

ARTICULOS ORIGINALES

ESTUDIOS DE INFECTIVIDAD DE LA ESPECIE ANOPHELES ALBIMANUS WIEDEMANN, 1820 (DIPTERA: CULICIDAE) CEPA CARTAGENA, CON PLASMODIOS HUMANOS *

VICTOR ALBERTO OLANO, ** MARIA DEL PILAR CARRILLO, ** CARLOS A. ESPINAL. **

Con el propósito de evaluar la infectividad del mosquito *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820, cepa Cartagena, se realizaron infecciones a partir de pacientes naturalmente infectados con *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* y de primates del género *Aotus* experimentalmente infectados con ambas especies de *Plasmodium*. 67 intentos de infección de *Anopheles albimanus* se realizaron a partir de pacientes con *P. falciparum* y 36 a partir de pacientes con *P. vivax*. Se examinaron 654 glándulas salivares en hembras *An. albimanus* infectadas con *P. falciparum* de las cuales el 11.9% presentaron esporozoitos, mientras que el 31.2% de 93 glándulas salivares examinadas desarrollaron esporozoitos de *P. vivax*.

Un total de 4 intentos de infección de *Anopheles albimanus* se realizaron a partir de un *Aotus* infectado con *P. falciparum* en los cuales los mosquitos no desarrollaron esporozoitos. A partir de 14 *Aotus* infectados con *P. vivax* se realizaron 75 intentos de infección de *Anopheles albimanus*; solo el 5.2% de un total de 810 glándulas salivares examinadas produjeron esporozoitos. Los resultados obtenidos sugieren que esta cepa *Anopheles albimanus* tiene una baja infectividad en condiciones experimentales.

INTRODUCCION

La malaria es uno de los principales problemas de salud pública en Colombia. Entre los factores que han llevado a esta situación se encuentra el desconocimiento de los hábitos y de la capacidad de transmisión de las diferentes especies de *Anopheles* en las áreas endémicas. La colonización de especies consideradas transmisoras de *Plasmodium* humano permite realizar estudios genéticos, de comportamiento biológico en captividad, resistencia a insecticidas e infectividad

con diversas cepas y especies de *Plasmodium* con el fin de determinar la importancia de estos vectores en las zonas maláricas. En Colombia están registradas 41 especies de *Anopheles* (1) de las cuales 9 han sido incriminadas como transmisoras de malaria humana (2). Estas especies son: *An. albimanus*, *An. albitarsis*, *An. darlingi*, *An. eiseni*, *An. mediopunctatus*, *An. nuñeztovari*, *An. neivai*, *An. pseudopunctipennis* y *An. punctimacula*. Se asume a su vez, que las especies *An. bolivienses*, *An. noroestensis* y *An. lepidotus* sean vectores al ser encontrados como especies dominantes

* Estudio realizado con fondos disponibles del Contrato No. AID/DSP E- C 0036, INS/AID.

** Grupo de Malaria - Instituto Nacional de Salud (INS). Dirección postal: Avenida Eldorado con carrera 50, Zona 6. Bogotá, D.E., Colombia. Apartados Nos. 80080 y 80334.

en regiones maláricas (2, 3). En el Instituto Nacional de Salud se encuentra colonizada desde 1978 una cepa colombiana de *An. albimanus* (4). Este artículo presenta los estudios preliminares sobre infectividad de una cepa colombiana de *An. albimanus* con malaria humana.

MATERIALES Y METODOS

Mosquitos

Se utilizaron hembras de *An. albimanus* cepa Cartagena, las cuales procedían de la colonia establecida en el Instituto Nacional de Salud (4). Lotes de mosquitos con un promedio de 180 hembras, de 1-5 días de edad mantenidas en jaulas metálicas Gerberg de 30 x 30 x 30 cm. fueron usados en cada intento de infección. Después de la comida infectante las hembras fueron mantenidas dentro de una cámara de ambientación Sherer a una temperatura promedio de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de 80-85%. Antes y después de la comida infectante se les suministró una dieta de azúcar en agua al 10%.

Fuente de infección

Se utilizaron dos fuentes de infección para los mosquitos:

1. Pacientes naturalmente infectados con *P. falciparum* y *P. vivax* los cuales procedían de diferentes regiones del país y presentaban gametocitos detectables en sangre periférica. Un total de 67 lotes de *An. albimanus* se intentaron infectar a partir de 35 pacientes infectados con *P. falciparum*. Veintidos (22) pacientes sirvieron como fuente de infección en una sola ocasión, mientras que 13 pacientes lo hicieron en dos o más ocasiones en días diferentes durante el desarrollo de su gametocitemia. Treinta y seis lotes de mosquitos fueron utilizados en pacientes infectados con *P. vivax* los cuales sirvieron como fuente de infección en una sola ocasión.

2. *Aotus lemurinus griseimembra* infectados en el laboratorio. Estos animales provenían de una colonia establecida en el Instituto Nacional de Salud (5), los cuales fueron

esplenectomizados antes de su infección. Los *Aotus* fueron infectados por vía intravenosa con sangre humana parasitada o sangre parasitada obtenida de primates infectados; el desarrollo de la infección se observó diariamente mediante preparaciones de gota gruesa y extendido. Un total de 4 intentos de infección de *An. albimanus* se realizaron a partir de un *Aotus* infectado con *P. falciparum* en el laboratorio. 14 *Aotus* fueron infectados experimentalmente con *P. vivax* de los cuales 11 fueron utilizados en más de una ocasión en días diferentes del curso de su gametocitemia. Un total de 75 intentos de infección de *An. albimanus* se realizaron a partir de *Aotus* infectados con *P. vivax*.

Disecciones

Las disecciones de estómagos y glándulas salivares para observar ooquistes y esporozoítos de *P. falciparum* se realizaron los días 7-8 y 11-13 respectivamente, después de tomada la comida infectante. Con *P. vivax* las disecciones fueron hechas en los días 5 y 6 y las glándulas salivares en los días 11 al 13. Los lotes negativos de mosquitos se siguieron disectando diariamente hasta completar todas las hembras de las jaulas. Las disecciones se realizaron en medio 199 y en solución salina. El grado de infección de las glándulas salivares se clasificó siguiendo el método descrito por Collins y Col. (6).

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados de las infecciones de *An. albimanus* a partir de pacientes con *P. falciparum*. De un total de 1096 estómagos examinados solo 95 (8.7%) presentaron ooquistes. Con *P. vivax* se identificaron 76 (19.1%) estómagos positivos de un total de 397 estómagos examinados. El promedio de ooquistes por estómago positivo fue de 12.7 para *P. falciparum* y 17.2 para *P. vivax*. Sin embargo se encontraron estómagos con un alto número de ooquistes como fue el caso de un estómago con 140 ooquistes de *P. falciparum* y un estómago con 55 ooquistes de *P. vivax* (Fig. 1). Los resultados de las infecciones en glándulas salivares se observan en la tabla 2; solo el 65.5% de los lotes de mosquitos que

T A B L A 1

INFECCIONES EN ESTOMAGOS DE HEMBRAS ANOPHELES ALBIMANUS
CEPA CARTAGENA INFECTADAS A PARTIR DE PACIENTES CON
P. FALCIPARUM Y P. VIVAX

Especie de Plasmodium	L O T E S *			Disecciones de estómagos			Promedio de ooquistes
	No. de Lotes	Positi- vos	%	Número	Positi- vos	%	
<i>P. falciparum</i>	67	29	43.3	1.096	95	8.7	12.7
<i>P. vivax</i>	36	13	36.1	397	76	19.1	17.2

* Número promedio de hembras *Anopheles albimanus* por intento de infección

desarrollaron ooquistes de *P. falciparum* produjeron esporozoitos. Para *P. vivax* se encontró que de los trece (13) lotes que produjeron ooquistes 11 (84.6%) desarrollaron esporozoitos (Figuras 2 y 3). Así, de 654 glándulas salivares examinadas solo un 11.9% presentaron esporozoitos de *Plasmodium falciparum*; con *P. vivax* se encontraron 29 (31.2%) glándulas con esporozoitos de un total de 93 examinadas. El grado de infección de las glándulas salivares fue de 2 + para *P. falciparum* y de 3 + para *P. vivax*.

En los intentos de infección de *An. albimanus* a partir de un *Aotus* con *P.*

falciparum los mosquitos desarrollaron ooquistes pero no esporozoitos. De los 75 intentos de infección de *An. albimanus* a partir de *Aotus* con *P. vivax* un total de 31 (41.3%) lotes de mosquitos desarrollaron ooquistes (Tabla 3). El máximo número de ooquistes por estómago de *An. albimanus* infectado a partir de *Aotus* con *P. vivax* fue de 70, pero el promedio fue de 6.3. De los 31 lotes positivos para ooquistes solo en 12 (38.7%) se encontró esporozoitos en glándulas salivares; a su vez, de un total de 810 glándulas salivares examinadas solo el 5.2% presentaron esporozoitos con un grado de infección de 2 + (Tabla 4).

T A B L A 2

INFECCIONES DE LAS GLANDULAS SALIVARES EN HEMBRAS
ANOPHELES ALBIMANUS QUE DESARROLLARON OOQUISTES DE
P. FALCIPARUM Y P. VIVAX

Especie de Plasmodium	LOTES DE ANOPHELES ALBIMANUS			DISECCIONES DE GLANDULAS			Clasificación de las glándulas salivares**
	Número con ooquistes	Positivos con esporozoitos.	%	Número	Positivas	%	
<i>P. falciparum</i>	29	19	65.5	654	78	11.9	2 +
<i>P. vivax</i>	13	11	84.6	93	29	31.2	3 +

** 1 + = 1 - 10 esporozoitos; 2 + = 11 - 100 esporozoitos; 3 + = 101 - 1.000 esporozoitos; 4 + = más de 1.000 esporozoitos.

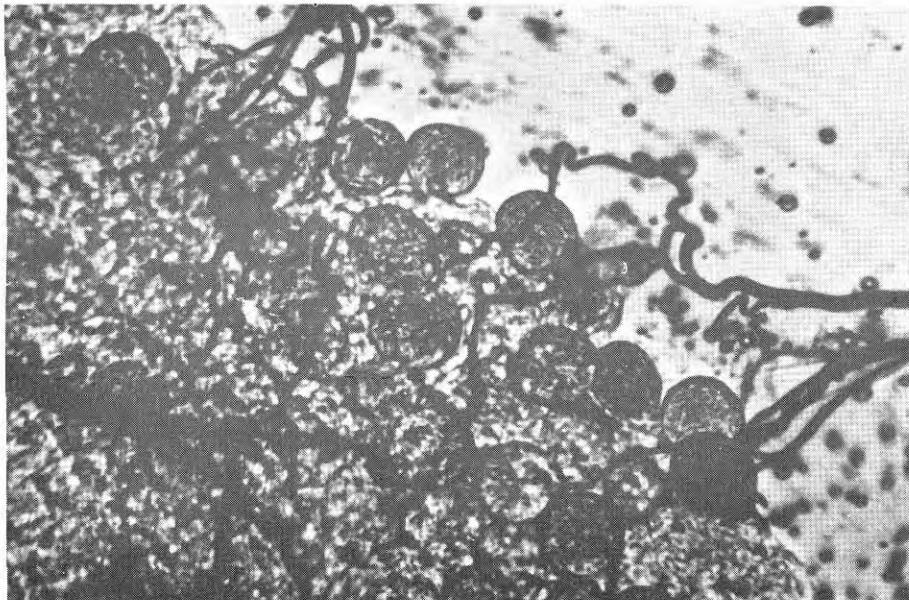


Fig. 1. Estómago de *Anopheles albimanus* con ooquistes de *Plasmodium vivax*. 10 x 10X.

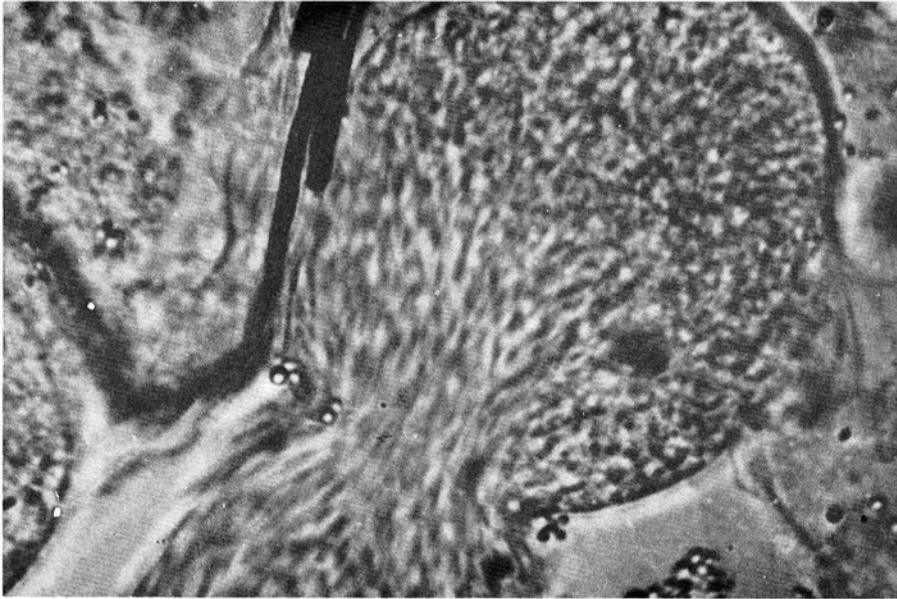


Fig. 2. Ooquiste maduro de *Plasmodium vivax* rompiéndose y liberando esporozoitos 10 x 100X.



Fig. 3. Esporozoitos de *Plasmodium vivax* 10 x 100 X.

ESTUDIOS DE INFECTIVIDAD DE LA ESPECIE ANOPHELES ALBIMANUS WIEDEMANN, 1820 . . .

TABLA 3
INFECCIONES DE LOS ESTOMAGOS DE HEMBRAS ANOPHELES
ALBIMANUS CEPAS CARTAGENA OBTENIDAS A PARTIR DE
AOTUS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON P. VIVAX

L O T E S *			DISECCIONES DE ESTOMAGOS			Promedio de ooquistes
No. de lotes	Positivos	%	Número	Positivos	%	
75	31	41.3	1216	68	5.6	6.3

* Número promedio de hembras *Anopheles albimanus* por intento de infección

TABLA 4
INFECCIONES DE LAS GLANDULAS SALIVARES EN HEMBRAS ANOPHELES
ALBIMANUS INFECTADAS A PARTIR DE AOTUS QUE DESARROLLARON
OOQUISTES DE P. VIVAX

LOTES DE ANOPHELES ALBIMANUS			DISECCIONES DE GLANDULAS			CLASIFICACION DE LAS GLANDU LAS SALIVARES **
NUMERO CON OOQUISTES	POSITIVOS CON ESPORO ZOITOS	%	NUMERO	POSITIVAS	%	
31	12	38.7	810	42	5.2	2 +

** 1+ = 1-10 esporozoitos ; 2 + = 11-100 esporozoitos ; 3 + = 101 - 1000
esporozoitos ; 4 + = más de 1.000 esporozoitos.

DISCUSION

Los bajos porcentajes de positividad observados tanto para ooquistes como para esporozoitos puede ser debido a barreras durante el desarrollo del ciclo esporogónico que interfieren entre el parásito y el vector (7, 8). Una de estas barreras consiste en que los ooquistes formados no continúan su desarrollo y se degeneran, o que la especie *An. albimanus* parece que tiene menos capacidad de infectar glándulas salivares a partir de bajos niveles de infección de ooquistes. Otro de los factores que debe tenerse en cuenta es el estado de desarrollo en el cual se encuentran los gametocitos en el momento de la toma de sangre por los mosquitos.

Aunque el número de hembras encontradas con esporozoitos de *P. falciparum* y *P. vivax* fue bajo, algunas hembras estaban altamente infectadas lo que permitió obtener un nivel promedio de infección de 3 + con *P. vivax* y 2 + para *P. falciparum*. Así, es

posible encontrar hembras altamente infectadas aunque el nivel promedio del lote de mosquitos sea bajo (8, 9). En relación a las infecciones de *An. albimanus* con *P. vivax*, los porcentajes de infectividad tanto para ooquistes como para esporozoitos en estos mosquitos, fueron más bajos a partir de *Aotus* que los obtenidos a partir de pacientes, resultados que concuerdan con trabajos descritos anteriormente (10). Estudios de infectividad realizados con cepas de *Anopheles albimanus* de Centroamérica demostraron una baja susceptibilidad con grados de infección variable semejante a los resultados obtenidos en este trabajo (7, 8, 9, 11). Aunque los resultados obtenidos presentan una baja infectividad de la especie *An. albimanus* cepa Cartagena en condiciones experimentales, es posible obtener un número adecuado de esporozoitos de ambas especies de malaria humana que permiten la realización de diversos procesos experimentales.

SUMMARY

In order to evaluate the infectivity of *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 Cartagena strain, malarial infection attempts were performed from human and non-human primates. 67 attempts from naturally infected patients with *P. falciparum* and 36 with *P. vivax* were performed. Dissection of salivary glands were made on 654 *P. falciparum* infected females of which 11.9% were positive for sporozoites. Out of the 93 *P. vivax* infected mosquitoes examined, 31.2% presented sporozoites.

A total of 4 *An albimanus* infection attempts were done from experimentally *P. falciparum* infected *Aotus* monkeys and none of them presented sporozoites. From 14 *P. vivax* infected *Aotus* monkeys 75 infection attempts were done; only 5.2% out of 810 dissected salivary glands presented sporozoites.

The results obtained suggested that the above mentioned strain of *An. albimanus* has low infectivity under laboratory conditions.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al doctor Jaime Umaña y al grupo de auxiliares del Bioterio de Experimentación por su valiosa colaboración. Igualmente expresan su agradecimiento a las bacteriólogas Gladys Cortés y Diana Escorcía y al señor Humberto Mosquera por su asistencia técnica. Al biólogo Marco Fidel Suárez y al señor Jaime Vega por su ayuda para obtener las fotografías que acompañan el texto. A Elizabeth Torres por la transcripción del presente artículo.

BIBLIOGRAFIA

1. Suárez, M.F. Servicio de Erradicación de la Malaria (SEM), comunicación personal.
2. Ferro, C. Revisión de los recursos aplicables a la lucha contra el paludismo. Rev. ENSP (Medellín) 1979; 5 (1): 11.
3. Quiñones, M.L., Suárez, M.F., Rodríguez A., Fleming, G.A., Galvis, L. E. Comportamiento de *Anopheles (Kerteszia) lepidotus* Zavortink, 1973, y su incriminación como posible vector de malaria en el Departamento del Tolima, Colombia. Biomédica 1984, 4 (1): 5.
4. Carrillo, M.P., Suárez, M.F., Morales, A., Espinal C.A. Colonización y mantenimiento de una cepa colombiana de *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1820 (Diptera: Culicidae). Biomédica. 1981; 1 (2): 64.
5. Umaña J.A., Ramírez, J. Espinal, C.A., Sabogal, E. Establishment of a colony of nonhuman primates (*Aotus lemurinus griseimembra*) in Colombia. PAHO Bulletin 1984; 18 (3): 221.
6. Collins, W.E., Contacos, P.G., Guinn, E. and Hold, J.R. Studies on the transmission of simian malarias. I. Transmission of strain of *Plasmodium inui* by *Anopheles maculatus* and *Anopheles stephensi*. J. Parasitol. 1966; 52 (4): 664.
7. Collins, W.E., Contacos, P.G. Richardson, B.B. and Skinner J.C. Development of different strains of *Plasmodium vivax* in two species of *Anopheles*. J. Parasitol. 1976, 25 (3): 372.
8. Collins, W.E., Warren, Mc W., Skinner, J.C., Richardson, B.B., and Kearse T.S. Infectivity of the Santa Lucia (El Salvador) strain of *Plasmodium falciparum* to different anophelines. J. Parasitol. 1977; 63 (1): 57.
9. Jeffery, G.M., Burgess, R.W., and Eyles, D.E. Susceptibility of *Anopheles quadrimaculatus* and *Anopheles albimanus* to domestic and foreign strains of *Plasmodium vivax*. Am. J. Trop. Med. Hyg 1954; 3: 821.
10. Collins, W.E., Warren, Mc W., Contacos, P.G., Skinner, J.C. Richardson, B.B. and Kearse T.S. The chesson strain of *Plasmodium vivax* in *Aotus* monkeys and anopheline mosquitoes. J. Parasitol. 1980; 66 (3): 488.
11. Boyd, M.F., Carr, H.P., and Rozeboom L.E. On the comparative susceptibility of certain species of Neartic and Neotropical anophelines to certain strains of *P. vivax* and *P. falciparum* from the same origen. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1938; 18: 157.