

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

UN METODO ENTOMOLOGICO PARA VALORAR LA EFICACIA DE LAS MEDIDAS DE ATAQUE EMPLEADAS EN LAS CAMPAÑAS CONTRA EL PALUDISMO

DANIEL LUIS VARGAS *

El método mencionado se basa en la determinación de porcentajes de hembras paridas de mosquitos, cuyos valores se obtienen en observaciones repetidas que se usan para hacer comparaciones en relación con una variable en cada caso particular, principalmente el efecto insecticida contra imagos.

La valoración de la eficacia de las medidas de ataque empleadas en la lucha contra el paludismo puede hacerse por métodos entomológicos, por el estudio en el hombre de los casos autóctonos y necesariamente por ambos métodos comparados. Los objetivos y procedimientos de búsqueda y clasificación de los casos en el hombre son muy conocidos y la interpretación de los resultados es familiar para los malariólogos. No sucede lo mismo tratándose del vector; es por eso que aquí sólo se mencionan aspectos entomológicos.

Ya desde 1964, Garret-Jones y Brab¹ señalaron la importancia de la valoración del impacto del insecticida en la capacidad vectorial de *Anopheles* partiendo de datos referentes a la proporción de hembras paridas. Este es el tema que se desarrollará.

I. Estudio de hembras paridas

Para valorar el impacto del insecticida en la capacidad vectorial o de la recuperación de la capacidad vectorial

debida al fenómeno de la selección para la resistencia o para evitar al tóxico se estudia la proporción de hembras de vectores que muestran signos de haber ovado.¹ La proporción de hembras paridas puede mostrar, además de la mortalidad de imagos, variaciones en la producción de mosquitos por los criaderos. El registro sistemático de las paridas puede obtenerse por muestreos periódicos de cantidades significativas de ejemplares. Sin embargo, algunas veces estos números son difíciles de alcanzar en periodos inmediatos posteriores al rociado, por escasez de ejemplares.

Se recomienda el método mencionado porque es fácil de aplicar y los resultados son muy útiles si se obtienen por la observación de números significativos de ejemplares en periodos que puedan ser comparables. Estos cálculos son básicos para proceder a determinar la capacidad vectorial y a comprender mejor la epidemiología de enfermedades transmitidas por artrópodos.

Los métodos aconsejables para capturar mosquitos son muy conocidos y por eso no se mencionan o describen. Con los ejemplares capturados tiene que calcularse la probabilidad de sobrevivencia diaria de la población de mosquitos o la sobrevivencia de éstos en un número fijo de días.

Se emplea la siguiente fórmula:²

$$p = \sqrt[t]{t}$$

* Académico titular.

donde p es la probabilidad de sobrevivencia diaria de los individuos que forman la población de vectores, donde la raíz cuadrada de la proporción de hembras paridas es t , y n , la duración del ciclo gonotrófico expresado en días. El valor de p es válido para el periodo durante el cual se capturaron las hembras, según el método que se haya escogido. Las variaciones de este índice se pueden usar para valorar el impacto de las medidas de ataque, si se eliminan parámetros que pudieran también ser importantes en las variaciones numéricas del cálculo, como son fenómenos meteorológicos extraordinarios, fuertes migraciones humanas, cambios considerables en los números de animales domésticos que son atacados por los vectores y otros.

Si se determina el valor de la probabilidad de sobrevivencia p y se conoce la duración del ciclo gonotrófico n , entonces puede predecirse qué porcentaje de hembras paridas puede encontrarse, t , dentro de los límites de probabilidad según los cálculos siguientes:

$$\text{Log } p = \frac{\log t}{n} \text{ y } \log t = \log p, \text{ también } n = \frac{\log t}{\log p}$$

(cuadro 1).

Para valorar la composición etaria de la población de mosquitos que interesa es necesario examinar una muestra del grupo, como es la que comprenda la misma etapa del ciclo gonotrófico capturada picando al hombre en la noche, separando las del peridomicilio de las que piquen dentro de la casa. No deben examinarse hembras no alimentadas procedentes de trampas, casas o de refugios naturales.

Las hembras paridas y las nulíparas se pueden distinguir observando los siguientes caracteres más significa-

tivos en este estudio: a) *Meconio en el estómago*: en el llamado estómago de las hembras recién nacidas, de menos de un día de edad, generalmente se encuentra una pequeña cantidad de residuo alimenticio de color verdoso que proviene de la etapa de larva. b) *Fecundación*: en una espermateca colocada en un portaobjetos con solución salina, separada de otras estructuras abdominales, puede verse un haz de espermatozoides que muestra movimientos de rotación. Se puede aplastar la espermateca para observar los pequeños filamentos. En hembras no fecundadas la espermateca se aplasta sola y únicamente sale líquido. Hembras con espermateca vacía deben considerarse vírgenes recién nacidas. c) *Etapa de desarrollo ovárico*: la etapa I se observa sólo en ejemplares recién nacidos, no alimentados anteriormente y que trataban de picar. Los ejemplares que tienen sangre fresca y ovarios en la etapa II son hembras que picaron por primera vez. d) *Tapón de la cópula*: en hembras recientemente fecundadas se encuentra en el oviducto un tapón gelatinoso como de 0.5 mm. de longitud, el que persiste de 12 a 36 horas después de la cópula. En las disecciones el oviducto generalmente se desgarran y el tapón se debe buscar en la salina, donde es difícil de ver. Como las hembras de mosquito por lo común sólo copulan una vez en la vida, la presencia del tapón señala nuliparidad. e) *Retención de huevos maduros*: después de la ovulación, generalmente 5 por ciento de las hembras retiene uno o más huevecillos en la etapa V, lo cual indica que la hembra ha ovado por lo menos una vez. f) *Dilataciones en el tallo folicular y residuos*: el desarrollo del huevecillo en el tallo folicular deja una dilatación que no desaparece enteramente; el número

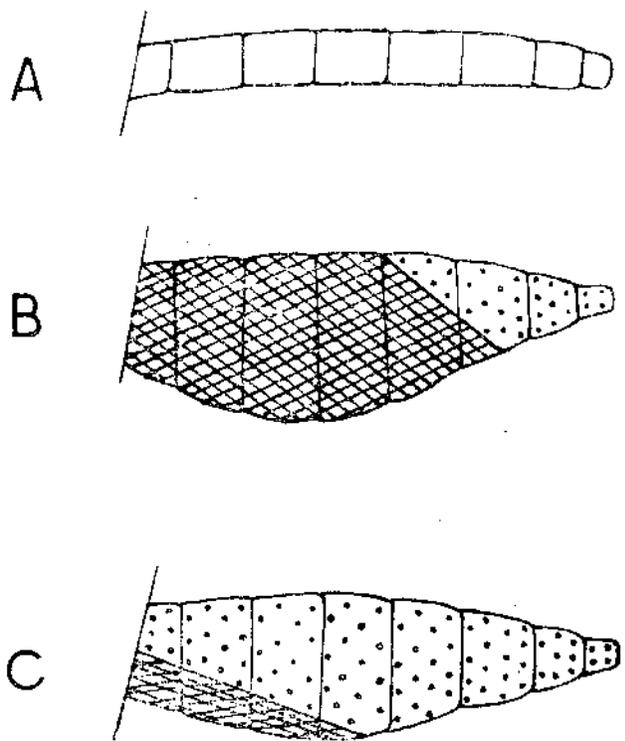
Cuadro 1 Probabilidad de sobrevivencia de las hembras de *Anopheles* durante un día (p)

Porcentaje de hembras paridas	Días transcurridos												
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0.10	.316	.464	.562	.631	.681	.720	.750	.774	.794	.811	.825	.838	.848
0.15	.387	.531	.622	.684	.729	.763	.789	.810	.827	.842	.854	.864	.873
0.20	.447	.585	.669	.725	.765	.795	.818	.836	.851	.864	.875	.884	.891
0.25	.500	.630	.707	.758	.794	.820	.841	.857	.871	.882	.891	.899	.906
0.30	.548	.669	.740	.786	.818	.842	.860	.875	.887	.896	.904	.912	.918
0.35	.592	.705	.769	.811	.839	.861	.870	.890	.900	.909	.916	.922	.928
0.40	.632	.737	.795	.833	.858	.877	.892	.903	.912	.920	.925	.932	.937
0.45	.671	.766	.819	.852	.875	.892	.905	.915	.923	.930	.936	.940	.946
0.50	.707	.794	.841	.871	.891	.906	.917	.926	.933	.939	.944	.948	.952
0.55	.742	.819	.861	.887	.905	.918	.928	.936	.942	.947	.951	.955	.958
0.60	.775	.843	.888	.903	.918	.930	.938	.945	.950	.955	.958	.961	.964
0.65	.806	.866	.898	.917	.931	.940	.948	.953	.958	.962	.965	.967	.970
0.70	.835	.888	.915	.931	.942	.950	.956	.961	.965	.968	.971	.973	.975
0.75	.866	.909	.931	.944	.953	.960	.965	.969	.971	.974	.976	.978	.980
0.80	.894	.928	.946	.956	.963	.969	.972	.976	.978	.980	.982	.983	.984

de dilataciones en el tallo corresponde al número de oviposturas realizadas. En las ampollas se observan residuos granulados, finos, amarillentos. g) *Método de Schlein y Gratz*,²: observando variaciones morfológicas de los apodemas esqueléticos. Sin embargo, debe tenerse presente que la aplicación de medidas de ataque disminuye el tamaño de la población de vectores, y esto es un factor limitante en el uso de la capacidad vectorial como índice. h) *Desenredo de traqueolas ováricas*: en las hembras recién nacidas las tráqueas del ovario son relativamente grandes en relación al tamaño del ovario, por lo que los troncos principales están contraídos, plegados, y las ramas terminales forman grandes masas de haces finos enrollados entre sí. El ovario aumenta de volumen en el curso de los ciclos gonotróficos, las traqueolas se distienden y desaparecen los rollos, ya en el primer ciclo, para no volver a recobrar el aspecto primitivo (fig. 1).



1. Aspecto de las traqueolas del ovario de una hembra de *Anopheles*. a. Hembra nulípara. Las terminaciones traqueales forman nudos. b. Hembra parida. Las terminaciones traqueales no forman nudos. (Tomada de Gillies y col. 1961.)



2. Esquema para clasificar aspectos del abdomen de una hembra de *Anopheles*. A. No alimentada. B. Alimentada. C. Grávida. (Tomada de Gillies y col. 1961.)

Aspecto del abdomen

La clasificación más sencilla y usada separa a las hembras en: *no alimentadas*, *alimentadas* y *grávidas*.

- I. *No alimentadas*. Etapa I de Sella. Son hembras recién nacidas o ejemplares viejos que ovaron pero no han vuelto a alimentarse. El "estómago" está vacío, los ovarios en etapas I ó II, abdomen aplastado. El abdomen puede contener jugos de plantas. Este es el grupo que más interesa.
- II. *Alimentadas*. Son hembras con abdomen muy lleno con sangre fresca o con coágulo rojo oscuro. Etapa III de Sella. Ovarios en etapa II ó III que ocupan hasta un tercio del abdomen.
- III. *Grávidas*. Etapa VI y VII de Sella. Abdomen con sangre digerida, negra, con escaso o nulo coágulo. Los ovarios, en etapas IV ó V, ocupan dos tercios o más del abdomen (fig. 2).

La captura de ejemplares para extraerles los ovarios debe ser hecha durante tiempos prolongados para aminorar el efecto de fluctuaciones que ocurren en periodos cortos.

Para hacer comparaciones se pueden escoger otros grupos, por ejemplo, de hembras de *Anopheles* de las que reposan dentro de casas; debe tenerse cuidado en identificar la especie a que corresponden, separando los ejemplares que pertenezcan a cada una de estas categorías. Es muy recomendable hacer, con dos equipos de entomólogos, capturas simultáneas en el peridomicilio y dentro de casas. Cuando se estudien las tasas de sobrevivencia de las hembras, siempre deben tenerse presentes las actividades diurnas o nocturnas humanas, además del efecto letal del insecticida, los hábitos de exofilia o exofagia, las reacciones esquivas a la resistencia al insecticida, la producción de los criaderos, la atracción por otros animales de sangre caliente, llamada también *forage ratio*, las inmigraciones de vectores procedentes aun de criaderos relativamente lejanos y las aplicaciones de insecticidas de tipo agrícola o no, por ejemplo según el método de VUB. La valoración cuantitativa de estos factores se facilita si se cuenta con información de rociamientos, datos meteorológicos y con mapas en los que se señalen algunos de estos elementos y las características topográficas de interés, por ejemplo, la cercanía de criaderos, bosque, maleza, cañada, establos, áreas urbanas, tipo de vivienda y densidad de éstas.

Extracción y examen del ovario

Los mosquitos que se capturan en la noche, cuando tratan de picar, o los que se obtienen inmediatamente después de chupar sangre, se conservan a temperaturas bajas hasta el momento en que se les va a disecar. Cuando no hay otro material disponible, se recurre a hembras que no han picado y que se capturaron de día, manteniéndoles también a temperaturas bajas. El punto importante es que los ovarios no deben estar en etapas más avanzadas que la II.²

Para extraer los ovarios se recomienda colocar al mosquito anestesiado, con el dorso sobre un portaobjetos seco. Cerca del mosquito se coloca una gota de solución salina. Se coloca firmemente sobre el séptimo o el octavo segmento abdominal una aguja con punta roma mientras que con otra aguja se fija el tórax. Con movimiento uniforme se jalan los últimos segmentos abdominales. También para esta maniobra se puede emplear una pinza con extremos afilados. Al salir las vísceras se adhieren al portaobjetos seco y todo el tracto genital sale intacto y fácilmente. Entonces se moja con la solución salina y se separan los ovarios del resto de las otras estructuras. Si los ovarios no han llegado a la etapa II tardía, se pasan a una gota de agua destilada y se dejan secar. Esto último es necesario porque las terminaciones finas de las traqueolas sólo se ven fácilmente cuando están llenas de aire.

Para el examen se usan objetivos 40x. Si los ovarios secos se enrollan demasiado, se les puede humedecer un poco. El examen de los ovarios puede demorarse indefinidamente y aun se pueden conservar las preparaciones para ser enviadas a otro lugar.

Si los ovarios se encuentran en la etapa tardía II o en la III, no se puede emplear la técnica del examen de las traqueolas.²

II. Estudio de los parásitos en los vectores

Si se encuentra que, por ejemplo, en *Plasmodium falciparum*⁴ los ooquistes se hacen aparentes tres días después de la infección y los esporozoítos se ven hasta los 12 días, se puede señalar un intervalo promedio de ocho días entre uno y otro acontecimiento, teniendo en cuenta el aumento en la mortalidad diaria de los insectos más viejos. En este caso la relación tasa de esporozoítos/tasa de la infección total = p^8 . Si en el ejemplo que señala Garret-Jones,⁵ la tasa de esporozoítos era de 0.372 por ciento y la de ooquistes de 3.28 por ciento, la suma de éstos da una tasa de infección total de 3.72 por ciento, si se supone que la mitad de los mosquitos con glándulas positivas se habían vuelto "estómago negativos". Así tenemos que $0.872/3.72 = 0.234$, o sea en que $p = 0.825$. Garret-Jones⁵ propone que este cálculo se lleve a cabo en todos los estudios epidemiológicos del paludismo cuando los vectores puedan obtenerse en grandes números y la alta endemecidad esté producida por una sola especie de *Plasmodium*. En tales circunstancias este índice puede usarse como la mejor comprobación de los cálculos derivados de la proporción de paridas. En tanto que este último método requiere de mucha extrapolación y depende de muestreos representativos de todos los grupos de edad, incluyendo los más jóvenes, el método de la tasa de infección, por el contrario, se basa en cuentas directas de números, disminuye con el aumento de edad de los mosquitos actualmente infestados con el parásito que se estudia.

Capacidad vectorial

Es el promedio de inoculaciones hechas en la unidad de tiempo con un parásito específico procedente de un caso de paludismo que la población del vector distribuiría a individuos susceptibles, suponiendo que se infectaran todas las hembras que picaron al caso en cuestión.

La capacidad vectorial se calcula usando la fórmula siguiente:^{1,4}

$$\frac{ma^2 p^n}{-\log_e p}$$

Donde: m = número de hembras que pican al hombre en un día
 a = hábito de picar al hombre, frecuencia según la cual una hembra pica al hombre, en un día
 ma = tasa de picaduras al hombre en un día
 n = duración en días del ciclo extrínseco del parásito

Ejemplo: 15% de positivas en 750 disecciones

$$E.S. = \sqrt{\frac{15 \times 85}{750}} = \sqrt{\frac{1275}{750}} = \sqrt{1.7} = 1.3$$

Tasa de positividad = 15 ± 1.3

El límite de confianza para esta serie de disecciones indica que la verdadera tasa de positividad de la población se encuentra entre 12.4 y 17.6

$$2(1.3) = 2.6 \quad 15 + 2.6 = 17.6 \\ 15 - 2.6 = 12.4$$

ANEXO

Para que los resultados tengan verdadero valor hay que evitar atribuir significación a diferencias que sólo pueden ser debidas a errores de muestreo o a cambios que ocurran en periodos cortos en la producción de mosquitos por los criaderos.²

Para valorar la significación de una serie dada de exámenes debe calcularse el error estándar y, por medio de éste, la dispersión dentro de la cual se encuentra el verdadero valor. En la mayoría de los casos un límite de 95 por ciento de confianza es suficiente, o sea que las probabilidades son de 19:1 de que la cifra obtenida se encuentra dentro de la dispersión encontrada. Esto es el porcentaje en más y en menos dos veces el error estándar.²

$$\text{Error estándar} = \sqrt{\frac{\% \text{ de positivas} \times \% \text{ de negativas}}{\text{número examinado}}}$$

REFERENCIAS

1. Garrett-Jones, C. y Grab, B.: *The assessment of insecticidal impact on the malaria mosquito vectorial capacity, from data on the proportion of parous females*. Bull. Wld. Hlth. Org. 31:71, 1964.
2. Gillies, M. T.; Hamon, J.; Davidson, G.; Meillon, B. y Mattingly, P. F.: *A practical guide for malaria entomologists in the african region of WHO*. Brazzaville. 1961.
3. Schlein, Y. T. y Gratz, N. G.: *Age determination of some anopheline mosquitos by daily growth layers of skeletal apodemes*. Bull. Wld. Hlth. Org. 49:371, 1974.
4. MacDonald, G.: *The epidemiology and control of malaria*. Londres, Oxford University Press. 1957.
5. Garret-Jones, C.: *Problems of epidemiological entomology as applied to malarialogy*. Ent. Soc. Amer. Misc. Pub. 7:168, 1970.

DE LA MORTALIDAD NEONATAL EN EL SIGLO XIX

No es posible precisar con números la influencia de la ilegitimidad sobre un aumento tan notable como es el de 54 nacidos muertos, en el que excede la média de los últimos años; por las razones de analogía se puede deducir *á priori* que la ilegitimidad ha contribuido á este resultado. La miseria, la vagancia, la embriaguez y la inmoralidad están mucho más generalizadas, y se sabe bien que estos vicios obran como principales agentes en la seducción, en el abandono de las madres y los hijos y en el aumento de la prostitución bajo todas sus formas: yo no temería que una estadística exacta me desmintiera, y deseo por el contrario vivamente que penetradas las autoridades de su importancia, se sistemara el registro civil en todos los pueblos y en todos sus pormenores para que pudiéramos sacar un día leyes precisas e irrecusables, como hacen hoy las naciones más cultas. (Reyes, J. M.: *Mortalidad de la niñez*. GAC. MÉD. MÉX. 13:377, 1878.)