron recibidas para su control de calidad y de las negativas sólo 3%. De las 24 entidades federales que

Tabla I. Indicadores maláricos según áreas de riesgo. Venezuela, 2003

Datos	Area Originalmente sin malaria	Areas de riesgo malárico*				Total Venezuela
		Alto	Mediano	Bajo	Total	
Población	18.352.166	512.234	208.232	6.861.835	7.582.301	25.934.467
Láminas Examinadas	2.350	189.029	39.695	75.736	304.460	306.810
Láminas Positivas	54	27.735	2.065	1.865	31.665	31.719
Especie	<i>P. falciparum</i>	1	4.659	156	481	5.297
	<i>P. vivax</i>	53	20.216	2.003	3.928	26.200
	<i>P. malariae</i>	0	32	0	32	32
	Inf mixtas	0	173	6	11	190
IAES	0,01	36,90	19,06	1,10	4,02	1,18
ILP	2,30	14,67	5,20	2,46	10,40	10,34
IPA	0,00	54,15	9,92	0,27	4,18	1,22

*Riesgo Malárico según IPA: Alto >10, Mediano >5<10, Bajo <5; IAES= Índice anual de exámenes de sangre; ILP= Índice de láminas positivas; IPA= Índice parasitológico anual.

Tabla II. Indicadores maláricos según Entidad Federal. Venezuela, 2003

ESTADO	POBLACION	CASOS	Láminas tomadas	IPA	ILP	IAES
ARAGUA	1.564.433	42	118	0,03	35,59	0,01
CARABOBO	2.287.661	56	221	0,02	25,34	0,01
BOLIVAR	1.411.086	14.130	114.928	10,01	12,29	8,14
MONAGAS	625.417	171	2.508	0,27	6,82	0,40
ANZOATEGUI	1.204.604	184	2.393	0,15	7,69	0,20
LARA	1.672.201	33	318	0,02	10,38	0,02
PORTUGUESA	898.602	166	3.780	0,18	4,39	0,42
TRUJILLO	599.763	24	3.643	0,04	0,66	0,61
BARINAS	623.532	247	4.598	0,40	5,37	0,74
DISTRITO	2.288.390	265	762	0,12	34,78	0,03
SUCRE	849.577	4.805	103.241	5,66	4,65	12,15
FALCON	775.710	0	0	0,00	0,00	0,00
GUARICO	671.844	107	2.623	0,16	4,08	0,39
YARACUY	551.305	4	410	0,01	0,98	0,07
ZULIA	3.463.132	570	7.638	0,16	7,46	0,22
TACHIRA	1.080.866	70	5.972	0,06	1,17	0,55
APURE	524.330	179	6.245	0,34	2,87	1,19
MERIDA	783.601	19	22	0,02	86,36	0,00
AMAZONAS	103630	9.670	4.3275	93,31	22,35	41,76
MIRANDA	2.797.371	31	78	0,01	39,74	0,00
N. ESPARTA	407.780	37	176	0,09	21,02	0,04
COJEDES	284.184	8	59	0,03	13,56	0,02
DELTA A.	153.808	1.420	3.654	9,23	38,86	2,38
VARGAS	311.640	23	158	0,07	14,56	0,05
TOTAL	25.934.467	31.719	306.810	1,24	10,51	1,18

Tabla III. Porcentaje de cumplimiento de envío al laboratorio central de muestras hemáticas diagnosticadas según lugar de toma de lámina. Venezuela, 2003

ESTADO	Láminas positivas			Láminas negativas			Total		
	Diagnosticadas	Enviadas	%	Diagnosticadas	Enviadas	%	Diagnosticadas	Enviadas	%
ARAGUA	42	21	50	76	5	7	118	26	22
CARABOBO	56	55	98	165	136	82	221	191	86
BOLIVAR	13.915	7.370	52	101.013	2.748	3	11.4928	10.118	9
MONAGAS	171	137	80	2.337	248	11	2.508	385	15
ANZOATEGUI	184	179	97	2.209	2.056	93	2.393	2.235	93
LARA	33	33	100	285	168	59	318	201	63
PORTUGUESA	166	166	100	3.614	322	9	3.780	488	13
TRUJILLO	24	23	96	3.619	62	2	3.643	85	2
BARINAS	247	0	0	4.351	0	0	4.598	0	0
DISTRITO	265	263	99	497	229	46	762	492	65
SUCRE	4.795	253	5	98.436	130	0	103.231	383	0
FALCON	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GUARICO	107	107	100	2.516	273	11	2.623	380	14
YARACUY	4	4	100	406	38	9	410	42	10
ZULIA	570	568	100	7.068	895	13	7.638	1.463	19
TACHIRA	70	70	100	5.902	589	10	5.972	659	11
APURE	179	175	98	6.066	580	10	6.245	755	12
MERIDA	19	18	95	3	0	0	22	18	82
AMAZONAS	9.363	1.370	14	33.912	0	0	43.275	1.370	3
MIRANDA	31	5	16	47	0	0	78	5	6
N. ESPARTA	37	37	100	139	30	22	176	67	38
COJE DES	8	8	100	51	17	33	59	25	42
DELTA	1.410	0	0	2.244	0	0	3.654	0	0
VARGAS	23	4	17	135	22	16	158	26	16
TOTAL	31.719	10.866	34	275.091	8.548	3	306.810	19.414	6

conforman el país, 21 (87,5%) enviaron láminas para ser reexaminadas. Sólo ocho (33%) de los estados cumplieron con la norma de enviar la totalidad de sus láminas positivas, sin embargo las 993 muestras evaluadas representan 3,13% del total de exámenes de gota gruesa positivas en Venezuela durante el año 2003. Otro grupo de seis estados enviaron entre 95 y 99 por ciento de sus láminas positivas, aumentando a 1.706 (5,4%) la cifra de exámenes recibidos para ser reexaminados. Es importante resaltar que de los cuatro estados con mayor incidencia malárica, sólo fueron recibidos 8.993 (28,4%) exámenes positivos, discriminados de la siguiente manera: Delta Amacuro (0), Sucre (5%), Amazonas (14%), y Bolívar (52%).

De los exámenes diagnosticados como negativos en las entidades regionales, 12 estados

(50%), cumplieron con diez y más del porcentaje exigido por el programa, sin embargo, siete (29,2%), no enviaron láminas negativas para su correspondiente chequeo. En total el Laboratorio Central, durante el año 2003 recibió 19.414 muestras, 10.866 diagnosticadas positivas a parásitos maláricos y 8.548 negativas (Tabla III).

Del total de láminas evaluadas, fueron encontrados 174 (0,89%) errores, de los cuales 73 (42%), fueron de diagnóstico y 101 (58%) de especie. Los errores de diagnóstico a su vez contemplaron 52 (71,2%) casos en los cuales siendo la lámina positiva a parásitos maláricos para el Nivel Central, habían sido diagnosticadas negativas en el Nivel Regional y en 21 (28,8%) casos el error obedeció a dar como positivas, muestras que estaban negativas respectivamente (Tabla IV).

Tabla IV. Errores de diagnóstico de malaria y de especies de parásitos. Venezuela, 2003

Estado	ERRORES			Tipos de Error												
	Total	Diagnostico	Especie	Diagnósticos: Nivel Central ©, Nivel Regional ®												
				Pv © a Neg ©	Pf © a Neg ©	Neg © a Pv ©	Neg © a Pf ©	Pv © a Pf ©	Pf © a Pv ©	Pv © a (Pv-Pf) ©	Pv © a (Pf-Pm) ©	Pf © a (Pv-Pf) ©	(Pv -Pf) © a Pv ©	(Pv -Pf) © a Pf ©	Pf © a Pm ©	Pv © a Pm ©
Carabobo	3	1	2		1								1	1		
Bolívar	105	27	78	13	10	3	1	26	29	8	1	3	5	4	1	1
Monagas	1	1	-			1										
Anzoátegui	12	12	-	1		11										
Portuguesa	1	1	-			1										
Dto. Capital	12	11	1	11									1			
Sucre	4	4	-	4												
Zulia	5	4	1	2	1	1							1			
Táchira	2	1	1			1			1							
Amazonas	22	9	13	1	8			5	7							1
Miranda	5	-	5										5			
Cojedes	1	1	-				1									
Vargas	1	1	-			1										
TOTAL	174	73	101	32	20	19	2	31	37	8	1	4	13	4	1	2
Pv: Plasmodium vivax Pf: Plasmodium falciparum Pm: Plasmodium malariae Neg: negativo																

Pv: *Plasmodium vivax* Pf: *Plasmodium falciparum* Pm: *Plasmodium malariae* Neg: negativo

De los errores de especie, las mayores confusiones ocurrieron en 31 casos (30,7%), donde siendo positivas a *P. vivax*, fueron diagnosticadas como positivas a *P. falciparum* en el Nivel Regional, e igualmente en 37 casos (36,6%) de *P. falciparum* cuyo diagnóstico fue positivo a *P. vivax* para dicho Nivel. El estado Bolívar produjo 60,3% del total de los errores en el país, presentando 27 (37%) de los errores diagnósticos y 78 (77,2%) de los errores de especie. Los estados: Aragua, Lara, Trujillo, Guárico, Yaracuy, Apure, Mérida y Nueva Esparta, no presentaron errores en las muestras hemáticas que enviaron. A pesar de haber sido el de mayor número de errores, el estado Bolívar sólo presentó 1,03% de equívocos en las láminas enviadas, cifra inferior a las proporciones de los estados: Carabobo y Amazonas (1,6%), Distrito Capital (2,43%), Vargas (3,8%) y Miranda (100%) (Tabla IV).

La concordancia de la reexaminación de los diagnósticos positivos o negativos en los dieciocho estados que enviaron muestras de este tipo, varió desde $k=0,86$ hasta $k=1$, es decir, los resultados en la

escala de concordancia Kappa fueron de clasificación óptima para once estados y perfecta para siete. En este último grupo se debe destacar al estado Apure, por no presentar ningún error en las 755 muestras examinadas (Tabla V).

Dieciocho estados presentaron concordancia “perfecta” y dos “óptima”, al observar los resultados de las láminas con diagnósticos de *P. vivax*. En el caso de *P. falciparum*, dieciséis estados presentaron concordancia “perfecta” y cuatro “óptima”. Cuando los diagnósticos fueron de infecciones mixtas, las concordancias resultaron perfectas en dieciséis estados, sin embargo se presentaron concordancias tipo “mala” en Miranda, “buena” en Bolívar, Distrito Capital y Zulia y “óptima” en Carabobo.

Al buscar la “validez” de los diagnósticos maláricos realizados en las entidades federales, comparados con el Laboratorio Central como patrón de experticia, se podría mencionar que el nivel regional, está en capacidad de detectar los individuos verdaderamente positivos, es decir, diagnosticar los

Tabla V. Concordancia de diagnósticos maláricos. Venezuela 2003

Entidad	% Error	Diagnóstico	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	I. Mixta
Aragua	0,00	1	1	1	1
Carabobo	1,60	0,98	1	0,96	0,89
Bolívar	1,03	0,99	0,97	0,97	0,69
Monagas	0,26	0,99	1	1	1
Anzoátegui	0,53	0,96	1	1	1
Lara	0,00	1	1	1	1
Portuguesa	0,20	0,99	1	1	1
Trujillo	0,00	1	1	1	1
Distrito Capital	2,43	0,95	1	1	0,63
Sucre	1,04	0,97	1	1	1
Guárico	0,00	1	1	1	1
Yaracuy	0,00	1	1	1	1
Zulia	0,34	0,99	1	1	0,76
Táchira	0,3	0,99	1	0,99	1
Apure	0,00	1	1	1	1
Mérida	0,00	-	1	1	1
Amazonas	1,60	-	0,97	0,97	1
Miranda	100	-	-	-	<0,01
Nueva Esparta	0,00	1	1	1	1
Cojedes	4,00	0,91	1	1	1
Vargas	3,80	0,86	1	1	1
VENEZUELA	0,89	0,99	0,98	0,98	0,66

correctamente enfermos en 99,52% de los casos. La capacidad de detectar a los negativos verdaderos o diagnosticar correctamente los individuos sanos, estaría en el orden de 99,75%. La proporción de enfermos entre las personas con resultados positivos diagnosticados en el nivel regional es de 99,8% y la proporción de individuos sanos entre las personas con resultados negativos de 99,4%. La concordancia general de los errores tipo diagnóstico y para las especies *P. vivax* y *P. falciparum* fue “óptima”, y sólo “buena” cuando se presentan infecciones mixtas. La clasificación correcta de los diagnósticos maláricos en el país es de 99,6%.

DISCUSION

El presente estudio permitió determinar que la concordancia general para el “diagnóstico” ($K=0.99$) y para la “identificación de especie” *P. vivax* y *P. falciparum* ($k=0.98$) fue “óptima”. Estos resultados difieren de previos antecedentes (Bergonzoli & Rivers, 2000) reportados de Costa Rica y Nicaragua,

donde encontraron una concordancia “perfecta” en el diagnóstico microscópico de gota gruesa realizados a nivel local y sus respectivos controles de calidad a nivel central. Así mismo, en un estudio evaluativo del diagnóstico de gota gruesa realizado en la zona endémica de Junín en el Perú (Solari *et al.*, 2002) el índice de concordancia ($k=0.94$) fue menor que el encontrado en Venezuela en este estudio; pero concuerda con los resultados reportados por Zerpa *et al.* (2001) en un estudio comparativo de la prueba Optimal con la gota gruesa, donde la concordancia hallada entre los niveles central y local fue de $k=0.94$ para *P. falciparum* y de $k=1$ para *P. vivax*. Otros estudios comparativos de pruebas diagnóstico han reportado una concordancia “pobre” ($k=0.28$) cuando se evaluó la prueba ICT (immunochromatographic test) Malaria P. f./P. v., con la gota gruesa, en una zona endémica de la Amazonia Peruana (Llanos-Zavalaga *et al.*, 2002).

Es bien conocida la limitación del diagnóstico por gota gruesa y extendido coloreado con Giemsa en la detección de parasitemias mixtas

(Turrientes & López-Vélez, 2.000). En el país a pesar del alto porcentaje de clasificación correcta de los diagnósticos malaricos (99.6%), la concordancia entre los resultados de infecciones mixtas (*P. vivax* y *P. falciparum*) solo alcanzó la categoría de “buena” ($k=0.66$), esto significa que los errores de diagnóstico de infecciones mixtas alcanzan 16.8 % del total de desaciertos por especie (17/101), Tabla IV.

En Venezuela, el diagnóstico de las distintas especies de *Plasmodium* que causan la malaria humana es realizado por Bioanalistas, Inspectores Sanitarios y en su gran mayoría por personal obrero o empleado denominado “microscopista”, con un nivel medio de instrucción, entrenados mediante cursos teórico-prácticos en el Laboratorio Central o en los laboratorios de cada Región, en un tiempo no menor a tres meses.

Múltiples factores operativos afectan la calidad en el diagnóstico, entre otros: el uso reiterativo de láminas con diagnóstico negativo anterior (recicladas y lavadas), las fallas técnicas sobre la cantidad de sangre en gota gruesa y extendido, la fijación de la gota y mal desfibrinación de la misma. Distantes de los Laboratorios Regionales de malaria, en nuestras áreas selváticas, mineras y agrícolas, las condiciones para la toma y diagnóstico de las muestras en la mayoría de los casos se hace difícil. Por una parte, el uso reiterativo de láminas con diagnóstico negativo anterior, recicladas y lavadas, las fallas técnicas sobre cantidad de sangre en gota gruesa y extendido, fijación de la gota y mal desfibrinación de la misma y por otra parte la preparación de colorantes vencidos o una sola preparación diaria para la jornada de trabajo, con agua sin determinación de sus cualidades físico-químicas, dificultan la calidad y coloración de la muestra lo cual está en relación directa con el acierto en la observación microscópica.

Aunque en nuestro país existen las normas de un “diagnóstico parasitológico de la malaria”, las mismas no están contenidas en un manual de procedimiento que establezca un verdadero control de calidad, que obligue a su cumplimiento. Por lo tanto los envíos de material y la puesta en práctica de las observaciones posteriores, quedan a discreción de la Jefatura del Servicio Regional, que como se observó en la investigación, generalmente retardan u omiten su responsabilidad con el programa antimalárico. Ante estas circunstancias, el Programa Control de la Malaria,

debería contar con su Manual de Procedimiento que establezca actividades y mecanismos de flujo de información entre los distintos niveles de diagnóstico malárico y que permita ser más estricto en la solicitud de los resultados de los exámenes de gota gruesa en las regiones, (quizás no en la proporción actualmente vigente para las láminas positivas, para lo cual se debería crear un sistema de muestreo aleatorio) y en la supervisión, evaluación y actualización del personal que realiza el diagnóstico malárico en el país, con la finalidad de evitar muertes, que pudieran ser consecuencia de errores diagnósticos.

Concordance of the diagnosis of malaria in Venezuela in 2003.

SUMMARY

A comparative study of the results obtained by parasitological methods (thick blood film and thin blood film Giemsa stained) routinely used for diagnosis of malaria in laboratories at the regional and central level, was made with the purpose of investigating their concordance. Of the 306,810 samples taken during the year 2003 at the national level, 19,414 were evaluated, representing 34% of the positives and 3% of the negatives. The correct classification of the malaria diagnostics was 99.6% with a concordance of $K=0.99$ (optimum); for the evaluation of the diagnostics and $K=0.98$ (optimum) for the species *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum*. When mixed infections turned up, concordance reached $K=0.66$ (good).

Key words: Concordance, Malaria, diagnosis, thick blood film, Venezuela.

REFERENCIAS

- Bergonzoli G. & Rivers JC. (2000). Eficacia terapéutica de diferentes regímenes antimaláricos en la región fronteriza de Costa Rica y Nicaragua. *Rev. Panam. Salud Pública.* 7: 366-370.
- Blanco S., Colombo E., Flores L. & Canales D. (2002). Aplicación del biolarvicide *Bacillus sphaericus* 2.362 (Griselesf) para el control de la malaria en un área de salud de la República de Honduras. *Rev. Cubana Med. Trop.* 54: 134-141.

- Cáceres J. L. & Vela F. (2003). Incidencia malárica en Venezuela durante el año 2002. *Bol. Mal. Salud Amb.* **43**: 53-58.
- Cáceres J. L. (2004). Estado Sucre: El éxito antimalárico de Venezuela en el año 2003. *Bol. Mal. Salud Amb.* **44**: 51-55.
- Gutiérrez S. & Arróspide N. (2003). *Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnóstico de Malaria*. Serie de Normas Técnicas N° 39. Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.
- Llanos-Zavalaga F., Villacorta J., Reyes R., Lecca L., Mendoza D., Mayca J. & Velásquez J. (2002). Evaluación de la prueba ICT Malaria P.f./P.v. (AMRAD) para la detección de *P. falciparum* y *P. vivax* en una zona endémica de la Amazonía Peruana. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública* **19**: 39-42.
- OPS/OMS (1988). *Diagnóstico de Malaria*. Publ. Cient. 512. Washington, DC, 20037, EUA.
- OPS/OMS (1999). *Métodos de investigación epidemiológica en enfermedades transmisibles*. Escuela de Malariología y San. Amb. **1**: 1-11. Venezuela.
- Solari L., Soto A., Mendoza D. & Llanos A. (2002). Comparación de las densidades parasitarias en gota gruesa de sangre venosa versus digitopunción en el diagnóstico de Malaria Vivax. *Rev. Med. Hered.* **13**: 140-143.
- Turrientes M. & López-Vélez R. (2000). *Aspectos prácticos del diagnóstico de laboratorio y profilaxis de la malaria*. Unidad de Medicina Tropical y Parasitología Clínica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. Disponible en: [www. Seimc.org/control/revi_Para/malaria.htm](http://www.Seimc.org/control/revi_Para/malaria.htm)
- WHO (1993). *Implementation of the Global Malaria Control Strategy: report of a WHO*. Study Group. Geneva: WHO; 1.993. WHO Technical Report Series N° 839.
- Zerpa N., Pabón R., Gaviria M., Medina M., Cáceres JL., Baker M. & Noya O. (2001). Evaluación de la prueba optimal en el diagnóstico de malaria en Venezuela. *J. Bras. Patología.* **37**: 1-337.

Recibido el 14/12/2005
Aprobado el 06/04/2006

Síntesis de un complejo antimonial pentavalente (Ulamina) y su aplicación experimental para el tratamiento de leishmaniasis cutánea localizada en Venezuela

José Vicente Scorza Dagert^{1*}, Carmen Morales¹, Yaneira Petit de Peña², Laura Vásquez, Elina Rojas¹ & José Vicente Scorza B.¹

La urgente necesidad social y ética de dar tratamiento médico satisfactorio a numerosos pacientes con leishmaniasis cutánea localizada, urbana, en el estado Trujillo de Venezuela, sin complicaciones mucosas entre mas de 2000 casos estudiados desde 1984, nos ha conducido a la síntesis y utilización perilesional de un complejo antimonial pentavalente con glucamina (ULAMINA). Se resume el procedimiento para la preparación de ULAMINA y se compara su composición en especies de antimonio, concentración de cloruros, densidad, pH y osmolaridad con muestra de tres patentados comerciales importados, con resultados análogos. Se reportan resultados clínicos satisfactorios en el tratamiento perilesional de 858 pacientes con ULAMINA, con un 5% de casos que abandonaron el tratamiento sin la cicatrización de sus lesiones.

Palabras clave: Leishmaniasis cutanea, tratamiento perilesional, ulamina, antimonial pentavalente.

INTRODUCCIÓN

Desde 1945 algunos complejos derivados de antimonio se han usado como leishmanicidas muy efectivos (Steck, 1978). Dos derivados antimoniales pentavalentes, con menores reacciones desfavorables, son los más usados actualmente para el tratamiento de las leishmaniasis visceral, muco-cutánea y cutánea: el estibogluconato de sodio (Pentostam®) y el antimoniato de meglumina (Glucantime®) (Berman & Grogl, 1988; Herwaldt & Berman, 1992), aunque a pesar de su prolongado uso, sus estructuras químicas y reacciones bioquímicas son poco conocidas, como tampoco el número y la composición de sus especies químicas y las enzimas y los componentes celulares con los cuales interactúan (Berman & Grogl, 1988).

La aplicación sistémica de estos complejos antimoniales pentavalentes que asegura niveles

elevados en plasma y totalmente excretados por vía renal a las pocas horas, constituye el único recurso terapéutico recomendado por la Organización Mundial de la Salud para casos de leishmaniasis cutánea en posología de 20mg/kg por día, por un mínimo de cuatro semanas (WHO, 1984).

La preparación del complejo Glucantime, además del riguroso problema de su síntesis y purificación, es cosa de arte y no es siempre reproducible (Berman & Grogl, 1988). La nota técnica Glucantime 2168 R.P de Rhône Poulenc, propone una fórmula teórica para un peso molecular de 366, en tanto que los trabajos de Berman *et al.* (1985) evidencian una estructura polimérica con peso molecular variable entre 366 y mas de 3000. Trabajos más recientes proponen que, al igual que con el estibogluconato sódico, el antimoniato de meglumina está compuesto por una mezcla de polímeros carbohidratados de antimonio, con al menos dos moléculas de carbohidratos coordinadas con un átomo de antimonio (Roberts *et al.*, 1998) y además la existencia de fracciones poliméricas en el antimoniato de meglumina, cuyos pesos moleculares varían entre 507 y 1444, así como especies con menor

Universidad de Los Andes: ¹. Instituto de Investigaciones "José Witremundo Torrealba", NURR Trujillo, Venezuela.

². Facultad de Ciencias, Laboratorio de Espectroscopia Molecular, La Hechicera, Merida, Venezuela.

*Autor de correspondencia: jvscorz@yahoo.com

contenido de antimonio cuyos pesos moleculares oscilan entre 222 y 386.

Estas circunstancias nos han alentado a la síntesis de derivados antimoniales de la glucamina, a partir de reactivos de alta pureza grado analítico de la casa Sigma Aldrich Chem. Co. Éticamente nos ha motivado a la síntesis del fármaco y a su uso clínico, la circunstancia de su monopolio y el alto costo comercial, que no permite su utilización por pacientes sin recursos en países con crisis económicas y carentes de auxilio social.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- Reactivos utilizados y adquiridos de Sigma-Aldrich, grado técnico.

N-metil-glucamina 99% (meglumina), cloruro de antimonio (V) 99%, dietilamina 99,5% y metanol 99,8%, además agua bidestilada, mega-pura, Corning.

2.- Síntesis de antimoniato de meglumina.

Toda la síntesis se realiza a temperatura ambiental (25°C) con agitación permanente de metilglucamina disuelta en un mínimo volumen de agua bidestilada, siendo titulada gota a gota con solución ácida de antimónico, evitando que la reacción sobrepase 37°C y manteniendo la agitación durante tres horas para finalmente precipitar el complejo con metanol. Decantado el complejo, es redissuelto en un mínimo volumen de agua bidestilada y neutralizado hasta pH 7.0 con dietilamina, para recrystalizarlo con metanol. Separados los cristales por filtración, se llevan a estufa (40°C) durante 96 horas hasta evaporar los residuos de metanol. Los cristales se disuelven al 10% (peso-volumen) en agua bidestilada y la solución se esteriliza a través de membrana (Acrodisc-Gelman) para envasarla en condiciones de esterilidad, en viales de 10 mL con tapón de caucho.

3.- Análisis de especies de antimonio en los complejos obtenidos.

Cada lote de complejo envasado fue analizado por triplicado por la técnica de Petit de Peña *et al.* (2004) mediante absorción atómica, usando un Varian-Techtron, modelo A.A 1475. Los resultados se expresan en mg/mL de antimonio total, SbV y SbIII en la solución del complejo de 300 mg/mL para uso terapéutico.

4.- Pacientes, su diagnóstico y tratamientos incluyendo el perilesional con antimoniato de meglumina (ULAMINA).

Pacientes con lesiones cutáneas ulceradas, sin alteraciones mucosas, provenientes del área urbana de la ciudad de Trujillo, fueron diagnosticados parasitológicamente mediante examen microscópico de improntas y frotis de biopsias de sus lesiones, coloreadas con Giemsa y también confirmadas sus respuestas inmunes por intradermoreacción con antígeno figurado de promastigotes de *Leishmania* (Viannia) *braziliensis*.

Para instalar tratamiento, se les explicó el porqué de la técnica de infiltración perilesional semanal (Yépez & Scorza, 1995; Oliveira-Neto *et al.*, 1997) y la conveniencia de concluir el tratamiento cuando lo ordenase la médica tratante. Atendiendo las indicaciones del Comité de Ética del Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba”, se les instruyó sobre otros tratamientos alternativos y una vez acordado un esquema, se les sugirió aceptar y firmar un acta de voluntaria escogencia. En el caso de niños menores, se les admitió a la terapia tras el consentimiento firmado por su representante. En estos casos, cuando se aplicó la ULAMINA, fue mezclada a volúmenes iguales con lidocaina para reducir el trauma de la infiltración semanal.

RESULTADOS

1.- Resultados de la síntesis.

El proceso de síntesis, incluyendo esterilización y envasado, requiere 15 días y utiliza, para cada lote de Ulamina, 113 gr. de SbCl₅, 250 g. de n-metilglucamina, 40 mL de dietilamina y 4 litros de metanol de los cuales, por redestilación, se pueden recuperar 3 litros utilizables.

Cada síntesis del complejo, en condiciones de laboratorio, produce 300gr. equivalente a 1000 mL de fármaco (300 mg/mL).

La esterilización se realiza a través de membrana (0,22μ) en porciones de 70 mL por cada filtro. El envasado, en condiciones de esterilidad, se hace en viales de 10 mL, cantidad suficiente para el tratamiento de cada paciente con una lesión única, tras hasta seis (6) infiltraciones de 1,8 mL de fármaco. De

cada lote de fármaco sintetizado y envasado, se toman 3 viales para análisis físico-químico de antimonio. La Tabla I informa resultados de los análisis físico-químicos de diez (10) lotes de ULAMINA y su comparación, con 4 lotes de Glucantime comercial. Entre Noviembre de 1992 y Julio de 2001 se sintetizaron 11 (once) lotes de ULAMINA cuyos contenidos de SbV y SbIII se comparan con cuatro (4) lotes diferentes de Glucantime comercial. Un lote de ULAMINA, No.3, preparado en Septiembre de 1994 produjo leves reacciones cutáneas retardadas indeseables en varios pacientes, por lo cual fue seguidamente sustituido por otro lote No.4 sintetizado en paralelo. Obsérvese que el lote No.3, descartado, contuvo doble concentración de SbV, en comparación con los otros resultados de las síntesis. No obstante, esos valores no distan considerablemente de los comerciales importados, como tampoco del último lote sintetizado por nosotros en Julio del 2001 (Tabla II).

2. Resultados de los tratamientos.

La casuística clínica por leishmaniasis cutánea localizada atendida en el Consultorio del Centro “José Witremundo Torrealba”, entre 1984 y 2003, sobrepasa dos mil pacientes. De estos, 930 fueron inicialmente tratados parenteralmente con Glucantime a la dosis convencional de 20mg/Sb/k/día, hasta completar veinte días de tratamiento para un porcentaje de 84% de curación sin recaídas.

1255 pacientes de fecha más reciente, en ausencia de suficiente Glucantime, fueron tratados con otros tres esquemas de tratamiento que incluyeron Glucantime más Gabbromicina por vía parenteral; (52 casos) con 10% de recaídas (Scorza *et al.*, 1988a), Ketoconazol (517 casos) con 5% de recaídas (Scorza *et al.*, 1988b) y 686 pacientes tratados con ULAMINA por vía perilesional (Tabla III).

Tabla I. Características fisicoquímicas de diez lotes de antimoniales sintetizados y su comparación con cuatro lotes de Glucantime, utilizados en el Consultorio del Centro “José Witremundo Torrealba” en Trujillo, Venezuela. 1985 - 2001

	Glucantime (4 lotes)	Ulamina (10 lotes)	P
Sb TOTAL (mg/mL)	99,34 ± 4,18	78,25 ± 23,01	.101
SbV(mg/mL)	98,91 ± 4,09	77,95 ± 23,05	.103
SbIII(mg/mL)	0,42 ± 0,10	0,20 ± 0,23	.093
Cloruros(mg/mL)	2,46 ± 1,12	1,61 ± 0,28	.038*
pH	3,97 ± 1,129	5,01 ± 1,57	.196
Densidad	1,12 ± 0,0356	1,01 ± 0,0578	.024*
Osmolaridad(mOsm/L)	856 ± 48,08	266 ± 141,43	.036*

* Diferencias significativas.

CONTROL: 930 casos tratados convencionalmente con Glucantime, por vía parenteral

GRAN TOTAL: 2185 pacientes

Hasta finales de 2004 hemos tratado perilesionalmente 172 pacientes adicionales a los del período 1984–2003. Los resultados de estos tratamientos perilesionales, con hasta siete (7) infiltraciones, se presentan en el Tabla IV. De éstos, 42% recibieron alta clínica y un 53% abandonó el tratamiento tras completa o casi completa cicatrización, sin poder nosotros verificar la ocurrencia de posibles recaídas, por ser pacientes de más reciente data. Un 5% de pacientes (N: 43) abandonó el tratamiento sin cicatrización, después de recibir hasta cuatro infiltraciones.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En Venezuela se han observado diferentes formas clínicas de leishmaniasis tegumentaria americana con un promedio de 2000 casos por año y gran subregistro, para una prevalencia estimada de 143 casos por 100.000 habitantes (Bonfante & Barroeta, 2002) siendo más alta en los estados Lara, Trujillo, Mérida y Táchira, en el occidente del país. En el estado Trujillo, una encuesta realizada en el área urbana de la ciudad capital, reveló una prevalencia de 8,2% con el hallazgo de 121 personas investigadas, reactivas a la intradermoreacción con antígeno preparado con parásitos de la localidad, sin que se

Tabla II. Análisis de especies de antimonio en los complejos sintetizados y su comparación con el complejo extranjero.

Nº	Muestras	Sb total (mg/mL)	Sb (V)* (mg/mL)	Sb(III) (mg/mL)
1	Ulamina 11/92	62,5	62,32	0,18
2	Ulamina 1/94	60,93	60,75	0,18
3	Ulamina 9/94 (contenido clasificado como tóxico)	124,21	124,2	0,01
4	Ulamina 9/94	71,87	71,71	0,16
5	Ulamina 6/95	51,56	51,45	0,11
6	Ulamina FC1 4/96	88,12	87,27	0,85
7	Ulamina 6/96	51,56	51,45	0,11
8	Ulamina 5/99	89,75	89,59	0,16
9	Ulamina 9/99	51,56	51,45	0,11
10	Ulamina JWT/JFT 8/2000	84,37	84,21	0,16
11	Ulamina 8/2001	97,65	97,55	0,10
	Glucantime Specia	98,59	98,17	0,42
	Glucantime Aventis	103,10	102,54	0,56
	Glucantime Italiano	101,93	101,50	0,43
	Glucantime Italiano (vial oscuro)	93,75	93,45	0,30

* El valor de Sb(V) es calculado por la diferencia entre Sb total y Sb (III).

observase complicación mucosa en ninguna de las personas con antecedentes clínicos o inmunológicos (Scorza *et al.*, 1985). La ausencia de complicaciones clínicas y fallas en la disponibilidad de Glucantime, condujeron a la aplicación experimental perilesional de meglumina sola o asociada con lidocaina, para la curación clínica en 87 lesiones de 89 pacientes (96%) (Yépez & Scorza, 1995). Un esquema terapéutico perilesional similar, ha sido aplicado en Brasil por Oliveira-Neto *et al.* (1997) en 74 pacientes de

los alrededores de Río de Janeiro, con un 80% de curación clínica tras la inyección perilesional de Glucantime después de anestesia local con xilocaina, sin recaídas después de diez años de tratamiento, ni la aparición de lesiones en las mucosas. Bonfante & Barroeta (2002) refieren que Solano *et al.* (1984), obtuvieron un 100% de curación clínica mediante infiltraciones peri e intralesionales semanales. Se ignoran importantes detalles técnicos sobre la síntesis de la meglumina. Demicheli *et al.* (2003) describen

Tabla III. Edades y sexos de pacientes del estado Trujillo con leishmaniasis cutánea localizada, tratados, con cuatro esquemas de tratamiento en el Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba” del Núcleo Universitario “Rafael Rangel” (1984 – 2003).

Edades	Tipos de esquemas terapéuticos					
	A		B		C	
	M	F	M	F	M	F
0-7	---	---	3	3	55	61
8-14	9	7	57	61	42	38
31-30	13	9	116	121	41	47
31-45	10	4	108	113	35	35
46-60	---	---	46	48	42	50
>60	---	---	6	4	30	41
Total						
1255	32	20	336	350	245	272

A: Glucantime + Gabbromicina parenteral

B: Ulamina perilesional

C: Oral con Ketoconazol

Tabla IV. Situación clínica de 858 casos de leishmaniasis cutánea localizada tratados perilesionalmente con ULAMINA en el Consultorio de Leishmaniasis. Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba”

Cicatrizaciones totales	815	95%
Alta clínica	362	42%
Abandono con cicatrización	453	53%
Abandono sin cicatrización	43	5%

su preparación a partir de metilglucamina disuelta en agua a 55°C y de pentóxido de antimonio obtenido por hidrólisis de SbCl₅ también, a 55°C, neutralizando el complejo con KOH, precipitándolo con acetona; así obtienen un sólido amorfo, con 29% de antimonio, similar o idéntico al compuesto comercial. Nosotros lo hemos sintetizado a menos de 37°C, neutralizado con dietilamina. No obstante, los autores citados concluyen que sus productos de síntesis pudieran ser una mezcla de varios compuestos producidos en diferentes proporciones.

Estos resultados confirman los de Roberts *et al.* (1998) quienes han propuesto una estructura oligomérica tridimensional para el producto de síntesis y pesos moleculares variables entre 314 y 1444. A juzgar por los análisis de diez (10) lotes de ULAMINA y de cuatro muestras comerciales de Glucantime, las proporciones de Sb, SbV y SbIII son similares con contrastantes diferencias en osmolaridad, mucho más baja en los complejos de ULAMINA. Tal vez estas diferencias den cuenta del porqué de la inocuidad de nuestro producto y de la no aparición de reacciones indeseables. Alta frecuencia de reacciones dérmicas, registradas por Sierra-Romero *et al.* (2003) con meglumina comercial y su ausencia en nuestro sintetizado, podría deberse a su contaminación con metales pesados que, entendemos, no están presentes en los pro-fármacos de Aldrich Chem. Co. En la región neotropical no es absoluta la efectividad terapéutica de los antimoniales pentavalentes para el tratamiento de leishmaniasis cutánea producida por especies de *Leishmania* (*Viannia*) spp. Palacios

et al. (2001), en un ensayo aleatorio terapéutico dobleciego, estudiaron en Colombia la respuesta clínica de 191 pacientes tratados parenteralmente con meglumina (Glucantime Rhône Poulenc) a dosis de 20mg/SbV/Kg/día, comparando esquemas de 10 y 20 días de tratamiento, con resultados similares de 61% (28 de 46) y 67% (24 de 36) curación para diez o veinte días, respectivamente. La no respuesta al tratamiento con el antimonial pentavalente se ha atribuido a resistencia o refractaridad intrínseca de los parásitos, que puede observarse en un 5% de casos, como lo señalan Almeida *et al.* (2005). Estos autores han logrado superar la condición refractaria en tales pacientes, reforzando la quimioterapia con la aplicación tópica de un factor colonia estimulante de granulocitos-macrófagos.

La efectividad terapéutica de la ULAMINA en los casos de leishmaniasis cutánea localizada del estado Trujillo, merece comentarios adicionales. Los agentes etiológicos han sido identificados por Guevara *et al.* (1993) como pertenecientes al subgénero *Viannia*, sin que las lesiones que ocasionen en piel produzcan alteraciones mucosas. En más de 2000 casos atendidos solamente hemos observado complicaciones mucosas, siempre recientes o concomitantes, en tres (3) pacientes cuyas alteraciones se resolvieron con quimioterapia.

El hallazgo de ADN de parásitos, mediante PCR en la sangre de pacientes, no es un hecho extraordinario. Hemos detectado ADN de parásitos en personas que recibieron quimioterapia antimonial tradicional o hacía treinta años que curaron espontáneamente sus lesiones (Guevara *et al.*, 1993). La aplicación perilesional de nuestro derivado antimonial pentavalente, además de reducir considerablemente la cantidad de fármaco, y el trauma ocasionado por su inyección diaria hasta por más de veinte días, reposa sobre el concepto de curación o cicatrización de lesiones, que ya hemos discutido (Yépez & Scorza, 1995).

En conclusión, producimos resultados clínicos curativos en más de 800 pacientes con leishmaniasis cutánea localizada tratados perilesionalmente con menos de 10 mL de un derivado antimonial pentavalente sintetizado por nosotros, sin manifestaciones secundarias desfavorables ni recidivas o recaídas en más de cinco años de tratados.

Synthesis of a pentavalent antimonial complex (Ulamina) and its experimental application for treatment of localized cutaneous leishmaniasis in Venezuela

SUMMARY

The urgent social and ethical need of giving satisfactory medical treatment to numerous urban patients with localized cutaneous leishmaniasis in the State of Trujillo, Venezuela, without mucosal complications among more than 2000 cases studied since 1984, led us to the synthesis and perilesional use of a complex antimonial pentavalent with glucamine (ULAMINA). The procedure for the preparation of ULAMINA is summarized and its composition is compared as a kind of antimony, the concentration of chlorines, the density, the pH and the osmolarity with a sample of three similar commercial imports. The satisfactory clinical results in perilesional treatment of 858 patients are reported, with 5% of the cases abandoning treatment without cicatrization of their lesions.

Key words: cutaneous leishmaniasis, perilesional, Ulamina, pentavalent, antimonial

AGRADECIMIENTOS

La síntesis y la promoción para la aplicación de este complejo ha sido posible, en primer lugar, por la importante donación de reactivos importados por los doctores Gilberto Rodríguez Ochoa y Oscar Feo Isturiz quienes, desde entonces Ministerio de Salud y Asistencia Social comprendieron nuestra necesidad. Mas recientemente al Ministerio de Ciencia y Tecnología a través del proyecto Frontera N. 98000576 para el financiamiento de nuestro trabajo.

REFERENCIAS

- Almeida R., Brito J., Machado P., Schrierer A., Guinardes L. & Carvalho E. (2005). Successful treatment of refractory cutaneous leishmaniasis with GM-CSF and antimonials. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **73**: 79-81.
- Berman J. (1985). Biochemical mechanism of the anti-leishmanial activity of sodium stibogluconate. *Amer. Soc. Microbiol.* **27**: 916-920.

- Berman J. & Grogl M. (1988). *Leishmania mexicana*: chemistry and biochemistry of sodium stibogluconate (Pentostam). *Exper. Paras.* **67**: 96-103.
- Berman, J., Waddel, D & Hanson, D. (1985) Biochemical mechanism of the anti-leishmanial activity of sodium stibogluconate. *Amer. Soc. Microbiol.* **27**: 916-920.
- Bonfante R. & Barroeta S. (2002). *Leishmanias y leishmaniasis en América con especial referencia a Venezuela. Barquisimeto, Venezuela.* 270pp.
- Demicheli C., Ochoa R., Silva I., Gozzo F., Eberlin M. & Frezard F. (2003). Pentavalent organo-antimonial derivatives: two simple and efficient synthetic methods for meglumine. *Appl. Organomet. Chem.* **17**: 226-231.
- Guevara P., Ramírez J. L., Alonso G., Rojas E., Scorza J. V., Añez N., González N. & Da Silveira J. (1993). Identification and diagnosis of *Leishmania* based on ribosomal intergenic spacer sequences. *Mem. Inst. O. Cruz.* **88 (Suppl.)**: 80-81.
- Herwaldt B. T. & Berman J. (1992). Recommendations for treating leishmaniasis with sodium stibogluconate (Pentostam) and review of pertinent clinical studies. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* **46**: 296-306.
- Oliveira-Neto M. P., Schubach A., Mattos M., Gonçalves da Costa S. C. & Pirmez C. (1997). Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil – an area of *Leishmania braziliensis* transmission. *Inter. J. Dermatol.* **35**: 463 - 468.
- Palacios R., Osorio L. E., Grajales F. & Ochoa M. T. (2001). Treatment failure in children in a randomized clinical trial with 10 and 20 days of meglumine antimoniate for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania Viannia* species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **64**: 187-193.
- Petit de Peña Y., Vicuña-Fernández N., López S., Vázquez L., Scorza-Dagert J. V., Carrero P. & Rondón C. (2004). Antimony speciation in human blood samples from patients treated with ulamine. A novel experimental drug for leishmaniasis. *Metal Ions in Biology and Medicine.* **8**: 560-563.

- Roberts W., McMurray W. J. & Rainey P. (1998). Characterization of the antimonial antileishmanial agent meglumine antimoniate (Glucantime). *Antimicrob. Agents & Chemother.* **42**: 1076-1082.
- Scorza J. V., Macías P. & Rojas J. (1985). Encuesta epidemiológica sobre leishmaniasis cutánea en la ciudad de Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **25**: 73-81.
- Scorza J. V., Henández A., Villegas E., Marcucci M. & Araujo P. J. (1988a). Comprobación clínica del sinergismo entre el Glucantime y la Gabromicina en el tratamiento de la leishmaniasis tegumentaria del estado Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **28**: 23-26
- Scorza J. V., Hernández A., Villegas E., Márquez J.C. & Mauricci M. (1988b). Efectividad del Nysoral (Ketoconazol) para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea y cutaneomucosa en Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **28**: 32-39.
- Sierra-Romero G., de Moraes-Flores E. M., Ferreira-Moronta E. & de Oliveira V. (2003). High frequency of skin reactions in patients with leishmaniasis treated with meglumina antimonial contaminated with heavy metals. A comparative approach using historical controls. *Mem. Inst. O. Cruz.* **98**: 145-149.
- Solano A. E., Hidalgo H. H. & Zeledon A. R. (1984) Tratamiento exitoso de la leishmaniasis por *Leishmania braziliensis panamensis* con glucantime. *Med. Cut. I. L. A.* **12**: 19-24
- Steck E. (1974). The leishmaniasis. *Prog. Drug. Res.* **18**: 289-351.
- Yépez Y. & Scorza J. V. (1995). Intralesional chemotherapy with meglumine plus lidocaine of localized cutaneous leishmaniasis in Trujillo state, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. & San. Amb.* **35**: 71-75.
- WHO (1984). *The leishmaniasis*. Report of a WHO Expert Comité, Tech. Rep. Ser. 701, Geneva.

Recibido el 14/12/2005
Aprobado el 03/03/2006

Valuación de corrosión e incrustaciones en instalaciones hidráulicas de una planta de potabilización en el estado Bolívar, Venezuela

Víctor Mora Arellano¹ & Jorge Luis Cedeño^{2*}

En instalaciones hidráulicas se presenta corrosión en materiales metálicos (válvulas, bombas y tuberías), y en los elementos rígidos (concreto armado), al ser susceptibles al ataque destructivo considerado factor de importancia para la duración de la infraestructura. Dada esa situación, esta investigación tuvo como objetivo realizar una valuación de la corrosión e incrustaciones a las instalaciones hidráulicas de la planta de Potabilización "Angostura" Ciudad Bolívar, estado Bolívar. La investigación fue del tipo descriptiva y analítica, obteniéndose 16 fotos de los especímenes rígidos y metálicos con fallas de corrosión e incrustaciones, realizándose una descripción cualitativa. Los estados de corrosión e incrustaciones fueron determinados considerando los deterioros unitarios y probabilidades de operaciones de los especímenes metálicos y rígidos. La conclusión fue que los productos de corrosión observados en las superficies externas de los especímenes metálicos son causados por el medio atmosférico, agua (cruda, sedimentada y filtrada), reactivos químicos (sulfato de aluminio, cal hidratada y gas cloro) usados en el proceso. Los productos observados de reblandecimiento, desportillamiento y desintegración en especímenes de concreto armado son efectos multifactoriales de los procesos de: carbonatación, influencia del ión cloruro y oxidación biológica. El máximo deterioro unitario en los especímenes rígidos es 3,43 por ciento anual y en los especímenes metálicos es 3,26 por ciento anual. La probabilidad mayor de operación máxima para los elementos rígidos se ubica en 109,24 años y para los elementos metálicos se sitúa en 81,15 años.

Palabras claves: Planta de potabilización, corrosión, incrustación, probabilidad de operación.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas que se presentan en las instalaciones hidráulicas es el de corrosión en los materiales metálicos (válvulas, bombas y tuberías), produciéndose perforaciones y obstrucciones de las líneas de agua. (Lane, 1995). También, las estructuras de concreto son susceptibles de sufrir agresiones por mecanismos fisicoquímicos (oxígeno, humedad, cloruros, anhídrido carbónico y otras sustancias agresivas), y biológicos donde la corrosión es el elemento de ataque destructivo, la cual se manifiesta bajo tres aspectos. 1) Sobre el acero, con disminución de su diámetro inicial y por lo tanto de su capacidad mecánica. 2) Sobre el concreto, debido a la generación de óxidos expansivos en la interfase acero

- concreto, provocando fisuras y desprendimientos. 3) Sobre la adherencia acero/concreto (CYTED, 1997).

En Venezuela, se han realizado investigaciones sobre el comportamiento de estructuras metálicas embebidas en concreto, corrosión en general y protección, diagnóstico, cuantificación y caracterización del fenómeno de erosión / corrosión en instalaciones de explotación, producción y refinación de petróleo y gas, química y petroquímica, alimentos, siderúrgica, papelería e industria eléctrica.

Por ejemplo, Linares & Sánchez (2003), describen la construcción, puesta en funcionamiento y operación de un equipo que permite controlar las variables operacionales que afectan el fenómeno de la carbonatación en especímenes rígidos (concreto armado). De Romero *et al.* (2005), obtuvieron resultados valiosos, tanto desde el punto de vista de corrosión como de costos, que permiten

¹ Escuela Ciencias de la Salud. UDO, estado Bolívar, Venezuela.

² Escuela Ingeniería y Ciencias Aplicadas. UDO, estado Anzoátegui, Venezuela. Dirección Postal 8001.

*Autor de correspondencia: corrosiviti@yahoo.com

posteriormente desarrollar un modelo matemático computarizado, donde se consideran las variables esenciales asociadas a los problemas y métodos de control de la corrosión, pero en la literatura consultada no se encontraron referencias que confirmaran la valuación sobre corrosión de los materiales metálicos y rígidos en las operaciones y procesos unitarios de las instalaciones hidráulicas.

En lo que respecta a las operaciones y procesos unitarios del tratamiento del agua cruda proveniente del río Orinoco, de planta “Angostura” ubicada en Ciudad Bolívar, se adapta el esquema de Kemmer & McCallion (1998), quienes incluyen: captación, tratamiento primario (coagulación y mezclado, floculación y sedimentación), tratamiento secundario (filtración), desinfección y bombeo a la red de distribución agua potable (Fig. 1).

Considerando que es importante realizar investigaciones sobre corrosión en instalaciones hidráulicas, a fin de disponer de datos e información que permita conocer las cualidades corrosivas e incrustantes causadas por el agua y agentes agresivos en especímenes rígidos y metálicos; determinándose

así las posibilidades de operación (vida útil + vida residual), mantenimiento y/o reemplazo final de los especímenes que justifiquen durabilidad, costos y calidad, el presente trabajo tiene como objetivo general realizar una valuación de la corrosión e incrustaciones a las instalaciones hidráulicas de la planta de Potabilización “Angostura”, para lo cual se han diseñado los siguientes objetivos específicos:

1. Realizar análisis visual de las cualidades de los estados de corrosión e incrustaciones de los especímenes metálicos y rígidos que conforman las instalaciones hidráulicas.
2. Determinar cuantitativamente los estados de corrosión e incrustaciones, basados en los deterioros unitarios y probabilidades de operaciones de los especímenes metálicos y rígidos estudiados.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue del tipo descriptiva y analítica al referir características fundamentales que permitieron poner de manifiesto los aspectos corrosivos e incrustantes de los especímenes en instalaciones hidráulicas. La muestra considerada

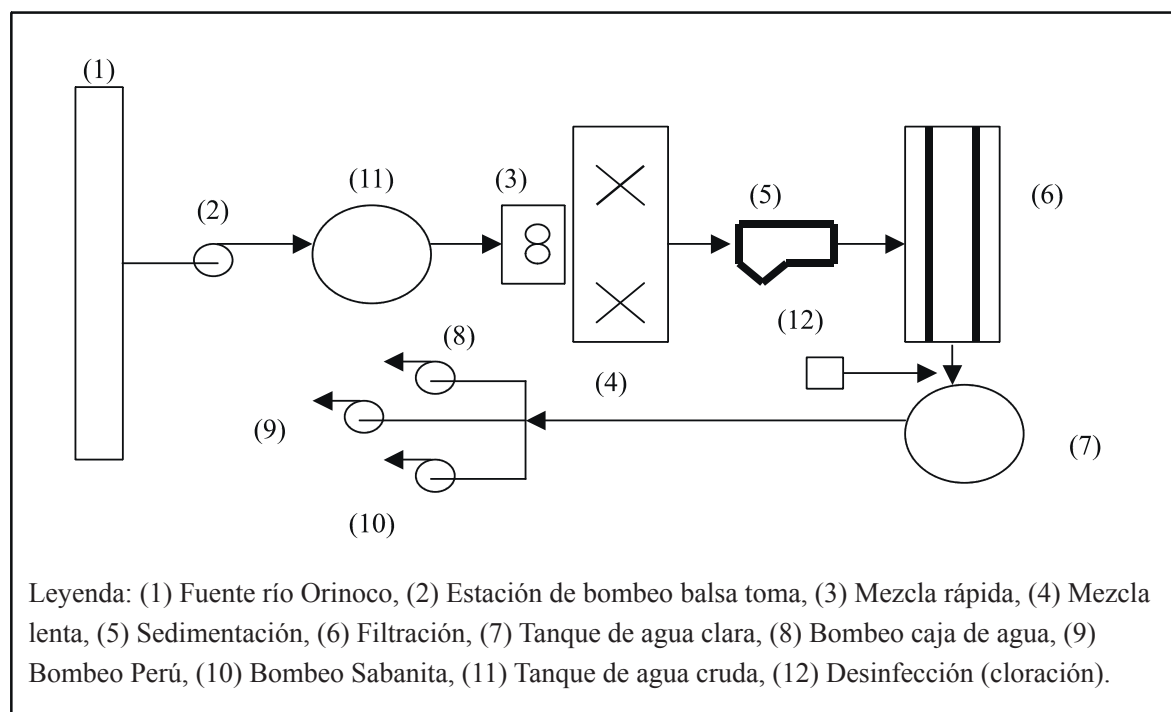


Fig. 1. Operaciones y procesos unitarios en planta de potabilización “Angostura” Ciudad Bolívar estado Bolívar.

como una parte del universo debía representar los fenómenos que ocurrían, con el fin de estudiarlos y evaluarlos. La investigación planteada, se desarrolló en la Planta “Angostura”, la cual forma parte del complejo hidráulico del Municipio Heres Ciudad Bolívar, y está ubicada en el sector denominado “Perro Seco” entre las coordenadas U.T.M.: Norte 900.000 Este: 438.750 Esc. 1:25.000 (MINFRA, 2000). Para la consecución de los objetivos específicos diseñados se siguió el siguiente procedimiento:

1. Visita de campo. Se realizaron tres reconocimientos a las áreas de estudio para visualizar las actividades en el lapso enero/febrero de 2004 en tiempo único (Hernández *et al.*, 1998).
2. Descripción cualitativa. Se tomaron 16 muestras fotográficas mediante cámara digital con la finalidad de obtener información mediante comparación visual de corrosión e incrustaciones presentes en especímenes rígidos y metálicos (válvulas, bombas y tuberías), con fallas materiales y estructurales en la secuencia de tratamiento del agua cruda proveniente del río Orinoco para las etapas de mezcla lenta, mezcla rápida y filtración, considerando los criterios descritos en la guía nalco para el análisis de fallas en los sistemas de enfriamiento por agua (Herro & Port, 1995).
3. Descripción cuantitativa. Según la cualidad de los estados de corrosión e incrustaciones en 16 especímenes metálicos y rígidos estudiados, se determina: Valuación final (F) en por ciento, considerando un valor de 100 por ciento como el estado inicial no degradado y 0 por ciento al estado final con degradación total, ecuación (1).

$$F = L + K (H - L) \quad (1)$$

donde:

F = valor combinado de la condición actual, por ciento

L = valor mínimo estructural o material, por ciento

H = valor máximo estructural o material, por ciento

K = constante de 1/10, adimensional

El deterioro unitario (U) en por ciento anual, mediante la ecuación (2):

$$U = (100 - F)/A \quad (2)$$

donde:

U = promedio de deterioro unitario para el espécimen en servicio, por ciento anual

A = tiempo de servicio en la fecha de inspección, años

R = probabilidad de operación total de los especímenes

en años, se determina con la ecuación (3):

$$R = F/U \quad (3)$$

Los valores H y L en por ciento obtenidos experimentalmente para las etapas del deterioro de cada uno de las estructuras rígidas y metálicas en todas las etapas del deterioro nos determinan el valor F en por ciento. El promedio de los porcentajes de valuación F en por ciento para cada tipo de estructura junto con el promedio de la edad en servicio de los especímenes suministran la base para estimar las probabilidades de deterioros U en por ciento anual y operaciones totales R en años (The Armco International Corporation, 1958).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Cualidades de los estados de corrosión e incrustación de los especímenes metálicos y rígidos que conforman las instalaciones hidráulicas.

Red de conducción.

En la Fig. 2, se ilustra espécimen metálico localizado en el tramo 2 – 11, estación de bombeo balsa toma – tanque de agua cruda, ver figura 1, con un ambiente de operación interno de flujo de agua cruda del río Orinoco sin tratamiento y ambiente externo de contacto a la atmósfera y suelo. Tiempo de servicio 50 años y muestra de acero al carbono, 24” de diámetro exterior. La observación visual ilustra un metal muy corroído, desgastado, carcomido profundamente con oxido de color café.



Fig. 2. Vista transversal de colector seccionado estación de bombeo balsa toma-tanque de agua cruda en planta de tratamiento “Angostura” ubicada en Ciudad Bolívar.

Fosa de concreto.

En la Fig. 3, se ilustra un espécimen compuesto rígido y metálico, localizado en el tramo 11 – 3, tanque de agua cruda – mezcla rápida, ver Fig. 1. Con un ambiente de operación interno de agua cruda sobrante y de escorrentía y ambiente externo subterráneo. Tiempo de operación 20 años. El concreto armado presenta tramo sin grietas, reblandecimiento y desintegración, se observó una biomasa de limo verdoso – pardo debido al desarrollo de algas. El metal presenta alineación recta, con formas perfectas sin pandeo y sin puntos de oxidación recubierto con pintura epóxica.



Fig. 3. Vista parcial de fosa y sistema de drenaje anexos al sistema de dosificación de la fase I, en la planta de potabilización "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar.



Fig. 4. Vista parcial de tanquilla de remoción rápida fuertemente corroída, perteneciente a la fase II de la planta de tratamiento "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar.

Mezcla rápida.

En la Fig. 4, se presenta un espécimen metálico, localizado en el sector 3 de la operación y proceso de mezclado rápido, con un ambiente de operación interno compuesto de agua cruda y los productos químicos sulfato de aluminio y cal hidratada usados en el tratamiento, con ambiente externo atmosférico. Tiempo de servicio 20 años. Se observa corrosión en la estructura metálica por químicos usados en el proceso. El óxido de coloración roja con estratificación formada en los especímenes se relaciona con altas concentraciones de cloruros y sulfatos presentes, de acuerdo a lo descrito por Herro & Port (1995).

Sedimentación.

En la Fig. 5, se ilustran los canales rectangulares con material compuesto rígido y metálico, localizados en el sector 5 a la salida de fosa de sedimentación, operando interna y externamente con agua sedimentada que comunica a la galería de filtros de la fase II y 20 años de operación. En la superficie interior del canal se presenta reblandecimiento y en la superficie exterior se observa limo de color verdoso (algas), la placa lateral de acero anclada con sujetadores atornillados, muestra contornos irregulares ondulatorios formados por áreas de pérdida de metal, con anillo de herrumbre precipitado anaranjado color café asociado al proceso de oxido reducción del ión hierro, el cual es variable de acuerdo a las condiciones del flujo de agua.



Fig. 5. Vista parcial del canal de salida de fosa de sedimentación parte externa, muy corroída y perteneciente a la fase II de la planta de tratamiento "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar.

Filtración.

En las Fig. 6 y 7, se muestra sistema de llenado y salida de agua, de características metálicas con tubería de 14" y rígida (fosa de filtrado), ubicadas en el sector 6 de la Fig. 1. Los ambientes de operación interna para el sistema de llenado, usan agua sedimentada, y externamente la red está embutida en concreto armado. El sistema de salida de agua es semejante al sistema de llenado usando agua filtrada, los canales internos están en contacto atmosférico y agua de filtración, todos los sistemas tienen 50 años de operación. Se observó desportillado de la estructura rígida debido a los mecanismos de corrosión en la química del concreto (Lea, 1971).

En el sistema de llenado se evidencia alta oxidación exterior e incrustación interior de herrumbre color café, así como la tubería de salida rectangular con avanzado ataque corrosivo en forma estratificada.

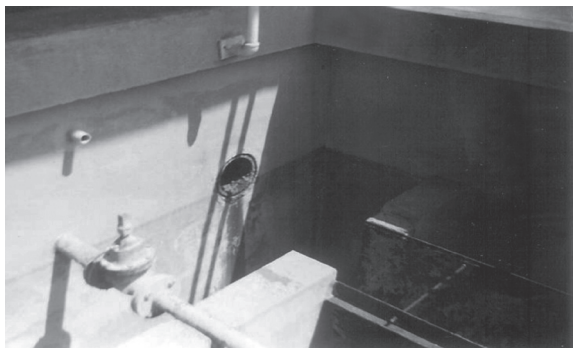


Fig. 6. Vista parcial de la galería de filtros de la fase I con presencia de degradación metálica en sistema de llenado planta de tratamiento "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar.

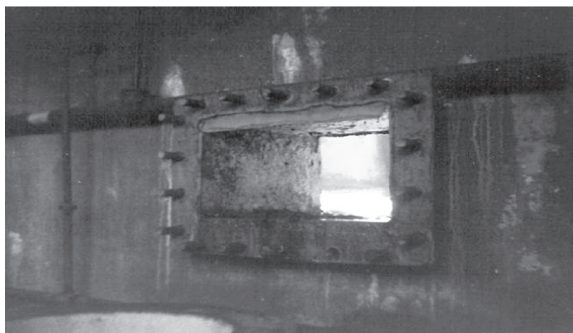


Fig. 7. Vista parcial de uno de los accesos de drenaje de la galería de filtros de la fase I fuertemente corroida en la planta "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar.

El sistema de lavado de filtro conformado por derivaciones de 3", válvula de compuerta con sistema de gato hidráulico incorporado presenta fallas mecánicas debidas a la erosión por el flujo turbulento de alta velocidad acompañada de la tendencia inestable del agua, ver Fig. 8.

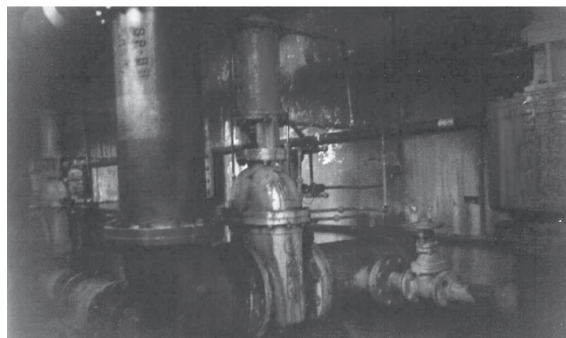


Fig. 8. Vista parcial del sistema de lavado de uno de los filtros de la fase I con daño mecánico producto de erosión y corrosión en la planta de tratamiento "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar.

Bombeo.

Sistema ubicado en el tramo 7 a 10 tanque de agua clara - bombeo de los sectores Caja de Agua, Perú y Sabanita, ver Fig. 1. El conjunto integrado por válvulas y sistema de rotación electromecánico, presenta un ambiente interno de agua filtrada más cloración y exteriormente tiene contacto atmosférico, para 50 años de operación. El desgaste externo observado puede explicarse por la acción de los compuestos químicos (cloruros, sulfatos, y otras sustancias agresivas) presentes en el agua, más la acción del oxígeno atmosférico para el proceso de corrosión.

En la Fig. 9, se muestran los equipos que presentan depósitos de aceites de uso industrial, los cuales tienen efecto aglutinante al acumularse reteniendo sustancias potencialmente corrosivas, con la producción de ácidos orgánicos.

Misceláneos.

En esta sección se describen equipos correspondientes a operación del tratamiento de agua, que han sido removidos para su reemplazo definitivo en el sistema.

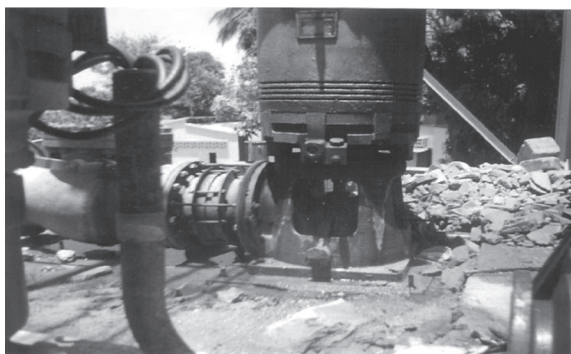


Fig. 9. Vista parcial de un equipo de bombeo de agua potable con presencia de productos de corrosión en la planta de tratamiento "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar

La red, correspondiente a los especímenes metálicos localizados en el sector 6 filtración, ver Fig. 1, adjunta a la galería de filtros, posee una operación de flujo de agua no definida y de exposición ambiental atmosférica, con tiempo de servicio de 50 años, la muestra de alimentación presenta productos de corrosión con herrumbre color café, metal corroído, muy oxidado y desgastado evidente de degradación interna causada por reactivos químicos disueltos y otros elementos agresivos presentes en el agua.

El espécimen incrustado señalado en la Fig. 10, corresponde a un cuerpo de cabezales de bomba con depósitos productos de corrosión en forma de cúmulos. Presenta un ambiente de operación con agua filtrada más cloración en operación vertical sumergida de bombeo sin exposición a la luz solar y sin conexión externa al ambiente. Tiempo de servicio 50 años, en el espécimen la formación de los tubérculos mineralizados es debido a la exposición de aguas con alcalinidad elevada en bicarbonatos, o por la acción de altas concentraciones de sulfatos, cloruros y aniones agresivos, reduciéndose la concentración de oxígeno dando lugar a tubérculos con composición química variada de acuerdo a lo reportado por Herro & Port. (1995).

Incrustación tubular:

El espécimen mostrado en la Fig. 11, corresponde a la incrustación de productos de corrosión en el material de un tubo de 90° con diámetro 12". El ambiente de operación interna es la conducción de agua filtrada más cloración y de operación externa en

contacto a la atmósfera. Tiempo de servicio 50 años. La acción combinada de pH, temperatura del agua, carbonato y otros reactivos químicos han dado lugar a la formación de cúmulos que pueden retardar de alguna forma el proceso de corrosión que se localiza debajo de los depósitos formados; el crecimiento de los tubérculos, puede ser estimulado por la acción de flujos hidráulicos bajos con periodos de inactividad.



Fig. 10. Vista parcial de un cuerpo de cabezales de bomba incrustada en forma de cúmulos en la planta de tratamiento "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar.



Fig. 11. Vista parcial de un codo de 90° con diámetro exterior de 12 pulgadas, fuertemente incrustado con carbonato de calcio, en la planta de tratamiento "Angostura" ubicada en Ciudad Bolívar

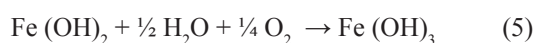
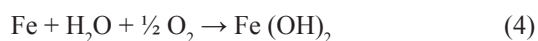
Baranda de protección.

En este sistema de defensa (baranda metálica), ubicado alrededor de la fosa de sedimentación, posee un ambiente de operación exterior de contacto al oxígeno atmosférico, y una vida de servicio de 20 años. En la superficie se observó babaza gelatinosa asociada a una red de hebras entre mezcladas con material biológico.

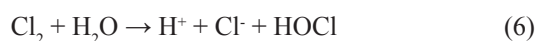
Corrosión.

De manera general, la corrosión observada en los especímenes metálicos correspondiente a las Fig. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9, presentan corrosión visible en el metal con mancha de herrumbre $[\text{Fe}(\text{OH})_3]$ café, lo cual es multifactorial y puede explicarse por:

I. Acción del oxígeno disuelto en agua (medio alcalino y neutro), con el siguiente mecanismo de reacción, donde el hidróxido ferroso pasa a hidróxido férrico mediante las reacciones (4) y (5):



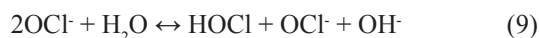
II. Acción del gas cloro disuelto en agua, el cual se hidroliza rápidamente conforme a la reacción química (6) (Kiely, 1999).



El ácido hipocloroso (HOCl) es el compuesto activo formado en esta reacción que tiende a disociarse de acuerdo a la reacción (7).



dependiendo del pH y de la concentración, el cloro en agua existe como gas cloro libre, ácido hipocloroso o ión hipoclorito, este último forma sales dependiendo del pH, por ejemplo, el hipoclorito de calcio que se ioniza en agua de acuerdo a las reacciones (8) y (9)



III. Condición ácida del medio acuoso. Las picaduras observadas en los especímenes metálicos señalados por la acción de los factores químicos, son influenciados además por otros parámetros tales como: tipo de metal, temperatura, turbulencia del agua, ensuciamiento de la superficie, formación de productos de la corrosión, tratamiento químico, y desde luego el tipo de ácido (oxidante o no oxidante, fuerte o débil) que pueden alterar marcadamente la corrosión asociados con las condiciones ácidas que se desarrollan en el metal (Herro & Port, 1995).

Incrustación.

Los especímenes de las Fig. 6, 10 y 11, con evidencias de incrustación, presentan tubérculos mineralizados debido a la exposición de aguas con alcalinidad elevada en bicarbonatos, los cuales estimulan la formación de cúmulos, o por la acción de altas concentraciones de sulfatos, cloruros y aniones agresivos, reduciéndose la concentración de oxígeno con tubérculos de composición química variada. Herro y Port. (1995), se refiere a:

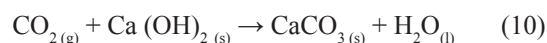
1. Costra exterior: con la siguiente composición química: $(\alpha\text{Fe}_2\text{O}_3 + \gamma\text{Fe}_2\text{O}_3) \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (Hemática) $\sim \text{Fe}(\text{OH})_3$ (hidróxido férrico) rojiza, café, anaranjada.
2. Cáscara interior: definida como: $\text{Fe}_3\text{O}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (ferrita ferrosa hidrosa) $\sim$ Magnetita. Negra.
3. Núcleo: $\text{FeO} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (óxido ferroso hidróxido) $\sim \text{Fe}(\text{OH})_2$ (hidróxido ferroso) negro blanco verdoso si no hay oxígeno.
4. Cavidad llena de fluido: $(\text{Fe}^{++}, \text{Cl}^-, \text{SO}_4^{=})$.
5. Piso corroído. Estas características estructurales internas se inician por la costra exterior y finalizan en el piso corroído.

Influencia biológica.

Los especímenes de las Fig. 3 y 5 y otros presentes en el sistema con evidencias de corrosión, están sujetos al crecimiento de biomasa (algas y bacterias asociadas) de color limo verdoso – pardo en la superficiales de la estructura del concreto, apreciándose la descomposición de materia orgánica y de una babaza gelatinosa estructurada en una red de hebras secretadas de polímeros extracelulares, mezcladas con bacterias, hongos, agua, gases y materiales extraños dando lugar al proceso conocido como corrosión biológica pasiva (Zelver *et al.*, 1981), que puede ser reconocida mediante el examen de las morfologías del desgaste, composición y distribución de los productos de corrosión y los análisis biológicos.

Carbonatación.

La acción del CO_2 , como uno de los agentes que afecta la durabilidad del concreto reacciona en medio hidratado de acuerdo a la reacción (10).



provocando cambios de pH alrededor del acero,

permitiendo que la capa de óxido protectora pierda su estabilidad termodinámica, originándose la corrosión del acero conocida como reacción de carbonatación y que tiene como consecuencia una disminución de la basicidad del concreto, detectable mediante el ensayo de la fenolftaleína (superficie alcalina, color rojo – púrpura o zona carbonatada, incoloro) y que puede despasivar las armaduras de acero embebidas en correspondencia a lo citado por Sánchez (2004) y Kobayashi & Uno (1989).

Ión cloruro.

La durabilidad del concreto afectado por la acción del ión cloruro en estado libre, ligado y total siendo el más peligroso el ión que se encuentra en estado libre disuelto en agua provocando la despasivación de la armadura e iniciando la corrosión. En el presente trabajo, se señalan los especímenes rígidos (concreto armado) Fig. 3, 5, 6, 7 y 9 atacados por factores desencadenantes de la corrosión de la armadura en contacto con el concreto, además, existe la posibilidad de presentar corrosión inducida por

cloruro, reacción de carbonatación y combinación de carbonatación más ión cloruro.

Estados de corrosión e incrustaciones basados en valuaciones estructurales, materiales y finales, deterioros unitarios y probabilidades de operaciones de los especímenes metálicos y rígidos estudiados.

En la Tabla I, se presentan los valores máximos y mínimos para la condición estructural (solicitaciones de cargas estáticas o dinámicas) y material (condición física) de los especímenes metálicos y rígidos en función de las cualidades de degradación, los cuales son usados con la ecuación 1, para determinar los valores promedios finales de los especímenes metálicos y rígidos presentados en Tabla II, los promedios 54 y 68,6 por ciento, de valuaciones finales para los especímenes rígidos (concreto armado) son mayores que los promedios 34,83 y 61,87 por ciento, registrados para los especímenes metálicos en las etapas de tratamiento de agua cruda, sedimentada respectivamente. Lo cual se explica por la acción de los agentes atmosféricos, elementos solubles y pH del agua (Mora *et al.*, 2005).

Tabla I. Valuación cuantitativa estructural y material de los especímenes metálicos y rígidos de las instalaciones hidráulicas de planta “Angostura” Ciudad Bolívar, estado Bolívar.

Etapas de tratamiento	Fases	Figuras	Estructural (por ciento)		Material (por ciento)	
			metálico	rígido	metálico	rígido
Cruda	I	2	90	-	10	-
	I	3	90	90	75	50
	II	4	10	-	10	-
Sedimentada	II	*	90	50	75	50
	II	*	-	90	-	50
	II	5	90	90	10	75
	II	*	90	50	75	75
	I	*	90	90	75	90
Filtrada	I	6	90	30	10	50
	I	7	90	50	10	75
	I	8	90	-	75	-
	II	9	90	10	75	10
	I	*	90	-	10	-
	I	10	90	-	75	-
	II	*	90	-	50	-
	II	11	90	-	75	-

(*): especímenes adicionales metálicos y rígidos considerados en la valuación cuantitativa. (I, II): fases de tiempo de servicio en la fecha de inspección de 50 y 20 años, respectivamente.(-): espécimen metálico o rígido sin valoración estructural o material.

Tabla II. Promedios de valuaciones estructurales, materiales y finales de los especímenes metálicos y rígidos de las instalaciones hidráulicas de planta “Angostura” Ciudad Bolívar, estado Bolívar.

Etapas de tratamiento	Valuación (por ciento)					
	Estructural		Material		Final	
	Metálico	Rígido	Metálico	Rígido	Metálico	Rígido
Cruda	63,33	90	31,66	50	34,83	54
Sedimentada	90	74	58,75	68	61,87	68,6
Filtrada	90	30	47,5	45	51,57	31,5

En la Tabla III, se muestran los promedios de deterioros unitarios para los especímenes metálicos y rígidos obtenidos con la aplicación de la ecuación 2, los resultados están basados en los valores de las valuaciones finales (ver Tabla II), y los correspondientes tiempos de servicios 50 ó 20 años en el momento de la inspección. Para la fase I construcción inicial de planta la degradación anual de 1,30; 0,76 por ciento anual es mayor en los especímenes metálicos en comparación con la degradación anual 0,92; 0,63 y 1,37 por ciento anual, determinada en los especímenes rígidos.

En la fase II ampliación de planta la degradación anual 3,26; 1,91 y 2,41 por ciento anual de los especímenes metálicos es mayor a la observada 2,30; 1,57 por ciento anual, para los

especímenes rígidos. Para ambos casos fases I y II, en los especímenes rígidos (concreto armado) en la etapa de tratamiento de agua filtrada los valores de deterioro unitario 1,37 y 3,43 por ciento anual son mayores con respecto a 0,97 y 2,41 por ciento anual de los especímenes metálicos.

En la Tabla IV, se muestran los promedios de las probabilidades de operación (vida útil más vida residual), obtenidos a partir de los datos reportados en Tablas II y III, mediante la aplicación de la ecuación 3, para los especímenes metálicos y rígidos de la planta de potabilización “Angostura” en las diferentes etapas de tratamiento. En la fase I, la probabilidad de operación 58,70 y 109,24 años para los especímenes rígidos es mayor a la probabilidad 26,73 y 81,15 años de los especímenes metálicos. De igual manera en

Tabla III. Promedios deterioros unitarios de los especímenes metálicos y rígidos de las instalaciones hidráulicas de planta “Angostura” Ciudad Bolívar, estado Bolívar.

Etapas de tratamiento	Deterioro unitario (por ciento anual)			
	Fase I construcción original planta		Fase II ampliación de planta	
	Metálico	Rígido	Metálico	Rígido
Cruda	1,30	0,92	3,26	2,30
Sedimentada	0,76	0,63	1,91	1,57
Filtrada	0,97	1,37	2,41	3,43

Tabla IV. Promedios probabilidades de operación de los especímenes metálicos y rígidos de las instalaciones hidráulicas de planta “Angostura” Ciudad Bolívar, estado Bolívar.

Etapas de tratamiento	Probabilidad de operación (vida útil + vida residual) (años)			
	Fase I Construcción original planta		Fase II Ampliación planta	
	Metálico	Rígido	Metálico	Rígido
Cruda	26,73	58,70	10,69	23,48
Sedimentada	81,15	109,24	32,46	43,69
Filtrada	53,63	22,99	21,45	9,20

fase II, la probabilidad 23,48 y 43,69 años para los elementos rígidos supera a las probabilidades 10,69 y 32,46 años de los especímenes metálicos en agua cruda y sedimentada, respectivamente. En agua filtrada, fases I y II, las probabilidades de operación 53,63 y 21,45 años de los especímenes metálicos son mayores a las probabilidades determinadas 22,99 y 9,20 años para los especímenes rígidos.

Los resultados anteriores pueden interpretarse en términos de funcionalidad relacionando la capacidad de carga y durabilidad material de la estructura hidráulica de la planta “Angostura”, factores externos ambientales (hidrometeorológicos, y agentes agresivos de degradación) provocando el decremento gradual de la funcionalidad de la estructura con respecto al tiempo, lo cual está en correspondencia a lo señalado por Sarja & Vesikari (1996).

La probabilidad de operación en años para la planta “Angostura” puede considerarse como el periodo en el que los elementos rígidos y metálicos de la estructura conservan los requisitos del proyecto inicial sobre los aspectos de: seguridad, funcionalidad y estética, sin costos inesperados de mantenimiento. Dado que en el lapso de operación desde 1954 al 2005 a la planta de tratamiento “Angostura” ha sido necesario realizarle reparaciones, remodelaciones o renovaciones parciales para que la estructura retornara parcialmente a su estado de servicio, segura, funcional y estéticamente minimizando en lo posible los efectos del avance de degradación hasta el límite de posible colapso, en concordancia con el concepto expresado por CYTED (1997).

Considerando lo señalado por CEB. (1992), sobre Estados Límites de Servicios (ELS) y Estado Límite Ultimo (ELU) como valores de frontera de la vida residual de la estructura, probablemente para el año 2116, es decir, dentro de 109,24 años, las condiciones de operación de las estructuras hidráulicas de planta “Angostura” alcanzarían un estado de degradación inaceptable, por lo que la estructura pasaría del estado límite último al colapso. Debido a la no-existencia de registros históricos sobre fallas previas de operación en la planta Angostura y a la ausencia de estudios experimentales de laboratorio realizados para los parámetros de durabilidad con relación al tiempo de vida útil que comprende $T1 + T2$; donde:

(T1): Iniciación de la corrosión. Comprende la concentración de cloruros en la superficie; coeficiente de difusión efectiva en la mezcla de diseño del concreto y concentración crítica de cloruros a la profundidad del acero de refuerzo.

(T2): Propagación de la corrosión. Comprende la penetración de la corrosión; diámetro de la barra de refuerzo y longitud del área corroída; humedad relativa y temperatura del ambiente, velocidad de la corrosión, porosidad del concreto, cantidad disponible de oxígeno disuelto a la profundidad de la barra de acero y relación entre superficie del ánodo y del cátodo.

Los resultados reportados en el presente trabajo no deben ser considerados 100% conservadores dado que los mismos se pueden interpretar como una tendencia probabilística, deben ser verificados y comparados con resultados experimentales. Por ejemplo, ensayos de ultrasonido y/o los cupones de corrosión, o lo descrito por Tuutti (1982).

CONCLUSIONES

1. De acuerdo a las valuaciones de corrosión en especímenes metálicos (válvulas, bombas y tuberías), en la instalación hidráulica de la planta de tratamiento “Angostura”, se concluye que los productos de corrosión (herrumbre color café) observados en las superficies externas son causados por el medio atmosférico, agua (cruda, sedimentada y filtrada), reactivos químicos (sulfato de aluminio, cal hidratada y gas cloro) usados en el proceso.
2. Los productos observados de reblandecimiento, desportillamiento y desintegración en especímenes de concreto armado en la instalación hidráulica de la planta de tratamiento “Angostura”, son efectos multifactoriales de los procesos de: carbonatación, influencia del ión cloruro y oxidación biológica (algas, bacterias y otros).
3. La tuberculación en especímenes metálicos fuera de operación se evidenció por incrustación de materiales diversos que entran en reacciones químicas complejas produciéndose corrosión metálica acompañada por capas de costras exteriores, tienen origen en: carbonatos, silicatos, partículas asentadas, restos de material inorgánico y otros precipitados sobre el material.
4. El máximo deterioro unitario (por ciento anual) determinado en las instalaciones hidráulicas de

la planta “Angostura” para las diferentes etapas de tratamiento (cruda, sedimentada y filtrada), correspondió para los especímenes rígidos.

5. La probabilidad de operación (vida útil + vida residual) máxima para los elementos rígidos en las instalaciones hidráulicas de la planta de tratamiento “Angostura” en las diferentes etapas de tratamiento (cruda, sedimentada y filtrada), se ubica en 109,24 años y la probabilidad máxima de operación para los elementos metálicos en etapas similares de tratamiento se sitúa en 81,15 años.

Evaluation of corrosion and incrustations in the hydraulic installations of a water treatment plant in Bolivar State, Venezuela

SUMMARY

Corrosion in metallic materials (valves, pumps and pipes) and rigid elements (reinforced concrete) are seen as being susceptible to destructive attack and as an important factor during the life of the infrastructure. Given this situation, the object was to carry out an evaluation of corrosion and encrustation of the hydraulic facilities of the water treatment plant ‘Angostura’ in Bolivar City, Bolivar State. The investigation was of the descriptive and analytic type: 16 photographs of metal and rigid elements with corrosion and encrustation flaws were obtained for carrying out a qualitative description. Conditions in corrosions and incrustations were estimated considering the deterioration both in unitary segments of the hydraulic system and the probability of operation in metallic and rigid components. The conclusion was that the observed results were caused by atmospheric elements, water (hard, settled and leaked), and by chemical reactions (aluminum sulfate, hydrated lime, and chlorine gas) used in the process. The results of softening, chipping and disintegration in the reinforced concrete are the multifactorial results of the processes of carbonation, influences of the chloride ion, and biological oxidization. The maximum unitary deterioration in rigid specimens was 3.4% per year and in the metallic specimens 3.26%. The greater probability of operation for the rigid elements was placed at 109.24 years and for the metallic elements at 81.15 years.

Key words: water treatment plant, corrosion, encrustation, probability of operation.

REFERENCIAS

- CEB (Eurointernational Committee for Concrete) (1992). *Durable concrete structures, design guide*. Thomas Thelford Services Ltd, London, UK.
- CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). (1997). *Subprograma XV Corrosión/Impacto Ambiental sobre Materiales*. pp. 154-163. En: *Manual de inspección, evaluación y diagnóstico de corrosión en estructuras de hormigón armado*. CYTED, Maracaibo, Venezuela.
- De Romero M., Aponte B., Arias S., De García F., De Rincón O. & Larreal O. (2005). Diseño de un modelo matemático computarizado de costos por corrosión, *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*. **28**: 28-41.
- Hernández R., Fernández C. & Baptista P. (1998). *Metodología de la Investigación*. 2ª edición. McGraw Hill Interamericana de México S.A, Ciudad de México, México.
- Herro H. & Port R. (1995). *Guía Nalco para el análisis de fallas en los sistemas de enfriamiento por agua*. McGraw Hill Interamericana de México S.A, Ciudad de México, México.
- Kemmer F. & McCallion J. (1998). *Manual del agua su naturaleza, tratamiento y aplicaciones*. McGraw Hill Interamericana de México S.A, Ciudad de México, México.
- Kiely G. (1999). Introducción a la Química y Microbiología en Ingeniería Ambiental. pp. 75 – 197. En: *Ingeniería Ambiental. Fundamentos, Entornos, Tecnologías y Sistemas de Gestión*. McGraw Hill Interamericana de España, S.A.U. Madrid, España.
- Kobayashi K. & Uno Y. (1989). Influence of alkali on carbonation of concrete: Part I. Preliminary tests with mortar specimens, *Cement and Concrete Research*. **19**: 821-826.
- Lane R. (1995). Agua Potable. pp. 43-68. En: *Control de Incrustación y Corrosión en Instalaciones Hidráulicas de Edificios*. McGraw Hill Interamericana de México S.A. de C.V. Ciudad de México, México.

- Lea F. (1971). *The chemistry of concrete*. Chemical Publishing Company, New York, USA.
- Lináres D. & Sánchez M. (2003). Construcción, operación y puesta en funcionamiento de una cámara para carbonatación acelerada, *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*. **26**: 34-44.
- MINFRA (Ministerio de Infraestructura) (2000). *Levantamiento aerofotogramétrico* Ciudad Bolívar-Soledad Esc. 1:25.000 Vuelo, Caracas, Venezuela.
- 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. Sal. Amb.* **45**: 11-21.
- Sánchez, M. J. (2004). *Extracción electroquímica de cloruros del hormigón armado: estudio de diferentes variables que influyen en la eficiencia del tratamiento*. Tesis Doctoral. Ingeniería de la Construcción. Universidad de Alicante, Alicante, España.
- Sarja A. & Vesikari E. (1996). *Durability design of concrete structures*. E & FN SPON, London, UK
- The Armco International Corporation. (1958). *Manual de drenaje y productos de construcción*. R.R. Donnelly & Sons Company, Chicago, USA.
- Tuutti K. (1982). *Corrosion of steel in concrete*. Swedish Cement and Concrete Research Institute, Stockholm, Sweden.
- Zelver N., Characklis W. & Roe F. (1981). Annual Meeting of the Cooling Tower Institute Paper N ° TP239A, CTI (Cooling Tower Institute), Houston, USA.

Recibido el 18/12/2005

Aceptado el 06/03/2006

Determinación de emisiones de solventes volátiles en un laboratorio docente y de investigación de ingeniería química, Valencia, Venezuela

Viky Mujica* & Cathy Pérez

Esta investigación tuvo como objetivo determinar las concentraciones de solventes volátiles en el Laboratorio de Ingeniería Química (LIQ) de la Universidad de Carabobo, Valencia Venezuela. Los equipos evaluados fueron las torres de destilación y extracción sólido-líquido; operando con etanol-agua y hexano como solventes extractivos respectivamente. Se empleó un muestreador activo para recolectar la muestra gaseosa y un medio de colección físico y químico, carbón activado y 5mL de solución absorbente formada por agua destilada y una mezcla al 50% molar de hexano-tolueno. En la torre de destilación se obtuvieron 0,002483 ppm y 0,002742 ppm de etanol, y en la torre de extracción 0,00125 ppm y 0,000758 ppm de hexano para cada medio. Estos resultados se compararon con los reportados en las normas oficiales Venezolanas (COVENIN, 1993), concluyéndose que las concentraciones de etanol y hexano en el área de estudio están por debajo de las concentraciones máximas permitidas.

Palabras claves: emisión, torre de destilación, torre de extracción sólido-líquido, solventes volátiles, COVENIN.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la humanidad contemporánea experimenta el progreso, pero también existen preocupaciones por el deterioro de la salud y el ambiente. El problema ambiental está profundamente relacionado con el vínculo que tiene el hombre con su entorno, y depende también de la relación de los hombres entre sí. La salud ambiental comprende aspectos de la salud humana, que incluye la calidad de vida, que es determinada por factores ambientales físicos, químicos, biológicos y sociales. También se refiere a la teoría y práctica de evaluar, corregir, controlar y prevenir aquellos factores en el ambiente que pueden potencialmente afectar adversamente la salud de presentes y futuras generaciones (Frers, 2006).

La Constitución de la República Bolivariana de Venezuela (1999), en su artículo 127 establece los derechos y deberes que tiene toda persona, individual

y colectivamente, a disfrutar de una vida y de un ambiente seguro, sano y ecológicamente equilibrado, para ésto el Estado Venezolano con una activa participación de la sociedad, debe garantizar que la población se desenvuelva en un ambiente libre de contaminación, en donde el aire, el agua, los suelos, las costas, el clima, la capa de ozono, las especies vivas, sean especialmente protegidos, de conformidad con la Ley.

La contaminación del aire en interiores plantea muchos retos para el profesional hoy en día; por tal motivo la importancia en determinar las fuentes de emisiones de posibles contaminantes que pudieran estar contaminando de forma ininterrumpida ambientes de trabajo (Carter, 1999).

Los individuos que presentan síntomas asociados a las dificultades en la respiración, enfermedades pulmonares relacionadas con el ambiente; pueden haber estado expuestos a sustancias transportadas por el aire en interiores, antes que en ambientes libres. Diversos estudios realizados en los Estados Unidos y Europa muestran que los habitantes de los países industrializados pasan más del 90 por ciento de su tiempo en interiores (EPA, 2003).

* Departamento de Ingeniería Química, Laboratorio de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela

Autor de correspondencia: vcujica@gmail.com

La investigación que se presenta a continuación, consistió en determinar las concentraciones etanol y hexano en el interior del Laboratorio de Ingeniería Química (LIQ) de la Universidad de Carabobo, básicamente los generados por la operación de las torres de destilación y extracción sólido-líquido.

En éstos equipos los estudiantes cursantes de la asignatura Laboratorio de Ingeniería Química II, realizan sus experiencias prácticas relacionadas con la recuperación de etanol en la torre de rectificación; mientras en la torre de extracción se efectúa la extracción de aceites de semillas oleaginosas utilizando como solvente extractivo hexano.

La exposición prolongada a emisiones de etanol y hexano puede causar polineuropatías -debilidad y entumecimiento del músculo- en seres humanos. Entre los factores que favorecen la aparición de esta enfermedad destaca la ausencia de medidas de protección en el lugar de trabajo, individual (mascarillas, guantes, etc.), colectiva (cabinas de extracción), alta temperatura en el lugar de trabajo, inadecuada ventilación y posiblemente exceso de fuentes de emisión de disolventes orgánicos tóxicos (Lezaun, 2003).

Por otra parte, las emisiones de éstos compuestos orgánicos volátiles (COV), junto con los óxidos del nitrógeno (NOx), son precursores del ozono troposférico. La exposición al ozono ambiente es responsable de una serie de impactos de la salud, tales como: alteraciones en la capacidad pulmonar; ojo, nariz, e irritación de la garganta, náusea, y provocación de enfermedades respiratorias (Seinfeld, 2004).

Para el personal del LIQ es una preocupación la exposición de 6 horas semanales por parte de los estudiantes que realizan experiencias prácticas, y de 8 horas diarias del personal técnico y docente a las emisiones de éstos solventes, a los cuales están expuestos. Como bien es cierto, es el pulmón el órgano más afectado por los contaminantes transportados por el aire. Sus efectos agudos pueden incluir signos y síntomas no respiratorios tales como: lesiones en los nervios y parálisis de los brazos y piernas, el grado de afectación dependen de las características toxicológicas de las sustancias y de los factores relacionados con el huésped (Mateos, 1997).

Actualmente el LIQ está adaptando su funcionamiento según lo establecido en las normas sobre higiene y seguridad industrial, por lo tanto, se ve en la necesidad de iniciar acciones para cuantificar las emisiones de solventes volátiles que se producen y estar al tanto de los riesgos a la salud que se pudieran causar.

El control en el ambiente de trabajo ocupa un papel muy importante, para realizar una adecuada valoración del riesgo higiénico, particularmente el control ambiental de emisiones presentes en las operaciones de las torres de destilación y extracción, en que la manipulación de hexano y etanol es trascendental pues las emisiones de éstos solventes son causantes de muchas de las enfermedades mencionadas anteriormente.

Con base en lo expuesto anteriormente, los objetivos de esta investigación fueron:

- 1.- Seleccionar e instalar el sistema de recolección de muestras.
- 2.- Determinar la presencia de emisiones de etanol y hexano, durante la operación de las torres de destilación y extracción sólido-líquido.
- 3.- Comparar las concentraciones obtenidas con lo establecido en Norma Venezolana (COVENIN, 1993).

METODOLOGÍA

De los equipos con los cuales cuenta el laboratorio, se seleccionaron la torre de destilación por platos y la torre de extracción sólido-líquido, cuyas emisiones son los solventes etanol y hexano. Cada torre puede operar con soluciones de 36L etanol-agua y hexano respectivamente. El criterio utilizado para la toma de muestras fue de 6 horas diarias continuas de operación, para ambos equipos durante una semana.

Selección del sistema de muestreo.

En función de los requerimientos del método y de los equipos disponibles en LIQ, se seleccionó como sistema para la recolección de las muestras gaseosas uno tipo activo. Como medio de colección se utilizaron dos opciones: carbón activado granulado como medio de colección físico y una solución absorbente al 50% molar, como medio de colección químico, ambos medios de colección se encuentran

disponibles en el laboratorio. (Martínez & Romieu, 2003).

Requerimientos mínimos de un equipo de muestreo activo

Sistema de muestreo.

El primer componente del sistema de muestreo es la línea de succión, que incluye básicamente: entrada, mangueras, tuberías, bomba de vacío.

La entrada incluye un embudo boca abajo o tapón, como se aprecia en la Fig. 1, para prevenir algún tipo de fuga y entrada de partículas extrañas a la línea de muestreo, tanto el embudo, como las mangueras son químicamente inertes y transparentes (PVC), de manera de poder llevar a cabo inspecciones visuales para verificar que no se tengan condensaciones de la muestra extraída, obstrucciones o depósitos de polvo, durante la operación.

Otro componente de la línea de muestreo, es la bomba de vacío de anillo líquido modelo WRP24, la cual creará el vacío para que la corriente de aire pase por el sistema de colección. Se fija en 6 el número de vueltas en la válvula de succión en la bomba, para garantizar un flujo uniforme y continuo.

Fig. 1. Línea de succión del sistema de muestreo activo para la recolección de emisiones en la torre de destilación por platos.



Sistema de colección de muestras.

Para el muestreo se utiliza como primer sistema de colección carbón activado (ver Fig. 2), donde se lleva a cabo la adsorción en vía seca, de la muestra gaseosa de etanol-agua.

Para el segundo sistema de muestreo se utiliza una solución absorbente contenida en una botella de tipo choque o golpe (Fig.3); donde la corriente de aire muestreado se hace pasar por un tubo de vidrio que tiene un orificio muy fino en un extremo y que está ubicado en una botella, de tal forma, que el orificio queda en el fondo de la misma, entrando el aire muestreado a la botella a una velocidad de 34,7m/s chocando con el fondo, facilitando este hecho la dispersión y mezcla con dicha solución.

Fig. 2. Sistema de recolección activo utilizando carbón activado

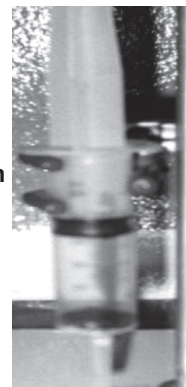
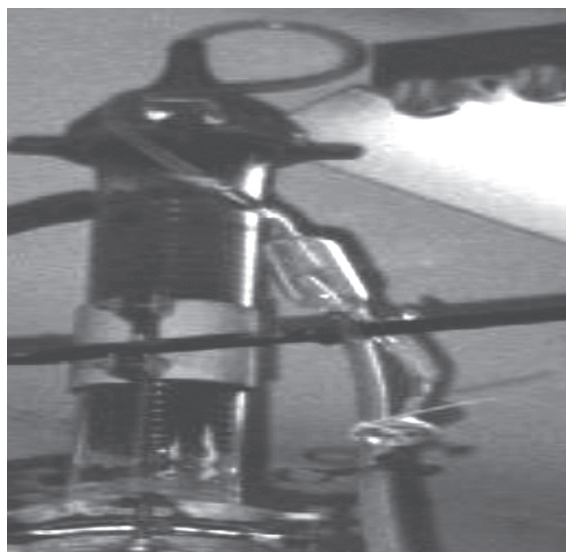


Fig. 3. Sistema de recolección activo utilizando solución absorbente



La solución absorbente está constituida por 5 mL de agua destilada para la torre de destilación y 5 mL una solución de hexano-tolueno (50 % molar) en la torre de extracción sólido-líquido.

Determinación de emisiones.

Muestreo y tratamiento de muestras.

En los equipos estudiados, se instala el sistema de muestreador y recolección de muestras descritos en la sección anterior, se realiza el muestreo durante una semana, considerando el tiempo de operación normal de los equipos durante la realización de las experiencias prácticas para monitorear las emisiones durante la operación normal de los mismos. Para la torre de destilación y extracción el tiempo de muestreo es de 6 horas.

Para la torre de destilación al utilizar carbón activado como medio de recolección, se realiza un lavado del lecho con 3 mL de agua destilada; se mide el índice de refracción del agua de lavado antes y después de efectuar el lavado; la variación del índice representa la existencia de etanol en la muestra. En el caso de emplear la solución absorbente, igualmente se mide el índice de refracción antes y después de efectuada la recolección, y su variación representa la existencia de hexano para el caso de la torre de extracción sólido líquido.

Para cada una de las muestras se toma por triplicado el índice de refracción de la solución de lavado. Posteriormente se determina el promedio del índice de refracción.

Al obtener la variación de los índices, se determina la concentración molar de los solventes estudiados a saber: etanol y hexano, a través de una curva de calibración del refractómetro Abbe Modelo 320 realizada por Mujica (2003). La variación en el índice de refracción de la muestra analizada, indica la presencia de los solventes estudiados; es decir, para el caso de la torre de destilación mientras mayor sea el índice, mayor es la concentración molar de etanol en la muestra. Caso contrario ocurre para la torre de extracción.

Para conseguir finalmente la concentración en ppm de los solventes se determina: fracción volumétrica de la solución de lavado, variación de los

gramos de etanol o hexano en la solución de lavado o absorbente y el flujo volumétrico de aire extraído (Himmelblau, 1997).

Con el flujo volumétrico en función del número de vueltas de la válvula de la bomba de vacío se construye la curva de calibración para la bomba. La curva permite determinar la cantidad de aire succionado desde los equipos torre de rectificación y extracción, en cada una de las experiencias prácticas realizadas para determinar la concentración de solventes volátiles en las emisiones producto de la puesta en marcha de los equipos mencionados anteriormente. Para las torres el número de vueltas que se fijó en la válvula de la bomba de vacío es de 6; obteniéndose que el flujo volumétrico es de 12,1 m³/s; con éste valor y la diferencia de variación de gramos de etanol en la solución de lavado se determina la concentración de etanol o hexano presente en el aire producto del proceso de destilación o extracción mediante la ecuación 1 (McCabe *et al.*, 2003).

$$ppm = \frac{\Delta G}{Q_{aire}} * F \quad (1)$$

Donde:

ppm= Concentración de etanol o hexano en un muestra de aire, mg/L

ΔG = Variación de los gramos de etanol o hexano, g

Q_{aire} = Flujo volumétrico de aire, m³/s

F= Factor de conversión.

Comparación de resultados.

Una vez obtenidas las concentraciones en ppm de los solventes etanol y hexano, se compararon dichos valores con los reportados acerca de las concentraciones ambientales permisibles en lugares de trabajo y límites de exposición biológicos (COVENIN, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla I se muestra la variación del índice de refracción de las muestras tomadas para cada equipo, al utilizar como medio de colección carbón activado; dicha variación representa que efectivamente existe la presencia de emisiones de los solventes etanol y hexano durante la operación de 6

Tabla I. Variación del índice de refracción en las muestras recolectadas en las torres de destilación y extracción utilizando carbón activado

Equipo	Tiempo de operación/ hora	Número de vueltas	Índice de Refracción inicial de la solución de lavado	Índice de Refracción final de la solución de lavado
Torre de destilación	6	6	1,3300	1,3460
Extracción sólido-líquido	6	6	1,4111	1,3950

Tabla II. Variación del índice de refracción de las muestras recolectadas en las torres de destilación y extracción utilizando solución absorbente

Equipo	Tiempo de operación/ hora	Número de vueltas	Índice de Refracción inicial de la solución absorbente	Índice de Refracción final de la solución absorbente
Torre de destilación	6	6	1,3300	1,3410
Extracción sólido-líquido	6	6	1,3970	1,3923

horas continuas de los equipos de torre se destilación y extracción sólido líquido.

Al observar los resultados se evidencia para la torre de destilación que el índice de refracción inicial para la solución de lavado (5mL de agua destilada) es de 1,3300 que corresponde con el del agua pura, al finalizar el proceso de recolección de muestra y efectuar el lavado del lecho de carbón activado, la solución obtenida presenta un índice de refracción de 1,3460; mientras que para torre de extracción la solución para efectuar el lavado inicialmente posee un índice de 1,4111 al finalizar el muestreo y efectuar el lavado el índice obtenido es de 1,3950. Para la torre de destilación la variación del índice en 0,016 no es tan significativa, éste hecho se atribuye a la utilización como solución de lavado y adsorbente agua destilada cuya volatilidad es nula frente a la utilizada para la torre de extracción. Donde la mezcla tolueno-hexano es muy volátil, la mayor contribución en este sentido la posee el hexano por tener una presión de vapor mayor a la del tolueno -Pvapor Hexano= 5,1360 mmHg, Pvapor Tolueno= 3,4430 mmHg- (Smith *et al.*, 2001). En tal sentido, se evaporan 294,275 mg y 520,307 mg de hexano y tolueno respectivamente, trayendo como consecuencia variaciones en los índices de refracción medidos.

En la Tabla II se muestra la variación del índice de refracción de las muestras tomadas para

cada equipo, al utilizar como medio de colección la solución absorbente: La variación indica la presencia de emisiones de los solventes etanol y hexano durante la operación de 6 horas continuas de los equipos de torre se destilación y extracción sólido líquido.

Al observar los resultados se evidencia para la torre de destilación que el índice de refracción inicial para la solución absorbente (5mL de agua destilada) es de 1,3300 que corresponde con el del agua pura, al finalizar el proceso de recolección de muestra la solución presenta un índice de refracción de 1,3410; mientras que para torre de extracción la solución inicial posee un índice de 1,3970 y al finalizar el muestreo el índice obtenido es de 1,3923. Para la torre de destilación la variación del índice en 0,011 no es tan significativa. Por las razones citadas anteriormente al utilizar como medio de colección carbón activado. En este tipo de muestreo se evaporan 176,020 mg y 574,673 mg de hexano y tolueno respectivamente, trayendo como consecuencia variaciones en los índices de refracción medidos.

En la comparación de las concentraciones obtenidas de los solventes etanol y hexano utilizadas en el LIQ, se toma como indicador la concentración ambiental permisible (CAP), definida como la concentración promedio ponderada en tiempo de sustancias químicas a las que se puede estar expuestos repetidamente durante 8 horas diarias y cuarenta

Tabla III. Concentraciones de emisiones de etanol y hexano provenientes de la operación de las torres de destilación y extracción

Medio de muestreo	Equipos	Concentración ppm		Valor máximo permitido, ppm ¹	
		Etanol	Hexano	Etanol	Hexano
Carbón Activado	Torre de Destilación	0,002483	*	1000	*
Solución Absorbente		0,002742			
Carbón Activado	Torre de extracción sólido-líquido		0,001253		
Solución Absorbente		*	0,000758	*	50

¹ COVENIN, 1993

horas semanales sin sufrir daños adversos a la salud. (COVENIN, 1993).

En la Tabla III se muestra la concentración en ppm de las emisiones de etanol en la torre de destilación, obteniéndose como resultando 0,002483 ppm y 0,002742 ppm al utilizar carbón activado y la solución absorbente respectivamente. Al comparar estas concentraciones con la reportada de 1000ppm para el etanol en COVENIN (1993), se evidencia que las emisiones de éste solvente en el LIQ están por debajo de lo permitido en la mencionada norma. En cuanto a la torre de extracción, las emisiones obtenidas son 0,001253 ppm y 0,000758 ppm al utilizar carbón activado y solución absorbentes respectivamente; estos valores se encuentran por debajo de las concentraciones permitidas en COVENIN (1993) para las emisiones de hexano (50ppm). Esta norma establece las concentraciones ambientales permisibles en lugares de trabajo; bien sean polvos, gases o vapores, que debido a sus propiedades pasan al ambiente de trabajo y representan las condiciones bajo las cuales se acepta que pueda estar expuesto el ser humano día tras día sin sufrir efectos adversos a la salud. En función de los resultados obtenidos de emisiones para los equipos torre de destilación y extracción, se evidencia que el LIQ está cumpliendo con esta disposición desde el punto de vista legal y de salud ocupacional.

Por otra parte, al comparar las concentraciones obtenidas para el caso del hexano, con los límites de exposición internacionales en lugares de trabajo propuesto por la Administración de la Salud

y Seguridad Ocupacional (OSHA) de 500 ppm como promedio durante una jornada de trabajo de 8 horas, y con el Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH) de 50 ppm como promedio durante una jornada de trabajo de 10 horas, se evidencia una vez más que en LIQ se cumple con los estándares internacionales en cuanto exposiciones a lugares de trabajo

CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de etanol obtenidas son de 0,002483ppm y 0,002742ppm, al utilizar como medio de colección carbón activado y solución absorbente respectivamente.
2. Las concentraciones de hexano obtenidas son de 0,001253ppm y 0,000758, al utilizar como medio de colección carbón activado y solución absorbente respectivamente.
3. Las concentraciones de hexano y etanol, provenientes de la operación de las torres de destilación y extracción están por debajo de las concentraciones permisibles en lugares de trabajo venezolanas e internacionales.

Determination of volatile solvents in a teaching and research laboratory of chemical engineering, Valencia, Venezuela

SUMMARY

This research aimed to evaluate the emission of volatile solvents in the Laboratorio de Ingeniería

Química of the Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela. Distillation and extraction of solid-liquid towers were evaluated using ethanol-water and hexane as extractive solvents, respectively. An active sampler to collect medium gaseous samples and a physical-chemical medium, activated coal and 5mL of absorbent solution of distilled water and 50% molar hexane-toluene mixture, were used. Concentrations of 0.002483 ppm and 0.002742 ppm of ethanol were obtained for the distillation tower and 0.001253 ppm and 0.000758 ppm of hexane for the extraction tower in each medium. These results were compared against Venezuelan standard official regulations (COVENIN, 1993), which led to the conclusion that these concentrations are under the maximum allowed concentrations.

Key words: emission, distillation tower, extraction tower, volatile solvents, COVENIN.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración del personal técnico y docente que labora en el Laboratorio de Ingeniería Química, de la Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, por su valiosa colaboración en la instalación de los equipos para la recolección de muestras y monitoreo.

REFERENCIAS

- Administración de la Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA 3117). *Información Sobre Los Riesgos de Los Productos Químicos*. [Citado: Marzo, 2003]. Disponible en URL: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phshome.html
- Canter L. (1999). *Manual de Evaluación de Impacto Ambiental*. TIMUN MAS. 2a edición. Mc Graw Hill, Madrid.
- Constitución de la República Bolivariana de Venezuela. (1999). Capítulo IX. *De los derechos ambientales* Art.127.
- COVENIN (1993). *Concentraciones Ambientales permisibles en lugares de trabajo y límites de exposición Biológicos*. FONDONORMA 2253-93. 9-28. Venezuela.
- EPA (2003). American Lung Association. Consumer Product Safety Commission. American Medical Association. CEPIS. (1989) [Citado: Enero 2003]. Disponible en URL: <http://www.epa.gov/OWM/wm046200.htm>.
- Frers C. (2006). Aspectos de la salud ambiental. *Rev. Ecol. Medio Amb. Planeta*. [Citado: 24 Marzo 2006] Disponible en URL <http://www.astrolabio.net/revistas/articulos/EEuEuEyluANlkcQre.php>
- Himmelblau D. (1997). *Balances de Materia y Energía*. 6a edición. Prentice-Hall Hispanoamericana S.A. México
- Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional. (NIOSH). *Calidad ambiental interior* (IEQ). [Citado: 24 Marzo 2006] Disponible en URL: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phshome.html
- Lezaun M. (2003). Intoxicaciones de origen laboral. *Anales Sis San Navarra*. **26** (Supl.1): 265-273 [Citado 24 Marzo 2006]. Disponible en URL: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113766272003000200016&lng=es&nrm=iso
- Martinez A. & Romieu I. (2003). Revisión de metodologías existentes. En: *Introducción al monitoreo atmosférico*. [Citado: Septiembre 2003]. Disponible en URL: <http://www.cepis.ops-oms.org>.
- Mateos F. (1997). Sistemas de Vigilancia continúa de emisiones. *Rev. Ing. Quím*. **336**: 79-86.
- McCabe W., Smith J. C. & Harriott P. (2003). *Operaciones Unitarias de Ingeniería Química*. 6a edición. McGraw Hill. Madrid
- Mujica V. (2003). *Establecimiento de un sistema de gestión ambiental bajo la normativa ISO 14000 en el laboratorio de Ingeniería Química de la*

Universidad de Carabobo. Trabajo especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo. Área de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ingeniería. Venezuela.

Smith J., Van Ness H. & Abbott M. (2001). *Introducción a la termodinámica en Ingeniería Química*. 6a edición. McGraw Hill. Madrid.

Seinfeld J. (2004). *Contaminación atmosférica: fundamentos físicos y químicos*. 6a edición. McGraw Hill, Madrid.

Recibido el 16/01/2006
Aprobado el 24/04/2006

Nota Científica

Detección de infecciones subclínicas por *Trypanosoma vivax* en bovinos de fincas ganaderas de Mérida, Venezuela

Ana Maria Bolívar¹, Pablo García-Lugo¹, Gladys Crisante¹, Agustina Rojas¹,
Marta MGTeixeira², Nestor Añez^{1*}

Se registra la detección de infecciones subclínicas por *Trypanosoma vivax* en bovinos asintomáticos de fincas ganaderas de Mérida, Venezuela. El diagnóstico fue realizado utilizando métodos parasitológicos (examen microscópico de muestra fresca, micro-capilar y láminas coloreadas); bioquímicos (Western blot) y moleculares (PCR) en muestras sanguíneas. Se advierte sobre el riesgo potencial que infecciones asintomáticas, ocultas o inaparentes pudieran representar para los rebaños bovinos. Se discute su significado y su importancia epizootiológica para regiones ganaderas del país.

Palabras claves: *Trypanosoma vivax*, ganado bovino, infecciones subclínicas.

Trypanosoma (Duttonella) *vivax* Ziemann (1905), es el agente causal de una de las más importantes formas de tripanosomiasis detectadas en animales ungulados silvestres y domésticos entre los que se encuentran bovinos, búfalos, cabras, ovejas, camellos y ciervos de países tropicales y subtropicales de Asia, África y América (Sandoval *et al.*, 1996, *Vet. Trop.* **21**: 13-33; Tamasaukas & Roa, 1996, *Tripanosomiasis bovina* (T. *vivax*): *Una Revisión*, FONAIAP, Maracay, Venezuela). A pesar de la amplia gama de hospederos, es en el bovino donde el curso de la infección ha sido mayormente estudiado debido fundamentalmente a las implicaciones económicas, entre las que se mencionan infertilidad en el ganado y pérdidas basadas en el número de animales afectados por finca, duración

del brote, mortalidad, abortos, gastos por tratamiento (drogas tripanocidas, reconstituyentes y electrolitos), asistencia veterinaria, diagnóstico de laboratorio, retardo en el crecimiento y pérdidas en la producción de leche, carne y cuero (Guillen *et al.*, 2001, *Vet. Trop.* **26**: 47-62).

Las manifestaciones clínicas producidas por *T. vivax* son muy variables, observándose desde accesos febriles, emaciación, disenteria y anemia que pueden ocasionar la muerte hasta infecciones totalmente asintomáticas o subclínicas (Silva *et al.*, 1996, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **91**: 561-562).

Existe consenso sobre el mecanismo de transmisión vectorial de *T. vivax*, incriminándose entre otros, dípteros hematófagos de los géneros *Glossina*, *Tabanus* y *Stomoxys* (Otte & Abuabara, 1991, *Acta Tropica*, **49**: 73-76), aunque la transmisión puede ser llevada a cabo por especies de los géneros *Boophilus*, *Culicoides* y *Psilopelmia* (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2003, *Rev. Biomed.* **14**: 29-33); habiéndose señalado

¹ Investigaciones Parasitológicas "J. F. Torrealba", Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Mérida, 5101, Venezuela.

² Departamento de Parasitología, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor de Correspondencia: nanas@ula.ve

la transmisión transplacentaria por algunos autores (Meléndez *et al.* 1993, *J. Parasitol.* **79**: 293-294; González & Espinoza, 1994, *Vet. Trop.* **19**: 41-53).

Los medios más comunes para detectar infecciones por *T. vivax* incluyen entre otros, métodos serológicos y parasitológicos. Estos últimos confrontan como inconveniente principal la baja sensibilidad en la medida que la infección tiende a la cronicidad o la parasitemia se mantiene en bajos niveles (De Almeida *et al.*, 1997, *Acta Tropica*, **66**: 45-50). Los métodos serológicos como el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la inmunofluorescencia indirecta (IFI) parecieran ser los métodos que han proporcionado los mejores resultados. Sin embargo, sus principales deficiencias son no poder discriminar entre infecciones recientes y pasadas y no diferenciar entre reacciones cruzadas con otros patógenos con los que *T. vivax* comparte similitud antigénica como *Trypanosoma evansi* y *T. theileri* (Desquesnes, 1997, *Acta Tropica*, **65**: 139-148; Morlais *et al.*, 2001, *Acta Tropica*, **80**: 207-213). Recientemente, las técnicas de biología molecular, particularmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha permitido revelar infecciones en animales sintomáticos o asintomáticos sin parasitemia detectable (Dirie *et al.*, 1993, *Parasitol.* **106**: 21-29). Diferentes secuencias de ADN y ARN han sido diseñadas a partir de aislados africanos y americanos a fin de obtener mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico. Sin embargo, a pesar de ello, su uso en diagnósticos de campo ha sido limitado (Ventura *et al.*, 2001, *Exp Parasitol*, **99**: 37-48). En el presente, muchos investigadores han utilizado la compatibilidad genética con *T. evansi* para justificar el uso de antígeno de este parásito en la elaboración de pruebas diagnósticas para la detección de tripanosomiasis por *T. vivax* (Uzcanga *et al.*, 2002, *Parasitol.* **124**: 287-299). Sin embargo, esta situación pudiera generar inconvenientes en zonas ganaderas donde la tripanosomiasis por *T. evansi* también sea endémica, pudiéndose atribuir reacciones positivas observadas a la presencia de *T. evansi* en bovinos en ausencia de *T. vivax* (Toro *et al.*, 1980, *Vet. Trop.* **5**: 43-50). En relación con la prevalencia de la tripanosomiasis bovina por *T. vivax* en Venezuela, durante la última década se han venido detectando valores de 20,8% al 57,8% por exámenes serológicos e infecciones activas de 1% a 3,9% por exámenes parasitológicos directos (Toro, 1990, *Seroepidemiología de las Hemoparasitosis en Venezuela*, USB-FCV-UCV, Venezuela; Perrone *et al.*, 1991, *Acta Cient. Venezol.* **42**(Supl.1): 208; Tamasaukas *et al.*, 1996, *Acta Cient.*

Venezol. **48**(Supl.1): 71). A pesar de estos hallazgos, el interés por la investigación sobre *T. vivax* es escaso, circunstancia que ha traído como consecuencia que en muchas zonas ganaderas la comprensión de su verdadera epizootiología y el verdadero papel que juega como limitante de la producción bovina sean restringidos (Rivera, 1996, *Hemoparasitosis bovinas: tripanosomiasis*. UCV. C.D.C.H, Venezuela).

En el presente trabajo se registra la detección de infecciones subclínicas o asintomáticas producidas por *T. vivax* en bovinos de fincas ganaderas del estado Mérida localizadas entre el pie de monte andino y la depresión de la cuenca del Lago de Maracaibo, área escogida por su jerarquía de zona ganadera. Tres métodos diagnósticos fueron utilizados:

- 1) Diagnóstico parasitológico directo mediante el empleo de microcapilar, examen al fresco y frotis sanguíneo coloreado.
- 2) PCR como herramienta molecular, empleando los oligonucleótidos especie-específicos-TviSL1 y TviSL2- de secuencia 5' GCTCTCCAATCTTAACCTA3' y 5' GTTCCAGGCGTGCAACGTC3' respectivamente, siguiendo la metodología descrita por Ventura *et al.* (2001, loc cit.).
- 3) Western blot con proteínas citosólicas de las formas sanguíneas de *T. vivax* (Bolívar *et al.*, 2006 en preparación). El material biológico para realizar la detección de infecciones por *T. vivax* en bovinos consistió de sangre completa anticoagulada para la realización de los métodos parasitológicos y molecular (PCR) y suero como anticuerpo primario para la prueba de Western blot. La muestra de sangre en cada animal fue tomada por punción de la vena yugular colectándose en tubos con citrato de sodio al 3,8% (dilución 1:9) y en tubos secos sin anticoagulante según el caso. Las muestras debidamente rotuladas fueron transportadas en frío al laboratorio para los análisis respectivos.

Un total de 72 bovinos de diferentes tamaños, edades y razas fueron examinados en 7 fincas ganaderas del estado Mérida. Los mismos de acuerdo al examen veterinario no presentaban signos o síntomas asociados a tripanosomiasis bovina. Los controles negativos fueron bovinos de la raza Holstein de la zona alta de Mérida, la cual ha sido catalogada como área no endémica para la tripanosomiasis bovina. Las pruebas parasitológicas revelaron positividad en 2 de los 72 bovinos examinados (2,8%). La detección

de parásitos circulantes por las técnicas de examen al fresco y frotis sanguíneo coloreado fueron reconocidos morfológicamente de acuerdo a los criterios de Hoare (1972). La Fig. 1 muestra especímenes detectados durante el examen de sangre. Ambos animales positivos pertenecían al mismo rebaño y los mismos exhibían buena condición física. Las infecciones subclínicas o asintomáticas detectadas por métodos parasitológicos fueron corroboradas por PCR en muestra de sangre de ambos animales. En este caso el producto de amplificación de PCR, reveló una banda de 210 pb correspondiente al fragmento amplificado de la región intergénica del gen SL de *T. vivax* (Fig.

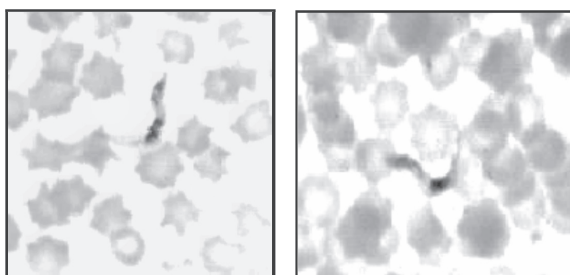


Fig. 1. *Trypanosoma vivax* en sangre periférica de bovinos asintomáticos. Frotis sanguíneo coloreado con Giemsa 1000X.

2). Similarmente, la detección de infección subclínica por *T. vivax* en bovinos fue también confirmada con la utilización de una fracción proteica de membrana del parásito, la cual fue utilizada como antígeno en una reacción de Western blot donde el anticuerpo primario fue el suero de animales expuestos a la infección (ver Bolívar *et al.*, 2006). En este caso se obtuvo en uno de los 2 animales positivos una banda de aproximadamente 54 kDa. Quizás la razón de no detectar la misma señal en el otro animal positivo podría deberse a una infección reciente en la que los niveles de IgG a la cual se asocia el método usado hayan estado muy bajos en el animal infectado. Durante esta prueba fue comprobada la especificidad de la reacción para *T. vivax*, utilizando suero de animales con infecciones causadas por *Anaplasma marginale*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium paratuberculosis* y *T. evansi* los cuales fueron negativos. Detalles de la reacción de Western blot utilizando la fracción proteica de membrana de *T. vivax* se muestra en la Fig. 3.

Analizando los resultados obtenidos en esta experiencia, se considera que los siguientes aspectos justifican la presente comunicación:

- 1.- Se detecta la presencia de infecciones subclínicas, asintomáticas o inaparentes causadas por *T. vivax* en bovinos aparentemente saludables en un área de importancia ganadera del Estado Mérida, Venezuela.

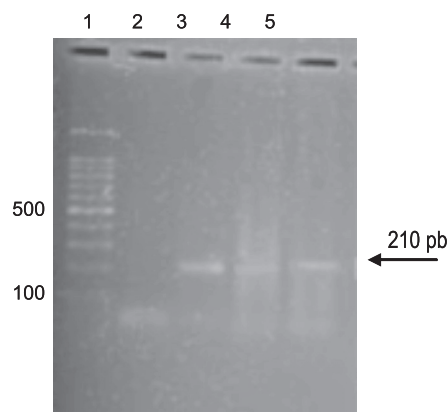


Fig. 2. Detección de infecciones asintomáticas por *T. vivax* empleando la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

1: marcador de peso molecular; 2: control de reacción (agua); 3: ADN genómico *T. vivax*; 4 y 5: muestras sanguíneas de bovinos positivos a *T. vivax* por métodos parasitológicos.

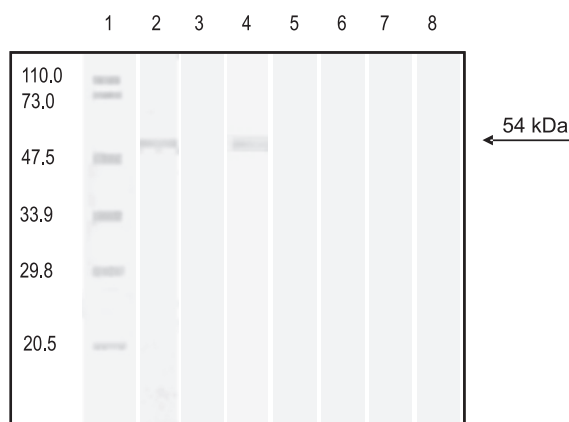


Fig. 3. Detección de Infecciones por *T. vivax* en bovinos mediante Western blot.

1: marcador de peso molecular; 2: control positivo de reacción; 3 y 4: suero de bovinos positivos a *T. vivax* por parasitología y PCR; 5, 6 y 7: suero de bovino positivo a *A. marginale*, *M. bovis* y *M. paratuberculosis* respectivamente; 8: suero de equino positivo a *T. evansi*.

- 2.- La coincidencia diagnóstica de métodos parasitológicos, bioquímicos y moleculares confirman la presencia de infecciones ocultas por *T. vivax*, demostrando la circulación del parásito en animales portadores sanos, lo cual los convierte en reservorios potenciales.
- 3.- Se advierte sobre la posibilidad de que animales con infecciones subclínicas por *T. vivax* puedan reactivar la infección en condiciones de compromiso inmunológico, convirtiéndose en fuente de infección para animales jóvenes, los cuales actuarían como génesis potencial de epidemias.
- 4.- Se sugiere la posibilidad de que las infecciones subclínicas pudieran estar superando el número de casos clínicos sintomáticos y se insta a la realización de trabajos similares con un mayor número de ejemplares que los reportados en la presente nota preliminar.
- 5.- Se sugiere la utilización de métodos sensibles y específicos como PCR y/o bioquímicos (Western blot) para estimar la prevalencia real de las infecciones por *T. vivax* en áreas ganaderas de importancia económica.

Detection of *Trypanosoma vivax* subclinic infections in cattle from Merida, Venezuela

SUMMARY

Subclinic infections of *Trypanosoma vivax* were detected in symptomless animals from cattle farms in Merida, Venezuela. Parasitological (microscopical examination of: fresh, capillary tubes and stained slides-blood samples); biochemical (Western blot) and molecular (PCR) methods were used for diagnosis in blood sample. The significance, potential risk and epizootiological importance, are discussed.

Key Words: *Trypanosoma vivax*, cattle, subclinic infection.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos la colaboración de los Med. Vet. R. Bolívar y C. Rivas durante el trabajo de campo. A los productores quienes facilitaron el estudio en sus fincas. Soporte económico recibido por CDCHT-ULA-C-1210-03-03-EM (NA).

Recibido el 26/04/2006
Aceptado el 05/06/2006

Revista de revistas

□ ABRAMSON C. I., ROMERO F. S., FRASCA J., FEHR R., LIZANO E. & ALDANA E. (2005). **Psychology of learning: a new approach to study behavior of *Rhodnius prolixus* Stal under laboratory conditions.** (Psicología del aprendizaje: un nuevo enfoque para el estudio, en condiciones de laboratorio, del comportamiento de *Rhodnius prolixus* Stal). *Psychological Reports*. **96**: 721-31.

Laboratory of Comparative Psychology and Behavioural Biology, Oklahoma State University, USA, Laboratorio de Entomología "Hernán Lent", Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela

Las metodologías del Condicionamiento asociadas con la psicología del aprendizaje son propuestas en este trabajo como una nueva estrategia para estudiar el comportamiento de *Rhodnius prolixus*, principal vector de la Enfermedad de Chagas en Venezuela. Se realizaron dos experimentos, en el primero se examinó el Condicionamiento Pavloviano apareando un estímulo condicionado (olor) con un estímulo no condicionado (temperatura). La temperatura de 42 °C evoca una secuencia compleja de comportamientos consistente de extensión de la proboscis y desplazamiento del insecto a la fuente de calor y olor. Después de 12 exposiciones a estos estímulos apareados, dicho comportamiento no fue evocado cuando los insectos eran expuestos sólo al estímulo condicionado (olor). En el segundo experimento, se aplicó el paradigma de inhibición latente, pre-exponiendo al insecto al estímulo condicionado (olor) antes de exponerlo a los estímulos condicionado (olor) y no condicionado (temperatura) apareados. Se encontró un efecto a la pre-exposición.

□ GUEVARA P., DIAS M., ROJASA., CRISANTE G., ABREU-BLANCO M. T., UMEZAWA E., VAZQUEZ M., LEVIN M., ANEZ N. &

RAMIREZ, J. L. (2005). **Expression of fluorescent genes in *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae): its application to parasite-vector biology.** (Expresión de genes fluorescentes en *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae): su aplicación a la biología parásito-vector). *J. Med. Entomol.* **42**: 48-56.

Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela, Caracas 1041A, Venezuela. palmiragt@yahoo.com.mx

Dos vectores de expresión derivados de *Trypanosoma cruzi*, pTREX-n y pBs:CalB1/CUB01, fueron utilizados para dirigir la expresión de la proteína de fluorescencia verde (GFP) y la proteína DsRed, en aislados de *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920, y *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909. Independientemente de la especie, grupo o aislado, los parásitos conteniendo las construcciones transfectadas en episomas o integrados cromosomales estables, mostraron altos niveles de expresión de las proteínas fluorescentes. Los flagelados marcados de ambas especies fueron utilizados para infectar experimentalmente a *Rhodnius prolixus* Stal, 1953. En los insectos infectados, las infecciones sencillas o mixtas de *T. cruzi* y *T. rangeli*, mostraron los ciclos típicos de cada especie sin una aparente interacción ínter especie. Aún más, la infección de células de riñón de mono (LLC-MK2) con *T. cruzi*, mostró que el parásito mantiene su marcaje fluorescente durante el ciclo de vida en las células de cultivo. Se discute el uso de los parásitos marcados con GFP como una herramienta en estudios biológicos en hospedadores experimentales, como la aplicación de esta metodología en estudios de copoblaciones de parásitos en un mismo hospedador.

□ MORGAN J. A., DEJONG R. J., ADEOYE G. O., ANSA E. D., BARBOSA C. S., BREMOND

P., CESARI I. M., CHARBONNEL N., CORREA L. R., COULIBALY G., D'ANDREA P. S., DE SOUZA C. P., DOENHOFF M. J., FILE S., IDRIS M. A., INCANI R. N., JARNE P., KARANJA D. M., KAZIBWE F., KPIKPI J., LWAMBO N. J., MABAYE A., MAGALHAES L. A., MAKUNDI A., MONE H., MOUAHID G., MUCHEMI G. M., MUNGAI B. N., SENE M., SOUTHGATE V., TCHUENTE L. A., THERON A., YOUSIF F., ZANOTTI-MAGALHAES E. M., MKOJI G. M. & LOKER E. S. (2005). **Origin and diversification of the human parasite *Schistosoma mansoni***. (Origen y diversificación del parásito humano *Schistosoma mansoni*). *Molecular Ecology*. **14**: 3889-3902

Department of Biology, University of New Mexico, Albuquerque, New Mexico 87131 USA

Schistosoma mansoni es el de más amplia distribución entre los esquistosomas que infectan al hombre, estando presente en 54 países, predominantemente en África, pero también en Madagascar, la península Arábiga y en el Neotrópico. Parásitos adultos han sido ocasionalmente recuperados de mandriles, roedores y otros mamíferos. Los estadios larvales del parásito son dependientes de ciertas especies de caracoles de agua dulce del género *Biomphalaria*, lo cual determina en general el rango de distribución geográfica de este parásito. Hasta la fecha no se ha determinado cómo se distribuye geográficamente la diversidad genética de *S. mansoni* y cómo lo hace entre aislados del parásito que usan diferentes hospedadores, utilizando datos de secuencias de ADN. En este trabajo se describe la filogeografía global de *S. mansoni* usando más de 2500 pb de ADN mitocondrial (ADNmt) de 143 parásitos recolectados en 53 localidades ampliamente distribuidas en el mundo. Se encontró una diversidad considerable intra-especie en el ADNmt, con 85 haplotipos únicos, que se agruparon en 5 linajes distintos. La separación geográfica, más no el uso de un hospedador determinado, parece ser el factor más importante en la diversificación del parásito. Los especímenes de África Oriental mostraron una gran variación, la cual comprendía 3 "clades" y miembros basales para un cuarto, lo cual sugiere firmemente el origen del parásito en África Oriental hace unos 0.30-0.43 millones de años, una fecha que sigue a la llegada del caracol hospedador. En el resto de África se encontró una variación menor aunque sustancial. La colonización reciente del Nuevo Mundo se sustenta en el hallazgo de sólo 7 haplotipos específicos, estrechamente relacionados, que tiene afinidad con los de África Occidental. Todos los aislados brasileños tienen haplotipos casi idénticos, sugiriendo un efecto fundador desde el establecimiento y dispersión del parásito en este extenso país.

□ CARRASCO H. I., TORRELLAS A., GARCIA C., SEGOVIA M. & FELICIANGELI M. D. (2005). **Risk of *Trypanosoma cruzi* I (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) transmission by *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) in Caracas (Metropolitan District) and neighboring States, Venezuela**. (Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) por *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) en Caracas (Distrito Metropolitano) y estados vecinos, Venezuela (2005). *Int. Journal Parasitology*. **20**: 1-6.

Instituto de Medicina Tropical, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela; BIOMED, Universidad de Carabobo, Apartado 4873, Núcleo Aragua, Maracay, Venezuela

La recolección de *Panstrongylus geniculatus* por habitantes de Caracas (Distrito Metropolitano) y estados vecinos, Miranda y Vargas, permitieron reunir datos sobre el rol potencial de este triatomo selvático como vector de la Enfermedad de Chagas. Se determinó la infección natural a *Trypanosoma cruzi* examinando heces frescas y teñidas con Giemsa. Adicionalmente se empleó la técnica de amplificación al azar de DNA polimórfico (RAPD) para la tipificación del parásito. Se usó una prueba de dot-ELISA para identificar el contenido intestinal de los triatominos con el propósito de demostrar y cuantificar el contacto vector-hombre. Setenta y siete especímenes (76.1%) fueron positivos a *T. cruzi*, (identificados como *T. cruzi* I) y 60.2% (53/88) dieron una reacción positiva para antisuero humano. Las muestras positivas a sangre humana incluyeron ingestas sanguíneas mixtas con animales domésticos (perro, cerdo y bovino) (9.4%) y con ratón (38%). El índice total de sangre humana, calculado como el porcentaje de triatominos cuyo contenido intestinal reaccionó con antisuero humano, sobre el total de los triatominos que reaccionaron con todos los antisueros utilizados, fue de 98.1%. Casi 41% de los insectos que se habían alimentado de humano estaban también positivos a *T. cruzi*. Estos datos demuestran que la alimentación de humanos por parte de *P. geniculatus* no parece ser accidental y que su tasa de infección por *T. cruzi* es elevada en un área que no es considerada endémica para Enfermedad de Chagas dentro del Programa Nacional de Control. La situación es particularmente impactante ya que ocurre en Caracas, la ciudad capital y sus alrededores, donde se concentra el 20% de la población Venezolana y las migraciones humanas de las áreas endémicas son continuas, las personas que viven en barrios hacinados, así como en casas de buena calidad son igualmente expuestos al riesgo y el ciclo epidemiológico de *Didelphis marsupialis*/*Rattus rattus*-*P. geniculatus*-humano parece ocurrir exitosamente.

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 contenido 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 sometidos 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 y 20 separatas por correo.

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 and 20 offprints by mail.

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 y adecuado 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.
-



Gobierno **Bolivariano**
de Venezuela

Ministerio
de
Salud

