

304 406

2
201



UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

ESCUELA DE BIOLOGIA

INTERACCION ENTRE INSECTOS VECTORES Y
PARASITOS DE IMPORTANCIA MEDICA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
SEBASTIAN GARCIA AGUINAGA

MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

<u>TEMA</u>	<u>PÁGINA</u>
INTRODUCCION	1
JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	4
I.- LOS INSECTOS VECTORES: TAXONOMIA, CICLOS BIOLOGICOS Y ORGANIZACION GENETICA	6
I.1. <u>TAXONOMIA</u>	7
I.2. <u>CICLOS BIOLOGICOS</u>	11
I.2.1. Mosquitos.	11
I.2.2. Moscas.	12
I.2.3. Chinchas.	13
I.3. <u>ORGANIZACION GENETICA</u>	13
I.3.1. Mosquitos.	13
I.3.2. Moscas.	17
II.- LOS PARASITOS: TAXONOMIA Y CICLOS BIOLOGICOS	19
II.1. <u>TAXONOMIA</u>	20
II.1.1. Protozoarios.	20
II.1.2. Nemátodos.	21

II.1.3. Arbovirus	22
II.2. <u>CICLOS BIOLOGICOS</u>	27
II.2.1. <i>Leishmania</i> .	27
II.2.2. <i>Trypanosoma cruzi</i> .	28
II.2.3. <i>Trypanosoma gambiense</i> .	31
II.2.4. <i>Plasmodium</i> .	35
II.2.5. <i>Onchocerca volvulus</i> .	40
II.2.6. Arbovirus.	40
III.- INTERACCION VECTOR - PARASITO DURANTE LA ALIMENTACION SANGUINEA. FUNCION DE LA SALIVA	46
III.1. <u>EL APARATO BUCAL DE LOS INSECTOS</u>	47
III.1.1. Mosquitos.	47
III.1.2. Moscas.	47
III.1.3. Chinchas.	48
III.2. <u>LA ALIMENTACION DE LOS INSECTOS VECTORES</u>	48
III.2.1. Una alimentación exitosa.	50
III.2.2. La alimentación interrumpida.	50
III.3. <u>ESTRUCTURA DE LAS GLANDULAS SALIVALES</u>	51
III.4. <u>FUNCION DE LAS GLANDULAS SALIVALES Y DE LOS COMPONENTES DE LA SALIVA</u>	54
III.4.1. Función general de los componentes de la saliva.	54

III.4.2. Productos salivales específicos de los mosquitos.	55
III.4.3. Productos salivales específicos de triatómidos y garrapatas.	57
III.4.4. Productos salivales específicos de los simúlidos.	58
III.5. <u>CONTROL DE LA SALIVACION. EXPRESION GENETICA</u>	60
III.6. <u>MODIFICACIONES PROVOCADAS POR LOS PARASITOS EN LA ALIMENTACION</u>	61
IV.- MEMBRANAS PERITROFICAS Y MOLECULAS DE SUPERFICIE EN LOS INSECTOS VECTORES: INTERACCION CON LOS PARASITOS Y SUS TROPISMOS	63
IV.1. <u>APARATO DIGESTIVO DE LOS INSECTOS</u>	64
IV.1.1. Mosquitos.	64
IV.1.2. Moscas.	64
IV.1.3. Chinchas	64
IV.2. <u>LAS MEMBRANAS PERITROFICAS Y DEMAS BARRERAS DEL INTESTINO MEDIO</u>	66
IV.2.1. Paso de <i>Leishmania</i> a través de las barreras del intestino medio.	68
IV.2.2. Paso de <i>Trypanosoma</i> a través de las barreras del intestino medio	68
IV.2.3. Paso de <i>Plasmodium</i> a través de las barreras del intestino medio.	69
IV.2.4. Paso de <i>Onchocerca</i> a través de las barreras del intestino medio	75
IV.2.5. Paso de los arbovirus a través de las barreras del intestino medio	75
IV.3. <u>MECANISMOS DE ADHESION. MOLECULAS DE RECONOCIMIENTO. POSIBLES TROPISMOS</u>	76
IV.3.1. <i>Leishmania</i> .	76

IV.3.2. <i>Trypanosoma</i> .	79
IV.3.3. <i>Plasmodium</i> .	85
IV.3.4. Arbovirus.	87
V.- OTRAS INTERACCIONES ESPECIFICAS ENTRE INSECTOS Y PARASITOS	89
V.1. <u><i>Trypanosoma</i> Y LA CHINCHE HOCICONA</u>	90
V.1.1. Algunas condiciones para la infección del insecto.	90
V.1.2. Relación de la sangre con el parásito.	90
V.1.3. Agentes del tubo digestivo.	91
V.1.4. Acción directa de <i>Trypanosoma</i> sobre el vector.	92
V.2. <u><i>Plasmodium</i> Y EL MOSQUITO</u>	94
V.2.1. Algunas condiciones para la infección del insecto.	94
V.2.2. Barreras defensivas en el hemocele.	94
V.2.3. La encapsulación.	96
V.2.4. Mecanismos alternos a la encapsulación.	96
V.3. <u><i>Onchocerca</i> Y LA MOSCA NEGRA</u>	97
V.3.1. Recorrido de <i>Onchocerca volvulus</i> dentro de <i>Simulium damnosum</i> .	97
V.3.2. El efecto de la temperatura en el desarrollo.	98
V.3.3. Salida de la larva de la cabeza de <i>S. damnosum</i> .	100
V.3.4. Encapsulación en el insecto vector.	100
V.4. <u>LOS ARBOVIRUS Y EL MOSQUITO</u>	101

V.4.1. La replicación de los virus	101
V.4.2. Efectos citopatológicos de los arbovirus sobre el mosquito.	102
V.4.3. La competencia de especificidad del vector.	103
COMENTARIOS FINALES	105
<u>LEISHMANIASIS</u>	106
<u>TRIPANOSOMIASIS</u>	107
<u>MALARIA</u>	108
<u>ONCOCERCOSIS</u>	111
<u>FIEBRE AMARILLA Y DENGUE</u>	112
APENDICE A. EPIDEMIOLOGIAS	115
<u>LA LEISHMANIASIS</u>	115
El Kala-azar.	115
La leishmaniasis cutánea del Viejo Mundo.	116
La leishmaniasis cutánea del Nuevo Mundo.	117
La leishmaniasis en México.	117
<u>LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA</u>	120
La tripanosomiasis en México.	121
<u>LA TRIPANOSOMIASIS AFRICANA</u>	122
<u>LA MALARIA</u>	126
La malaria en México	127

<u>LA ONCOCERCOSIS</u>	130
La oncocercosis en México.	132
<u>LA FIEBRE AMARILLA</u>	132
<u>EL DENGUE</u>	133
El dengue en México.	134
BIBLIOGRAFIA	135

INTRODUCCION

El parasitismo es definido como una relación obligatoria e íntima entre dos organismos heteroespecíficos, durante la cual el parásito, usualmente el más pequeño de los dos organismos, es metabólicamente dependiente del hospedero (Bacz, 1979). El hospedero puede o no ser dañado por el parásito, y como este último no puede vivir en la naturaleza sin el hospedero, por lo general no lo destruye. El parásito puede vivir dentro del hospedero durante muy poco tiempo o permanecer durante muchos años. No existe organismo, desde los procariotes al hombre, que no tenga parásitos o sea susceptible a estos (Trager, 1986).

La especificidad del parásito para su hospedero varía dependiendo de cada especie de parásito. Por lo general cuando el parásito es transmitido por un hospedero a otro hospedero, se dice que el primero es un agente llamado vector (Cheng, 1973; Faust, 1978). Entre los principales vectores de patógenos están los miembros del Phylum Arthropoda (insectos y sus congéneres), los cuales constituyen el grupo más numeroso de especies en el Reino Animal (unas 750,000 especies) (Trager, 1986). Las moscas y mosquitos representan los principales vectores de los grupos más abundantes de patógenos del hombre.

Entre los principales parásitos transmitidos por insectos, encontramos a los protozoarios, los nemátodos y los virus. Debido a la enorme cantidad de estos patógenos, en este trabajo se han escogido sólo algunos representativos, los cuales tienen una gran importancia debido a su incidencia a nivel mundial (Cuadro I). El costo de estos parásitos en términos de daños a la población humana y pérdidas económicas es incalculable (Cox, 1982).

La interacción del parásito con el vector ha sido objeto de numerosas investigaciones. Existen mecanismos de defensa desarrollados por el vector contra el parásito (barreras a nivel interno, como la formación de membranas o la encapsulación del parásito) así como mecanismos adaptativos del parásito hacia el vector (la utilización de la saliva como vehículo para infectar al hospedero definitivo, entre otros). El presente trabajo recoge los resultados de estas investigaciones.

PARASITO	INSECTO VECTOR	ENFERMEDAD	INCIDENCIA
<i>Leishmania tropica</i> - Protozoario	<i>Phlebotomus spp.</i> - Mosca de la arena	Leishmaniasis Cutánea del Viejo Mundo	Gran incidencia en Asia Central, Rusia, India, Irán, Irak, Países del Mediterráneo y Africa Occidental
<i>Leishmania braziliensis</i> - Protozoario	<i>Lutzomyia spp.</i> - Mosca de la arena	Leishmaniasis Cutánea del Nuevo Mundo	Incidencia en Perú, México, Guatemala, Brasil y demás Países sudamericanos.
<i>Leishmania donovani</i> - Protozoario	<i>Phlebotomus spp.</i> - Mosca de la arena	Kala - azar	Incidencia en el Mediterráneo, Arabia, China, Centro y Sudamérica. Epidemias en India y Africa.
<i>Trypanosoma brucei</i> - Protozoario. <i>T. gambiense</i> - Protozoario	<i>Glossina spp.</i> - Mosca tsé-tsé	Tripanosomiasis Africana	Epidemias severas en Zaire, Uganda, Tanzania y Kenia. 10,000 nuevos casos cada año; 45 millones de personas en riesgo; 6 millones infectadas.
<i>Trypanosoma cruzi</i> - Protozoario	<i>Triatoma spp.</i> - Chinche holicona	Tripanosomiasis Americana	20 millones de casos crónicos, 5 millones de personas expuestas en Latinoamérica (OMS 1982).
<i>Plasmodium vivax</i> - Protozoario. <i>Plasmodium ovale</i> - Protozoario. <i>Plasmodium malariae</i> - Protozoario. <i>Plasmodium falciparum</i> - Protozoario	<i>Anopheles spp.</i> - Mosquito	Malaria ó Paludismo	Distribución Mundial. 2,073 millones en riesgo, 270 millones infectados, 110 millones de enfermos y 1 millón de muertos (OMS 1991).

Cuadro I. Algunos parásitos de importancia médica, el insecto vector que los transmite, y la enfermedad que ocasionan (Adaptado de diversos autores. Ver Apéndice A).

<i>Onchocerca volvulus</i> - Nematodo	<i>Simulium spp.</i> - Mosca negra	Oncocercosis	Incidencia en Países en Desarrollo de Africa Tropical y América. De 86 millones en riesgo, 18 millones están infectados (el 90% en Africa) y 340,000, ciegos. 7 millones de casos en Nigeria, con 120,000 ciegos (OMS 1987).
Arbovirus (Flavivirus) - Virus	<i>Aedes spp.</i> - Mosquito	Fiebre Amarilla	Grandes epidemias en Africa Ecuatorial y América. Sudán en 1940 tuvo 17,000 casos. Etiopia, en 1961, 30,000 muertos. Nigeria actualmente padece una epidemia (no hay datos disponibles).
Arbovirus (Flavivirus) - Virus	<i>Aedes spp.</i> - Mosquito	Dengue	Incidencia en Países Tropicales. Se han reportado 2.5 millones de casos entre 1956 y 1989 (el 70% en Asia).

Cuadro I. Algunos parásitos de importancia médica, el insecto vector que los transmite, y la enfermedad que ocasionan (Adaptado de diversos autores. Ver Apéndice A).

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

Entre las enfermedades del hombre causadas por parásitos, cabe mencionar las siguientes: la malaria (la enfermedad más frecuente en la población humana a nivel mundial, transmitida por *Plasmodium*), la tripanosomiasis (expandida en África y considerada la enfermedad más peligrosa y distribuida en Latinoamérica, transmitida por *Trypanosoma*), la leishmaniasis (de alta incidencia en Centro y Sudamérica, transmitida por *Leishmania*), la oncocercosis (enfermedad endémica de países de África Tropical y de América, transmitida por *Onchocerca*), la fiebre amarilla y el dengue (grandes epidemias en África y en países tropicales, transmitidas por arbovirus).

Estas enfermedades tienen el factor común de ser causadas por parásitos transmitidos al hombre por insectos vectores. Presumiblemente, la interacción insecto vector - parásito se ha originado por una serie de transformaciones en ambos organismos; transformaciones adaptativas que han permitido que la interacción se haya mantenido a través del tiempo. Las explicaciones propuestas hasta ahora involucran mecanismos de defensa desarrollados por el insecto, los cuales son nulificados y aprovechados por el parásito, el cual contrarresta con mecanismos de adaptación. El insecto responde a la adaptación del parásito con nuevos mecanismos de defensa, y así sucesivamente, dándose un desarrollo coevolutivo.

Ejemplos de esta coevolución se encuentran en la interacción de la saliva de los insectos con la transmisión de los parásitos, en el desarrollo completo y exitoso de los parásitos en el intestino medio, el hemocele y las glándulas salivales de su hospedero, entre otros. Por su parte, los vectores han desarrollado barreras contra los parásitos: barreras a nivel interno (encapsulación, agentes hostiles, barreras físicas tipo membrana, etc) y barreras a nivel especie y población (desarrollo de especies de rechazo al parásito, entre otras).

En base a lo expuesto anteriormente, es claro que el estudio de los insectos vectores de las enfermedades mencionadas y de las interacciones que tienen con los parásitos que transmiten jugará un papel de vital importancia en el control de estos agentes patógenos. El uso de este conocimiento permitirá el diseño de nuevas estrategias enfocadas a bloquear la transmisión de los parásitos al hombre. Aunque estas estrategias forman una realidad cada vez más palpable, el terreno por recorrer en la investigación es aún largo.

Por estos motivos se planteó realizar la presente recopilación, con la idea de presentar una visión generalizada del estado actual del conocimiento de las interacciones de los parásitos mencionados

con sus vectores, los insectos. Esta recopilación transmitirá conocimientos de importancia médica, ecológica y parasitológica.

En este trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

- 1.- Recopilar información existente acerca de las relaciones entre algunos parásitos de importancia médica (específicamente, los protozoarios causantes de la leishmaniasis, la tripanosomiasis y la malaria, los nemátodos causantes de la oncocercosis, y los arbovirus causantes de la fiebre amarilla y del dengue), y sus insectos vectores.
- 2.- Analizar de que forma facilita esta relación la posterior infección del parásito al hombre.
- 3.- Preparar un documento de divulgación científica basado en la información recopilada.

**I.- LOS INSECTOS VECTORES: TAXONOMIA,
CICLOS BIOLÓGICOS Y ORGANIZACIÓN
GENÉTICA**

I. 1. TAXONOMIA

Los insectos pertenecen al Phylum Arthropoda. Los organismos de este Phylum son metazoarios bilaterales segmentados, con apéndices articulados y con exoesqueleto compuesto de quitina. En este Phylum se encuentran los crustáceos y los insectos. Nos enfocaremos sólo a los insectos (Superclase Mandibulata), y dentro de ellos, sólo a los vectores que nos interesan.

Los organismos de la Superclase Mandibulata se caracterizan por tener una cabeza, tórax y abdómen diferenciados. La Clase Insecta (un par de antenas en la cabeza y tres pares de patas en el tórax) se divide en la Subclase Pterygota (insectos con alas). Los insectos de importancia médica pertenecen a los siguientes órdenes:

División Endopterygota (metamorfosis completa; estado de pupa; las alas se desarrollan internamente).

Orden Diptera (Moscas y mosquitos: un par de alas, implantadas en el segundo segmento torácico; piezas bucales adaptadas para la succión).

Suborden Orthorrhapha (Los adultos emergen de la pupa por una abertura en T; antenas multisegmentadas, largas y delgadas; larvas con cabeza bien desarrollada; pupas libres).

Familia Culicidae (Mosquitos: alas largas y estrechas; probóscide larga y delgada; larvas y pupas acuáticas) (Fig. 1).

Subfamilia Anophelinae.

Anopheles spp (Fig. 2).

Subfamilia Culicinae.

Aedes spp (Fig. 2).

Culex spp.

Familia Psychodidae (Moscas con cuerpo cubierto de pelos largos; alas anchas y cortas).

Phlebotomus spp (Fig. 2).

Familia Simuliidae (Mosca negra: patas cortas y mandíbulas largas; alas anchas, sin pelos).

Simulium spp (Fig. 2).

Suborden Cyclorrhapha (Moscas cuyos adultos salen de la pupa por una abertura circular; probóscide larga con un bulbo basal y labios igual de largos; pelos bifurcados en la cerda más distal de la antena).

Familia Glossinidae.

Glossina spp (Fig. 2).

División Exopterygota (metamorfosis sencilla; desarrollo externo de las alas; a las larvas se les llama ninfas).

Orden Hemiptera (Chinches: dos pares de alas por lo general; cuerpo aplanado dorsoventralmente; partes bucales adaptadas para picar y chupar).

Suborden Gymnocerata (vida terrestre; antenas más largas que la cabeza).

Familia Triatomidae ó Reduviidae (Chinches hociconas: alas bien desarrolladas; ocelos detrás de los ojos).

Triatoma spp (Fig. 2).

(Faust, 1978; Vásquez, 1987).

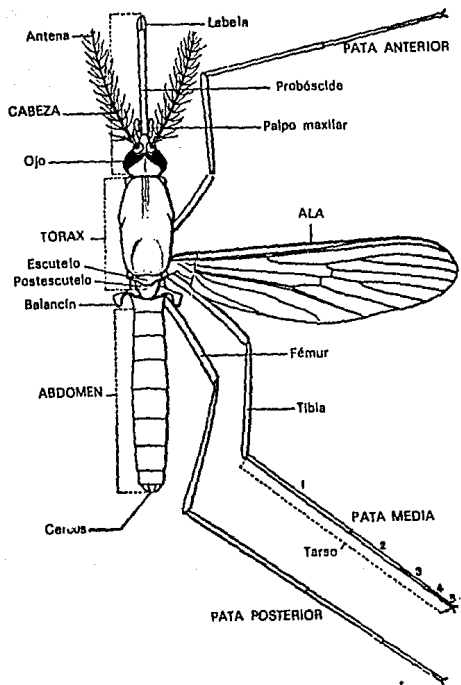


Fig. 1. Diagrama de un mosquito, vista dorsal (Tomado de Faust, 1978).

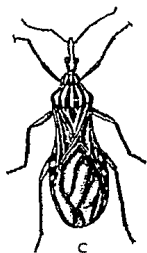
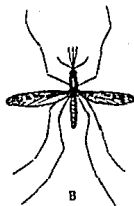
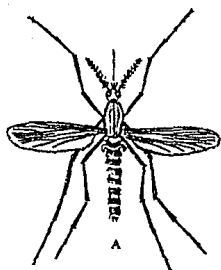


Fig. 2. Insectos. Superior: Mosquitos. A. *Aedes aegypti*. B. *Anopheles quadrimaculatus*. C. *Anopheles punctipennis*. Enmedio: Moscas. Psicócido (*Phlebotomus papatasi*). Mosca negra (*Simulium damnosum*). Mosca tsétsé (*Glossina palpalis* y *G. morsitans*). Inferior: Triatómidos. A. *Triatoma sanguisuga* adulta. B. *Triatoma protracta* adulta. C. *Rhodnius prolixus* adulto. (Tomado de Cheng, 1973; Marshall, et al., 1980).

I.2. CICLOS BIOLÓGICOS

I.2.1. Mosquitos:

La fertilización de los mosquitos hembras se lleva a cabo poco después de haber llegado al estadio adulto y haber tomado el primer alimento de sangre. Muchas especies, tales como *Culex pipiens*, *Anopheles stephensi* y *Aedes simpsoni* requieren un espacio considerable para formar los enjambres prenupciales; otras, como *Ae. aegypti* y *An. funestus*, crían naturalmente en espacios confinados, mientras que a otras, finalmente, se les puede adaptar para la reproducción dentro de jaulas. En algunos anofelinos no existe la cópula en enjambre. El macho muere poco después de realizada la cópula. La hembra sobrevive de dos semanas hasta varios meses, o muere durante la ovoposición debido a condiciones bióticas desfavorables. Por lo general, la hembra sólo es inseminada una vez durante su vida.

La ovulación y la oviposición dependen de la ingestión previa de sangre (cada alimentación con sangre provee suficiente nutrición al mosquito para producir entre 30 y 150 huevecillos). A veces la hembra pone huevos no fertilizados, los cuales no se desarrollan. Los mosquitos anofelinos pueden tener hasta seis oviposturas, una después de cada comida de sangre; pero cada vez la fertilidad es menor. La mayor parte de las hembras pone sus huevos en depósitos de agua, durante la noche. El número de huevos por postura depende de la especie de la hembra y de su mayor o menor vitalidad. El tiempo de la postura varía de diez a treinta minutos. Los huevos de *Anopheles* y los de muchos *Aedes*, una vez puestos, flotan aislados sobre la superficie del agua; los huevos de *Culex* se depositan agrupados formando una especie de balsa.

La eclosión de las larvas tiene lugar solamente en el agua (dulce o salobre, según la especie). La larva de primer estadio madura dentro del huevo. Esta larva ya tiene cabeza, tórax y abdomen, y un complejo sistema de órganos bucales. Se conocen cuatro estadios larvarios con sus respectivas mudas. El cuarto estadio larvario es el más útil para la identificación de las especies. Estas larvas obtienen el oxígeno sacando de la superficie del agua el sifón, aunque también pueden respirar mediante branquias anales y a través de la cutícula, aprovechando durante varios días el oxígeno disuelto en el agua.

Cuando la larva en su cuarto estadio está lista para transformarse en pupa, deja de alimentarse y el cuerpo se relaja. De la cara dorsal del tórax emerge la pupa, la cual tiene forma encorvada. No se alimenta, y aunque puede nadar o sumergirse, permanece inactiva. Toma aire por medio de las trompetas torácicas. De uno a cinco días después de haber emergido, la pupa se queda inmóvil en

la superficie del agua, la cutícula se abre y aparece el insecto adulto, comenzando por el tórax, seguido de la cabeza. En seguida, las alas se despliegan y se secan rápidamente. Finalmente, emergen el abdómen y las patas. Cinco a diez minutos después de la eclosión, el mosquito está listo para volar (Manson-Bahr, *et al.*, 1983; Barnes, 1986; Knell, 1991).

1.2.2. Moscas:

La mayor parte de las moscas son ovíparas; sin embargo, las moscas tsétsé (*Glossina* sp.) son vivíparas. En las moscas tsétsé las larvas se desarrollan una a una en el útero, y cuando son depositadas, ya han alcanzado la madurez y están listas para transformarse en pupas. Las larvas o huevecillos son depositados en diferentes sitios, dependiendo de la especie: *Glossina* deposita sus larvas en la base de arbustos u otra vegetación, *Simulium* sus huevecillos en plantas acuáticas o piedras cercanas al agua, y *Phlebotomus* en pequeños huecos debajo de piedras, en paredes o lugares parecidos con temperatura moderada, ambiente oscuro y alta humedad. Las larvas están provistas de patas falsas, con espinas o sin ellas. La cabeza puede o no estar bien desarrollada.

Todas las moscas, al igual que los mosquitos, sufren metamorfosis completa; es decir, pasan por los estadios de huevo, varios estadios larvarios, pupa y adulto. Las moscas tienen tres o cuatro estadios larvarios por lo general, aunque el número de estadios varía dependiendo de la especie (*Simulium* tiene de 6 a 8 estadios). En el paso de una fase a otra ocurre una muda. Después de la última fase larvaria, la larva abandona su cutícula y se transforma en pupa, o la última cutícula larvaria se transforma en cubierta pupal. La respiración de la pupa se efectúa a través de un par de espiráculos especiales, colocados a distintos niveles del cuerpo según la especie. Terminada la metamorfosis en el pupario, la mosca adulta emerge de éste, generalmente por una hendidura en forma de T, o empujando una placa circular. Después de salir de la cubierta pupal, la mosca espera a que sus alas se sequen y desde este momento, el insecto inicia su vida aérea (Faust, 1978; Manson-Bahr, *et al.*, 1982; Barnes, 1986).

1.2.3. Chinchas:

Las chinches triatómidas se alimentan de sangre de diversos mamíferos (incluyendo al hombre) y aves. El aparato reproductor femenino se compone de dos ovarios, los cuales son fecundados durante la cópula. Los huevos son depositados en hendiduras o grietas de los muebles, del piso o de las paredes, y se adhieren a ellas mediante una cubierta de una delgada capa gelatinosa. En los climas cálidos, los huevos eclosionan en cuatro a ocho días y dan salida a las larvas, las cuales pasan por cuatro estadios ninfales antes de llegar a la madurez. El desarrollo de cada estadio ocurre en poco más de una semana. La larva se alimenta de sangre una o dos veces, y las ninfas, tres o cuatro veces por cada estadio. Ocho días después de que los adultos han emergido, comienzan a alimentarse, se verifica la cópula y una semana después se inicia la oviposición. Las hembras ponen de dos a ocho huevos cada vez, en las grietas de las viviendas, en donde se esconden durante el día. Las hembras ovipositan diariamente, durante meses (Faust, 1978; Barnes, 1986).

1.3. ORGANIZACION GENETICA

1.3.1. Mosquitos:

De las 66 especies de *Anopheles* consideradas como vectores importantes de parásitos de la malaria humana, al menos 55% pertenecen ya sea a grupos estrechamente relacionados, o a especies prácticamente idénticas (conocidas como "especies crípticas"). La existencia de estos complejos de especies crípticas, aunque interesante bajo la perspectiva evolutiva, presenta un problema complejo de control de estos vectores debido a la diferencia en el comportamiento y capacidad vectorial de cada miembro de dichos complejos (Coluzzi, 1992). Actualmente se están desarrollando varios métodos basados en el estudio del DNA con el objetivo de distinguir entre los diferentes miembros de los complejos de especies crípticas. El método más aceptado consiste en identificar diferencias específicas entre las secuencias de DNA altamente repetitivas dentro de los diferentes genomas. La diferencia entre estas secuencias nos permite identificar especies con una gran sensibilidad (a partir de 1 ng de DNA). Otros métodos para la identificación de especies son la búsqueda de fragmentos de restricción con polimorfismo en longitud (RFLPs), ya sea en el DNA mitocondrial o ribosomal. El método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha simplificado

la búsqueda de estos fragmentos en el RNA ribosomal (Besansky, *et al.*, 1992a; Besansky, *et al.*, 1992b).

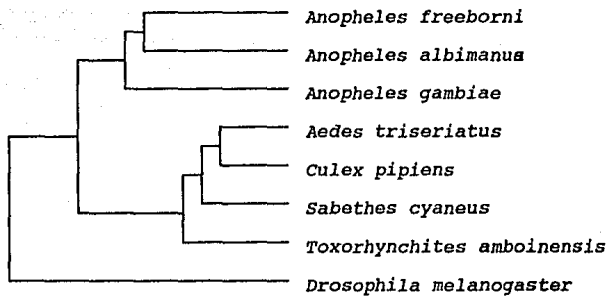
Para estudiar la organización genómica de los mosquitos se ha medido el tamaño del genoma de varias especies de *Anopheles*, *Culex* y *Aedes* (Cuadro II). Aunque no se observa una correlación simple entre el tamaño del genoma y la complejidad del organismo, se presenta una tendencia general en la familia Culicidae, con el género más primitivo, *Anopheles*, mostrando un genoma que no es la mitad del tamaño de los más evolucionados *Culex* o *Aedes*. Si se observa, entre las diferentes especies de *Aedes* hay un alto rango de diferencia en el tamaño de los genomas. Este alto rango resalta la velocidad con que el proceso molecular de duplicación y delección ocurren (Rao, *et al.*, 1990). La proporción de secuencias repetitivas en los mosquitos varía de 20% en *An. quadrimaculatus* a 84% en *Ae. triseriatus*. Esta proporción de genoma ocupado por DNA repetitivo se incrementa conforme se incrementa el tamaño del genoma en tres especies examinadas, *An. quadrimaculatus*, *Ae. albopictus* y *Ae. triseriatus*. La cantidad total de secuencias de repetición, ya sea secuencias largas (>1000 pares de bases) o cortas (<1000 pares de bases), se incrementa con el tamaño del genoma. Sin embargo, la proporción relativa de secuencias cortas se incrementa a expensas de las secuencias largas en todas las especies examinadas.

Es interesante ver que los genomas de *Anopheles*, los más pequeños, consisten de sólo dos componentes distintivos, el llamado repetitivo y el único, organizados bajo un patrón de mezcla de secuencias largas, resultando en una variación mínima del tamaño de genoma entre las diferentes especies de *Anopheles*. En cambio, los genomas de *Culex* y *Aedes*, mucho más grandes, tienen tres componentes distintivos (el altamente repetitivo, el moderadamente repetitivo y el único), organizados bajo un patrón de mezcla de secuencias cortas, resultando en una gran variación del tamaño de genoma entre las diferentes especies (Besansky, *et al.*, 1992a; Besansky, *et al.*, 1992b).

La poca complejidad de la organización genómica (tamaño del genoma y número de secuencias repetitivas) en *Anopheles* se ha interpretado como que este género es primitivo dentro de la familia Culicidae. La divergencia de *Anopheles* con respecto a otros mosquitos se observa en la comparación de secuencias de una región hipervariable del DNA ribosomal (rDNA), la cual nos revela mucha mayor divergencia entre los miembros de los tres subgéneros de *Anopheles*, que la que se presenta entre las subfamilias Culicinae y Toxorhynchitinae (Cuadro III). Cabe mencionar que sólo las hembras adultas de las subfamilias Anophelinae y Culicinae toman sangre obligadamente, condición que es diferente en los Toxorhynchitinae (Besansky, *et al.*, 1992a).

Especie / Cepa	Tamaño del Genoma (Pg) +/- Error standard
<i>Anopheles labranchiae</i>	0.23 +/- 0.04
<i>An. atroparvus</i>	0.24 +/- 0.04
<i>An. stephensi</i>	0.24 +/- 0.03
<i>An. freeborni</i>	0.29 +/- 0.03
<i>An. quadrimaculatus</i> (sp. A)	0.24 +/- ?
<i>An. gambiae</i>	0.27 +/- ?
<i>Culex pipiens</i>	1.02 +/- 0.19
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	0.54 +/- 0.01
<i>Cx. restuans</i>	1.02 +/- 0.04
<i>Aedes aegypti</i>	0.81 +/- 0.03
<i>Ae. pseudoscutellaris</i>	0.59 +/- 0.01
<i>Ae. triseriatus</i>	1.52 +/- 0.06
<i>Ae. zoosophus</i>	1.90 +/- 0.06
<i>Ae. albopictus:</i>	
Kent Ridge (Singapur)	0.75 +/- 0.02
Amoy (Singapur)	1.29 +/- 0.06
Koh Samui (Tailandia)	0.62 +/- 0.02
Houston-61/TX (EU)	1.66 +/- 0.08

Cuadro II. Tamaño del genoma de varios mosquitos *Anopheles*, *Culex* y *Aedes* (Tomado de Besansky, *et al.*, 1992a).



Cuadro III. Cuadro de semejanza genética, en base a estudios de comparación de regiones específicas del 28s rDNA (la longitud de las líneas horizontales indica la mayor o menor divergencia entre las especies) (Tomado de Besansky, *et al.*, 1992a).

Además de la investigación en cuanto a organización genómica, se ha realizado un considerable esfuerzo en cuanto al mapeo genético de los mosquitos, mediante la ayuda de marcadores específicos. Sin embargo, el trabajo no fue fácil al principio, ya que aunque todos los mosquitos poseen cromosomas politénicos (cromosomas gigantes con gran cantidad de bandas transversales) en ciertos tejidos y estadios de su desarrollo, estos cromosomas tienen muy poca calidad citogenética, es decir, la identificación entre banda y banda es sumamente difícil (se cree que es debido a la gran cantidad de secuencias de DNA altamente repetitivas y dispersas). Este problema se ha solucionado gracias a la técnica del PCR, la cual amplifica el DNA en cuestión. De esta manera, se han obtenido mapas de ligamiento para varias especies de *Anopheles*, *Culex* y *Aedes* (Steiner, *et al.*, 1982; Munstermann, 1990; Besansky, *et al.*, 1992a). También se ha obtenido el mapa genético del cromosoma X de *Anopheles gambiae*, mediante los llamados marcadores microsatélites. Estos microsatélites son arreglos de secuencias de repetición simples, y tienen la ventaja de ser abundantes, estar ampliamente dispersos en el genoma, ser polimórficos y responder muy bien al PCR. Actualmente se han detectado 31 microsatélites marcadores, ligados al sexo, ubicados en 23 loci, con una distancia total de mapeo de 44 centimorgans. El mapa se encuentra relacionado con la mutación recesiva de ojo blanco (w), y puede ser usado para cualquiera de las cepas conocidas de *An. gambiae*. Por otro lado, el mapa genético de *Aedes aegypti* consiste de 53 fragmentos de restricción, detectados mediante marcadores de DNA de longitud polimórfica (Zheng, *et al.*, 1993).

El mapeo genético de los cromosomas mencionados es un paso importante hacia la localización y caracterización de genes que participen en el control de la susceptibilidad o rechazo de los mosquitos a cada parásito específico.

1.3.2. Moscas:

Hace unos 20 años no se conocía ninguna variante genética entre las moscas tsé-tsé, pero la aplicación de técnicas de electroforesis de proteínas ha cambiado la situación. Estas técnicas se han aplicado en el estudio de las 30 especies y subespecies conocidas de *Glossina*, y se han aislado mutantes visibles: tres cepas de *G. morsitans morsitans* y dos cepas de *G. palpalis palpalis*. También se han aislado genes marcadores que revelan variación electroforética en 13 loci de *G. m. morsitans* (11 de los cuales ya se han mapeado) (Gooding, 1992).

La electroforesis proteica ha mostrado que la cantidad de variación genética en poblaciones naturales de moscas tsétsé es similar a la de la mayoría de los invertebrados. Sin embargo, la heterocigocidad en el DNA ribosomal (rDNA) de colonias de tsétsé (24% en *G. m. morsitans* y 31% en *G. m. centralis*) es mayor que en otros organismos. El significado de esto permanece desconocido (Gooding, 1992).

La investigación en las moscas tsétsé no es tan avanzada como en los mosquitos. Esto es debido al interés que ha despertado el estudio de los mosquitos, ya que transmiten a un gran número de virus, especies de *Plasmodium* y gusanos, mientras que las moscas tsétsé transmiten sólo a 4 especies de *Trypanosoma*. Además, la tasa reproductiva tan baja (6 a 8 crías por hembra fuera de la primavera) y el largo tiempo generacional (aproximadamente 50 días) hacen que estos insectos no sean nada prácticos para estudios genéticos. Sin embargo, trabajos recientes relativos a la genética de la tsétsé han detectado variaciones en frecuencias de alimentación en hembras, en patrones de conducta de machos, en la duración de la cópula, en la morfología de los cromosomas y en el número de cromosomas supernumerarios y cromosomas sexuales (Gooding, 1992).

***II.- LOS PARASITOS: TAXONOMIA Y CICLOS
BIOLOGICOS***

II.1 TAXONOMIA

II.1.1. Protozoarios:

Dentro del Reino Protista, Subreino Protozoa (organismos unicelulares eucarióticos), nos referiremos únicamente a los parásitos que nos interesan:

Phylum Sarcostigophora (la sexualidad, cuando existe, es singámica, es decir, todo el organismo funciona como gameto; locomoción por flagelos o pseudópodos).

Subphylum Mastigophora (uno o más flagelos; reproducción asexual por fisión binaria; pocos casos de reproducción sexual).

Clase Zoomastigophora (Zooflagelados: cromoplastos ausentes; uno a muchos flagelos).

Orden Kinetoplastida (uno o dos flagelos; una mitocondria a lo largo del cuerpo; nucleóide o cinetoplasto; blefaroplastos o gránulos basales; la mayoría parásitos).

Familia Trypanosomatidae (organismos dimórficos o polimórficos).

Trypanosoma spp.

Superorden Parabasalidea (Filamentos radicales asociados con los flagelos, llamados cariomastigontes; la mayoría no tiene mitocondrias; división extranuclear).

Orden Trichomonadida (cuatro a seis flagelos; la mayoría habitan en el tubo digestivo de animales huéspedes, alimentándose de bacterias y algas -holozoicos- o parasitando al organismo huésped -saprozoicos-).

Leishmania spp.

Phylum Apicomplexa (complejo apical, con anillos polares y microtúbulos; cilios ausentes; sexualidad por singamia; todos parásitos).

Clase Sporozoa (sin organelos de locomoción; producen esporas, las cuales tienen uno o más esporozoítos).

Subclase Coccidia (parásitos de vertebrados e invertebrados; la mayoría tienen reproducción asexual por esquizogonia y sexual por anisogamia).

Orden Eucoccidia.

Suborden Haemosporina (reproducción asexual en sangre de vertebrados, y sexual en el tracto digestivo de invertebrados hematófagos).

Familia Plasmodiidae.

Plasmodium spp.

(Levine, 1982).

II.1.2. Nemátodos:

Phylum Nematoda (organismos vermiformes con simetría bilateral. Sin segmentos. Tubo digestivo completo, cavidad del cuerpo sin recubrimiento mesotelial; sexos usualmente separados).

Clase Phasmidea (nemátodos con fasmidios: quimiorreceptores caudales).

Orden Filariata (boca simple, circular o algo alargada en sentido dorsoventral, sin labios. Cápsula bucal por lo general ausente. Parásitos de vertebrados terrestres).

Familia Onchocercidae.

Onchocerca volvulus.

(Lamothe, et al., 1988).

II.1.3. Arbovirus:

Los arbovirus (arthropod borne virus) son definidos como virus propagados entre hospederos vertebrados susceptibles, por medio de artrópodos hematófagos o a través de transmisión transovárica o venérea en artrópodos. Esta definición agrupa a virus de distintos grupos taxonómicos. Se conocen más de 250 virus en este grupo (Leake, 1992).

El Cuadro IV ilustra la taxonomía y principales características anatómico-estructurales de los arbovirus. Hay 5 familias principales de arbovirus: Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae, Reoviridae y Rhabdoviridae. Otros grupos muy pequeños de virus son listados también como arbovirus (ejemplo: Familia Iridoviridae). Entre estos grupos taxonómicos, la Familia Togaviridae (también conocida como Grupo A) y la Familia Flaviviridae (Grupo B) incluyen a la mayor parte de los patógenos humanos. La Familia Togaviridae comprende 4 géneros, de los cuales sólo el género *Alfavirus* es parásito de insectos. El grupo B (flavivirus) incluye al virus del dengue y al virus de la fiebre amarilla. Estos virus son esféricos, con envoltura y con unos 40 a 50 nm de diámetro. El genoma se compone de una hebra sencilla de RNA. La envoltura contiene normalmente una proteína glicosilada y una proteína no glicosilada, además de una cápsula compuesta por un sólo polipéptido. Actualmente se reconocen más de 70 flavivirus (Casals, 1967; Bowman, *et al.*, 1985; Leake, 1992).

Las enfermedades causadas por los arbovirus son principalmente zoonosis; es decir, son infecciones naturales de vertebrados diferentes al hombre, aunque pueden ser transmitidas a él. Se conoce una excepción: el virus de la fiebre del o'nyong-nyong, el cual ataca al hombre como único hospedero vertebrado (Manson-Bahr, *et al.*, 1982).

Familia	Género	Número de virus	Tamaño (nm)	Acido Nucleico	Estructura	Proteínas estructurales
Togaviridae	Alfavirus	>37	60-70	Hebra sencilla + RNA	Cápsula icosaedro + Envoltura	3 ó 4
Flaviviridae	Flavivirus	>70	40-50	Hebra sencilla + RNA	Cápsula esférica + Envoltura	3
Bunyaviridae	Bunyavirus	>165				
	Phlebovirus	37				
	Nairovirus	28			Cápsula Helicoidal + Envoltura	4
	Uukuvirus	11	80-120	Genoma tripartito - RNA		
	Hantavirus	7				
	No asignado	38				
Reoviridae	Orbivirus	79	60-80	10 - 12 hebras, hebra doble, RNA	Icosaedro - Envoltura	7
Rhabdoviridae	Vesiculovirus	18	178-188	Hebra sencilla - RNA	Forma de bala	5
	Lyssavirus	7				
	No asignado	52	60-75			
Iridoviridae		1	175-215	Hebra doble, DNA	Icosaedro + Envoltura	5

Cuadro IV. Grupos de mayor importancia taxonómica entre los arbovirus, y algunas de sus características (Tomado de Leake, 1992).

En un estudio realizado por la Organización Mundial de la Salud, de 181 arbovirus analizados, 131 especies se encontraron en mosquitos, distribuidas de la siguiente forma:

<i>Culex</i>	61
<i>Aedes</i>	55
<i>Anopheles</i>	23
<i>Mansonia</i>	13
<i>Sabethes</i>	10
<i>Psorophora</i>	10
<i>Haemagogus</i>	7
<i>Culiseta</i>	5
<i>Trichoprosopon</i>	4
<i>Eretmapodites</i>	3
<i>Wyeomyia</i>	3
<i>Limatus</i>	1
<i>Phantomya</i>	1

(Manson-Bahr, *et al.*, 1982).

Actualmente se han catalogado unos 500 virus obtenidos de mosquitos, y se ha visto que un número relativamente pequeño de estos virus son de importancia en la salud pública y veterinaria. En el Cuadro V se mencionan algunos de estos virus.

Alfavirus	Vector potencial	Vector principal del humano
Chikungunya	Solamente <i>Aedes spp</i>	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i>
Encefalitis equina del Oriente	23 especies (6 géneros)	<i>Coquilletidia perturbans</i>
O'nyong-nyong	<i>Anopheles funestus</i> , <i>An. gambiae</i>	<i>An. funestus</i> , <i>An. gambiae</i>
Virus del río	22 especies (5 géneros)	<i>Culex annulirostris</i> , <i>Ae. vigilax</i> , <i>Aedes spp.</i>
Encefalitis equina Venezolana	Cepas enzoóticas, 41 especies	<i>Ae. aegypti</i> , 34 cepas epizooticas
Encefalitis equina del Occidente	28 especies	<i>C. tarsalis</i>

Cuadro V. Algunos arbovirus de importancia clínica que se encuentran en mosquitos. (Tomado de Karabatsos, 1985; Monath, 1988)

Flavivirus	Vector potencial	Vector principal del humano
Dengue	Varias especies de <i>Aedes spp.</i>	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Ae. albopictus</i>
Encefalitis japonesa	Menos de 25 especies	<i>C. tritaeniorhynchus</i> , otros <i>Culex spp.</i>
Encefalitis del Valle de Murray	<i>C. annulirostris</i> , <i>C. australicus</i>	<i>C. annulirostris</i>
Encefalitis de San Luis	Varias especies <i>Culex spp.</i>	<i>C. tarsalis</i> , <i>C. pipiens</i> , <i>C. quinquefasciatus</i> , <i>C. nigripalpus</i>
Wesselsbron	Menos de 30 especies	<i>Aedes</i> de diluvio, <i>Ae. caballus</i> , <i>Ae. circumluteolus</i>
Fiebre oriental del Nilo	24 especies de mosquito, 4 de garrapata	<i>C. univittatus</i>
Fiebre Amarilla	Varios <i>Aedes</i> , <i>Haemagogus</i> y <i>Sabethes spp.</i>	<i>Ae. aegypti</i>

Bunyavirus	Vector potencial	Vector principal del humano
Grupo de Encefalitis de California	Mosquitos de nieve derretida y de diluvio	Ej. <i>Ae. triseriatus</i> (Virus LaCrosse)
Fiebre del Valle del Risco	Menos de 20 especies de mosquito, 1 <i>Simulium</i> , 1 Culicoides, 1 garrapata	<i>Aedes</i> del diluvio (Africa subsahara). Ej. <i>Ae. lineatopennis</i> , <i>C. pipiens</i> (Egipto)

Cuadro V. Algunos arbovirus de importancia clínica que se encuentran en mosquitos. (Tomado de Karabatsos, 1985; Monath, 1988)

II.2. CICLOS BIOLÓGICOS

II.2.1. *Leishmania*:

Las especies de *Leishmania* que parasitan al hombre se han dividido en 4 complejos. Estos complejos incluyen numerosas subespecies, con diferentes vectores y se encuentra distribuida en distintas regiones del mundo. Dentro de las más importantes están:

<u>Especie-Subespecie</u>	<u>Vector</u>	<u>Enfermedad</u>	<u>Región</u>
1.- Complejo <i>Leishmania donovani</i> :			
<i>L. donovani infantum</i>	<i>Phlebotomus major</i>	Kala-azar adulto	Mediterráneo
<i>L. donovani donovani</i>	<i>P. argentipes</i>	Kala-azar adulto	India y Sri Lanka
2.- Complejo <i>Leishmania tropica</i> :			
<i>L. major</i>	<i>P. papatasi</i>	Leishmaniasis rural	Asia Central
<i>L. tropica</i>	<i>P. papatasi</i>	Leishmaniasis urbana	Mediterráneo
3.- Complejo <i>Leishmania mexicana</i> :			
<i>L. mexicana mexicana</i>	<i>Lutzomyia olmeca</i>	Úlcera de los chicleros	México
4.- Complejo <i>Leishmania braziliensis</i> :			
<i>L. braziliensis braziliensis</i>	<i>Lu. wellcomei</i>	Espundia	Brasil, Perú, Bolivia
<i>L. braziliensis panamensis</i>	<i>Lu. trapidoi</i>	Úlcera	Panamá

(Manson-Bahr, *et al.*, 1982).

Las especies del género *Leishmania* tienen un núcleo, un cinetoplasto, un cuerpo parabasal, un axonema y, en la fase de promastigote, un flagelo. Estos parásitos son capaces de infectar varias especies de mamíferos, incluyendo a los humanos. *Leishmania* existe en dos formas morfológicamente distintas durante su ciclo de vida, y cada forma habita en un hospedero

diferente. La forma amastigote habita en macrófagos de la piel de hospederos vertebrados (*L. donovani* suele parasitar además a macrófagos de hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos), y la forma promastigote habita en el intestino del insecto vector (*Phlebotomus spp.* y *Lutzomyia spp.*). El promastigote es una forma móvil flagelada con cuerpo fusiforme que durante su ciclo celular tiene dos fases de desarrollo: una fase logarítmica no infectiva y una fase metacíclica estacionaria altamente infectiva. Esta última fase es transmitida al vertebrado hospedero desde el vector durante la alimentación con sangre. Una vez dentro del hospedero, los promastigotes son ingeridos por fagocitos mononucleares, donde se transforman en amastigotes inmóviles. El tipo de reproducción en ambas fases es asexual, por fisión binaria longitudinal. Cuando el amastigote se ha multiplicado varias veces, destruye al macrófago hospedero y enseguida nuevos macrófagos son parasitados (Faust, 1978; Kudo, 1982; Bogdan, *et al.*, 1990) (Fig. 3).

II.2.2. *Trypanosoma cruzi*:

Las especies del género *Trypanosoma* presentan núcleo, cuerpo basal, cinetoplasto, axonema, y un flagelo libre (epimastigotes y tripomastigotes) el cual puede continuarse en forma de una membrana ondulante (tripomastigotes), a lo largo de toda la membrana celular hasta llegar al cinetoplasto.

T. cruzi tiene un ciclo de vida complejo, con varias formas funcionales especializadas para vivir en el hospedero vertebrado y el invertebrado. Los epimastigotes son formas replicativas, no infectivas, que se desarrollan en el intestino medio del insecto triatómido, al igual que los amastigotes, que se desarrollan en las células del mamífero. En contraste, los tripomastigotes metacíclicos son formas no replicativas pero sí infectivas en el insecto vector, al igual que los tripomastigotes en el torrente sanguíneo del mamífero (Manson-Bahr, *et al.*, 1982; Bonaldo, *et al.*, 1988).

Generalmente, en la enfermedad crónica de Chagas, los tripanosomas se encuentran dispersos en la sangre y si son ingeridos por el insecto, la primera diferenciación se da en el buche. Esta diferenciación de tripomastigotes sanguíneos a epimastigotes empieza pocas horas después de la ingestión del parásito. Algunos autores mencionan otras formas en el intestino además de los epimastigotes (los esferomastigotes y los sincitios), basándose en pequeñas diferencias morfológicas. La multiplicación de los epimastigotes se da principalmente en el intestino medio del vector y la proporción de desarrollo es variable y relacionada con la diferenciación anterior.

Fig. 3. Ciclo Biológico de *Leishmania donovani*. A. Fase de amastigote. B. Fase de promastigote.

C. Mosca de la arena (*Phlebotomus*), hospedero invertebrado. D. Hospedero vertebrado.

1, Núcleo; 2, Cuerpo parabasal; 3, Cinetoplasto; 4, Axonema; 5, Flagelo. a, Macrófago con amastigotes siendo ingerido por una mosca de arena; b, Macrófago siendo ingerido y amastigotes liberados; c, División binaria de amastigotes; d, Formación de promastigotes; e, Fisión binaria de promastigotes; f, Multiplicación de promastigotes en el intestino; g, Migración de promastigotes hacia la probóscide; h, Promastigotes en la probóscide; i, Promastigotes recientemente inyectados en el torrente sanguíneo del vertebrado; j, Macrófago ingiriendo al promastigote; k, Promastigote transformado en amastigote; l, Amastigotes dividiéndose por fisión binaria; m, Dos amastigotes; n, Multiplicación de amastigotes; o, Macrófago completamente lleno de amastigotes; p, Ruptura del macrófago, liberando a los amastigotes en la sangre; q, Macrófagos ingiriendo a amastigotes; r, Macrófagos infectados pasan a través del corazón y dentro de la circulación general (r-v); s-u, La multiplicación de amastigotes empieza cuando son ingeridos por los macrófagos; v, Macrófagos infectados en circulación periférica susceptibles de ser picados por las moscas; w, Amastigotes en células reticuloendoteliales del hígado (además del bazo y de la médula ósea); x, ruptura de las células reticuloendoteliales, liberando amastigotes, los cuales son ingeridos por las células fagocíticas del hígado, bazo y médula ósea, donde ocurren sucesivas multiplicaciones y destrucción de células hospederas (Tomado de Olsen, 1974).

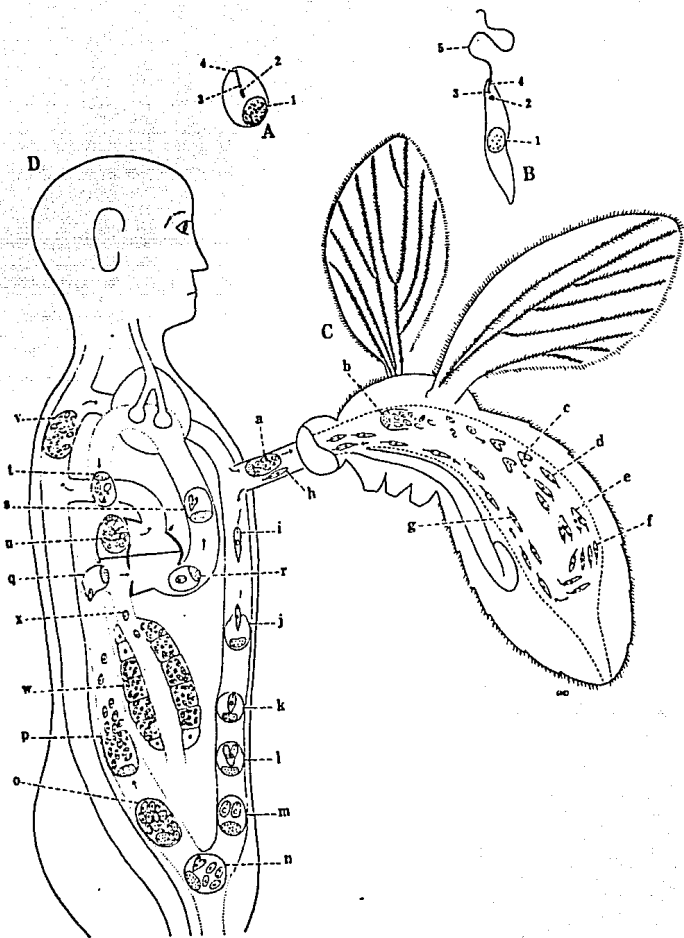


Fig. 3. Ciclo Biológico de *Leishmania donovani*.

La diferenciación eventual de epimastigotes a tripomastigotes metacíclicos (forma infectiva en el insecto) se da en forma intensiva en el recto, justo antes de la zona donde nacen los túbulos de Malpighi y está relacionada con la adhesión de *T. cruzi* a la superficie cuticular del órgano.

Algunos epimastigotes se adhieren a la superficie del recto y se dividen. Los que quedan libres se diferencian en tripomastigotes cíclicos, que son liberados en la excreción de materia fecal del insecto vector durante su alimentación sanguínea y penetran en su hospedero mamífero por la herida en la piel o a través de la membrana mucoide de labios u ojos. Entonces, los parásitos invaden diferentes tipos de células del hospedero vertebrado (principalmente macrófagos y células musculares) y se diferencian rápidamente en amastigotes no flagelados, los cuales tienen varias divisiones celulares dentro de su célula hospedera, formando un pseudoquiste. Conforme el pseudoquiste se llena de parásitos, los amastigotes se diferencian en tripomastigotes, los cuales son liberados en la ruptura de la célula hospedera y se encuentran listos para iniciar sucesivos ciclos infecciosos dentro de otras células del hospedero mamífero, o para completar el ciclo de vida si son ingeridos por un nuevo insecto vector. Además de las células sanguíneas, los tripomastigotes también pueden invadir el músculo esquelético, músculo cardíaco, y células reticuloendoteliales del hígado, bazo y médula ósea, llegándose a formar en algunos casos nidos de amastigotes en músculos cardíacos y hasta en el cerebro (Fig. 4) (Faust, 1978; Kudo, 1982; Manson-Bahr, *et al.*, 1982; García, *et al.*, 1991).

II.2.3. *Trypanosoma gambiense*:

A diferencia de *T. cruzi*, *T. gambiense* sólo tiene dos formas en su ciclo de vida: epimastigotes en las glándulas salivales del insecto vector (*Glossina*: mosca tsé-tsé), y los tripomastigotes en el torrente sanguíneo del vertebrado infectado y en el aparato digestivo del insecto vector. En la sangre del mamífero, el tripomastigote no invade las células sanguíneas, sino que vive en el torrente sanguíneo, invadiendo también los nódulos linfáticos, el bazo, y el líquido cefalorraquídeo (pueden llegar a invadir el sistema nervioso). Se multiplica por fisión binaria, tanto en el hospedero mamífero como en la cavidad del intestino del insecto vector. Luego de multiplicarse en el intestino de este último, los tripomastigotes atraviesan la membrana peritrofica, llegando al esófago y después a la faringe, de donde migran a las glándulas salivales. Ahí se transforman en epimastigotes, se multiplican, y son inoculados en el hombre, ya transformados otra vez en tripomastigotes infectivos (Fig. 5) (Faust, 1978; Kudo, 1982).

Fig. 4. Ciclo Biológico de *Trypanosoma cruzi*. A, Tripomastigote típico de la sangre del hospedero vertebrado; B, Chinche hocicona (*Panstrongylus megistus*), hospedero invertebrado; C, Vista lateral de la cabeza de la chinche; D-I, Algunos hospederos vertebrados comunes; D, Humanos; E, Murciélagos; F, Zari güeyas; G, Armadillos; H, Perros; I, Gatos (los mapaches suelen servir de reservorios). 1, Núcleo; 2, Cuerpo basal; 3, Cinetoplasto; 4, Axonema; 5, Membrana ondulante; 6, Flagelo libre; 7, Probóscis en posición de descanso. a, *Trypanosoma* metacíclico que ha entrado a la sangre desde las heces de la chinche, a través de la herida en la piel; b, tripanosoma entra al macrófago en la sangre; c, tripanosoma se transforma en amastigote; d, multiplicación del amastigote; e, los amastigotes se transforman en epimastigotes, los cuales se multiplican; f, los epimastigotes se transforman en tripomastigotes, los cuales rompen las células y salen a la sangre; g, tripomastigotes libres en la sangre; h-n, Repetición del ciclo de a-g, con aparición de tripomastigotes en la sangre por segunda vez (los tripomastigotes aparecen en la sangre periódicamente por repetición del ciclo reproductivo); o, Tripomastigotes invaden el músculo esquelético, músculo cardíaco, células reticuloendoteliales del hígado, bazo y médula ósea; p, Tripomastigotes se transforman en amastigotes dentro de los cuerpos casi-quísticos; q, Amastigotes se multiplican, formando nuevos amastigotes; r, Los amastigotes se transforman en epimastigotes; s, Epimastigotes se transforman en tripomastigotes y rompen el quiste; t, Tripomastigotes son libres; u-x, Repetición de o-t; y, Nidos de amastigotes en músculo cardíaco; z, Nidos de amastigotes en cerebro. a', Chinche chupando tripomastigotes de la sangre; b', Tripomastigote pasando a través del esófago; c', Tripomastigotes en el estómago se transforman en epimastigotes; d', División de epimastigotes en el estómago; e', Multiplicación de los epimastigotes en el intestino medio; f, Epimastigotes en el recto se transforman en tripanosomas metacíclicos; g', Tripanosomas metacíclicos en las heces infectan al hospedero a través de la herida hecha por la chinche mientras se alimenta, o por contaminación de la membrana mucosa de los labios (h') u ojos (i'). (Tomado de Olsen, 1974).

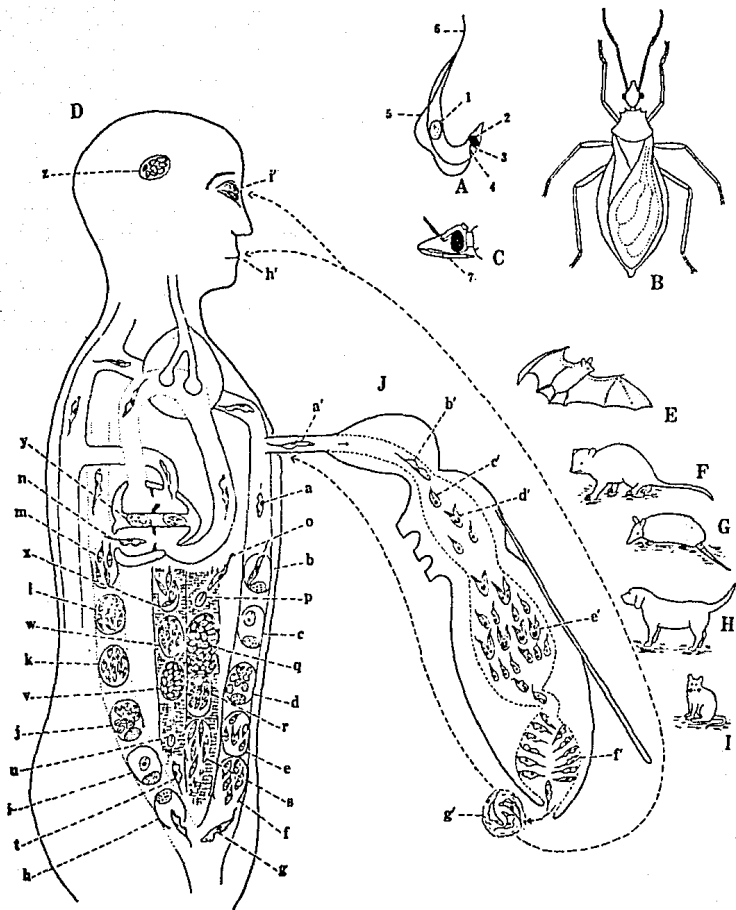


Fig. 4. Ciclo Biológico de *Trypanosoma cruzi*.

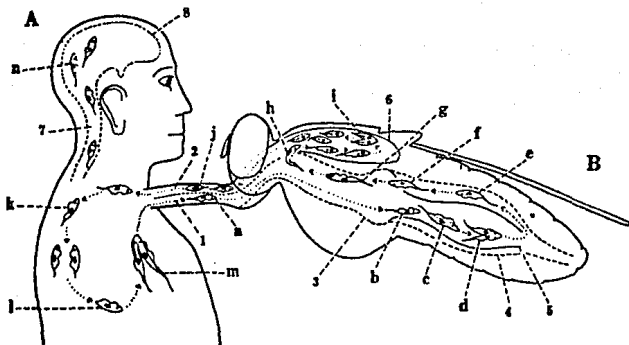


Fig. 5. Ciclo Biológico común a *Trypanosoma brucei*, *T. gambiense*, *T. rhodesiense*, *T. evansi*, *T. equinum* y *T. equiperdum*. A, Hombre (u otros mamíferos hospederos); B, Mosca tsé-tsé.

1, Labroepifaringe de la proboscis; 2, Hipofaringe de la proboscis; 3, Proventrículo; 4, Intestino medio; 5, Membrana peritrófica; 6, Glándula salival; 7, Cuerda espinal; 8, Cerebro.
a, Tripomastigotes ingeridos con la sangre por la tsé-tsé; b, Tripomastigotes llegan al intestino medio; c, Tripomastigotes se alargan y se vuelven delgados; d, Multiplicación de los tripomastigotes; e, Entran en el espacio entre la membrana peritrófica y la pared del intestino medio, migrando hacia adelante; f, Migran a través de la porción proventricular suave de la membrana peritrófica y llegan al proventrículo; g, Entran al esófago y la faringe; h, Migran a las glándulas salivales; i, Tripomastigotes cambian a epimastigotes, los cuales se multiplican; j, Los epimastigotes se transforman en tripanosomas metacíclicos, los cuales son inoculados en el mamífero; k, Tripomastigotes, de tamaño medio; l, Tripomastigotes pequeños; m, Tripomastigotes largos y delgados dividiéndose; n, Tripomastigotes en el sistema nervioso central. (Tomado de Olsen, 1974).

II.2.4. *Plasmodium*:

Las cuatro especies de *Plasmodium* patógenas para el hombre son *P. vivax*, *P. ovale*, *P. falciparum* y *P. malariae*. Estos microorganismos causan, respectivamente, el paludismo terciario benigno, una forma leve de paludismo terciario benigno, el paludismo subterciario maligno y el paludismo cuartano benigno. Los términos "terciario" y "cuartano" se refieren a la periodicidad de los brotes de fiebre. En el paludismo terciario, la fiebre se presenta en días alternos (es decir, con una diferencia de 48 horas en su inicio), y en el paludismo cuartano repite cada cuarto día (es decir, con una diferencia de 72 horas entre los inicios). El término "maligno" se refiere a la elevada frecuencia de afección cerebral grave y otras complicaciones relacionadas con el paludismo producidas por *P. falciparum*, que es la especie más patógena (Bowman, *et al.*, 1985).

Plasmodium es transmitido de hombre a hombre mediante las hembras de diversas especies de *Anopheles*. La forma infecciosa del parásito para el hombre son células delgadas, en forma de huso, conocidos como esporozoitos. Estos esporozoitos tienen una estructura compleja. Están limitados por una membrana relativamente gruesa. Su forma varía, pudiendo ser estrecha, ligeramente curva (*P. vivax*), gruesa (*P. malariae*) o en forma de media luna (*P. falciparum*), y miden de 10 a 14 micras de largo. Poseen fibras periféricas con aparente función locomotora. Tienen mitocondria, pero no pigmento. Tienen una depresión relativamente profunda en la superficie de la membrana, llamada micropilo. Residen en las glándulas salivales de los mosquitos infectados, y penetran en el torrente sanguíneo del hombre a través de la probóscide cuando el mosquito inyecta un poco de saliva anticoagulante antes de comenzar a chupar. Los esporozoitos pueden sobrevivir en el torrente sanguíneo durante una hora. Para vivir y establecer la infección, los esporozoitos deben penetrar en las células del hígado. La etapa dentro de las células hepáticas se llama etapa preeritrocítica o exoeritrocítica. Los esporozoitos crecen y sus núcleos se dividen por fisión múltiple (esquizogonia), produciendo esquizontes grandes multinucleados (redondos u ovalados, de 24 a 60 micras) (Bowman, *et al.*, 1985).

Cinco a quince días después de la picadura del mosquito (dependiendo de la especie del *Plasmodium*), hay fisión citoplásmica múltiple de los esquizontes, produciéndose miles de pequeños merozoitos uninucleados, que hacen estallar las células hepáticas y pasan al torrente sanguíneo. En la mayoría de las especies de *Plasmodium*, algunos merozoitos pueden invadir nuevamente las células hepáticas, repitiéndose este ciclo (esta etapa se llama paraeritrocítica, y puede durar años). Cabe mencionar que en *P. falciparum* sólo se produce una generación de merozoitos que infecten al hígado, es decir, no hay etapa paraeritrocítica.

Los merozoitos penetran en los eritrocitos, en donde se transforman en la forma conocida como trofozoito, el cual es de forma anular, uninucleado, y crece llenando al eritrocito, ingiriendo la porción protéica de la hemoglobina. Dentro del eritrocito, el parásito realiza repetidas fisiones nucleares, produciendo un esquizonte multinucleado, el cual finalmente se divide en merozoitos uninucleados. Estos merozoitos rompen el eritrocito y penetran en otros eritrocitos, causando los ataques de fiebre del paludismo. La etapa eritrocítica dura unas 48 horas en plasmodios que causan el paludismo terciario (*P. vivax* y *P. ovale*), 36 horas en *P. falciparum* (paludismo subterciario), y 72 horas en *P. malariae* (paludismo cuartano). Además, *P. falciparum* aglutina los eritrocitos infectados, causando obstrucciones capilares, en especial en el cerebro y en el riñón (Bowman, *et al.*, 1985).

Algunos merozoitos que entran en eritrocitos, en lugar de desarrollarse en trofozoitos y esquizontes, realizan diferenciación sexual y se transforman en gametocitos masculinos o gametocitos femeninos (microgametocitos y macrogametocitos, respectivamente). Pueden sobrevivir varios días en los eritrocitos, pero no se desarrollan más, a menos que sean ingeridos por el mosquito huésped adecuado. Estas formas sexuales son las únicas que pueden sobrevivir en el estómago del mosquito. Los gametocitos resisten la actividad de los jugos digestivos de los mosquitos y salen de los eritrocitos. En cada gametocito masculino ocurren tres divisiones nucleares para producir ocho microgametos filiformes que permanecen en el estómago hasta que un microgameto se une con un macrogameto femenino para producir un cigoto. El cigoto móvil u oocineto atraviesa la pared del estómago, tomando forma esférica (oocisto). Este sufre una fisión múltiple (esporogonia), produciendo miles de esporozoitos en un plazo de 12 días aproximadamente. En seguida, se rompe el oocisto y se liberan los esporozoitos móviles, los cuales se dirigen a las glándulas salivales (Fig. 6 y 7) (Olsen, 1974; Faust, 1978; Kudo, 1982; Bowman, *et al.*, 1985).

Fig. 6. Ciclo Biológico de *Plasmodium vivax*. A, Etapa de anillo en eritrocito; B, C, Trofozoitos desarrollándose; D, E, Esquizontes jóvenes con pocos núcleos; F, G, Esquizontes más viejos con más núcleos; H, Célula con merozoitos; I, Macrogametocito; J, Microgametocito; K, Mosquito anofelino en posición característica de alimentación; L, Hospedero humano. 1, Núcleo del parásito en el eritrocito; 2, Citoplasma; 3, Puntos de Schüffner; 4, Gránulos de pigmento; 5, Merozoitos.

a, Gametocito siendo ingerido por el mosquito y entrando al estómago; b, Microgametocito; c, Exflagelación del microgametocito; d, Microgameto; e, Macrogametocito; f, Macrogameto; g, Microgameto fertiliza al macrogameto; h, Cigoto; i, Oocineto; k, El oocineto avanza entre el epitelio y la membrana basal para formar el oocisto joven; l, Oocisto creciendo; m, Formación de esporoblastos; n, El oocisto se rompe y los esporozoitos escapan al hemocele; o, Esporozoitos migran a través del hemocele hacia las glándulas salivales; p, Esporozoitos en las células de las glándulas salivales; q, Esporozoitos siendo inyectados dentro de la sangre del mamífero mientras el mosquito se alimenta. a', Esporozoitos inoculados en el torrente sanguíneo; b', Esporozoitos distribuidos a lo largo de la sangre; c', Esporozoito entrando a célula hepática para iniciar esquizogonia exocitocítica; d', Formación de merozoitos; e', Primera generación de merozoitos exocitocíticos; f, Merozoitos entran en otras células hepáticas para producir la segunda generación; g', Formación de merozoitos; h', Segunda generación de merozoitos, los cuales entran al torrente sanguíneo; i', Merozoito entrando a célula sanguínea roja para iniciar la esquizogonia eritrocítica; j', Fase de anillo; k', Fase de trofozoito; l', m', Esquizontes desarrollándose; n', Formación de merozoitos; o', Merozoitos eritrocíticos son liberados 48 horas después de la entrada de los merozoitos hepáticos (la salida de estos merozoitos provoca escalofríos y fiebre); p', Merozoitos entrando a eritrocitos para iniciar la segunda generación; q', Fase de anillo; r', Trofozoito; s', t', Esquizontes; u', Formación de merozoitos; v', Liberación de la segunda generación de merozoitos eritrocíticos (escalofríos y fiebre); w', Merozoito entrando a eritrocito; x'-z', a'', Formación del microgametocito; b'', Merozoito entrando a eritrocito; c''-g'', Desarrollo del macrogametocito (Tomado de Olsen, 1974).

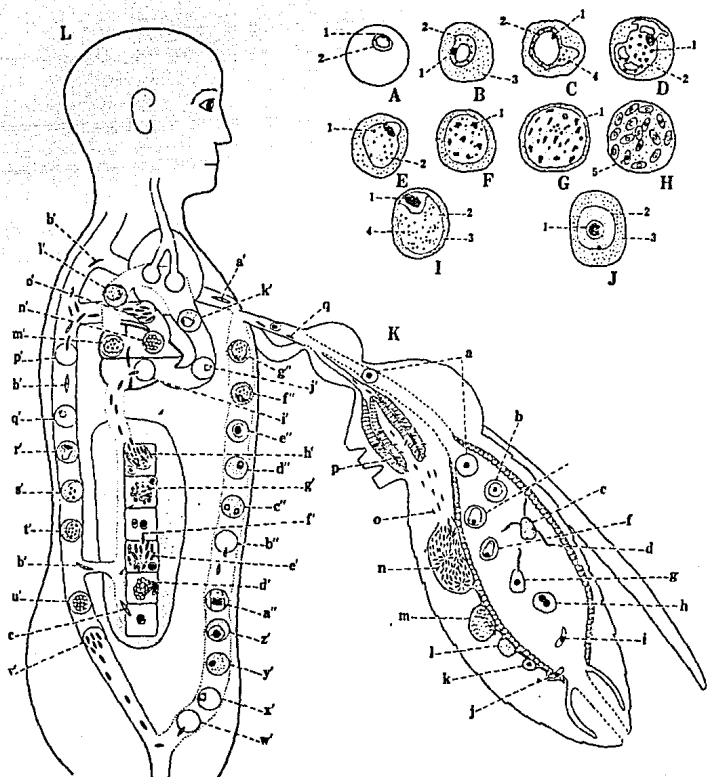


Fig. 6. Ciclo Biológico de *Plasmodium vivax*.

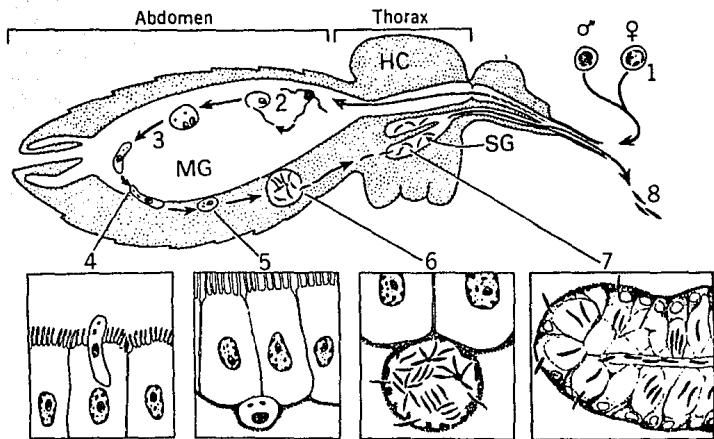


Fig. 7. Secuencia del desarrollo de *Plasmodium* en mosquitos. Los tiempos para el desarrollo de *P. gallinaceum* en *Ae. aegypti* a 25-27°C se dan entre paréntesis. 1. Gametocitos ingeridos por un mosquito hembra alimentándose de un vertebrado infectado con malaria. 2. Los gametos se vuelven extracelulares. Los gametos machos fertilizan a los gametos hembra produciendo cigotos (15-60 minutos). 3. Los cigotos se transforman en oocinetos móviles alargados (16-24 hrs). 4. Los oocinetos penetran y cruzan el epitelio del intestino medio (24-30 hrs). 5. Los oocinetos llegan a la membrana basal del intestino medio y se transforman en oocistos (30-40 hrs). 6. Los esporozoitos maduros salen del oocisto (9-11 días). 7. Los esporozoitos invaden las glándulas salivales (10-12 días). 8. El mosquito transmite a los esporozoitos durante su alimentación (12 días y después) (Tomado de Touray, *et al.*, 1992).

II.2.5. *Onchocerca volvulus*:

La oncocercosis es causada por la infección del nemátodo *Onchocerca volvulus*. El parásito es transmitido de persona a persona por la mordida de la mosca negra del género *Simulium*, la cual se alimenta en ríos de corriente rápida. En los humanos el gusano adulto vive en nódulos fibrosos, normalmente en parejas, dentro del tejido subcutáneo, o en el tejido conectivo profundo alrededor de músculos, huesos y uniones entre ellos. Los adultos son gusanos blancos, opalescentes, y transparentes, con estriaciones transversales bien definidas en la cutícula. Tienen aspecto de alambre, son filiformes y sus dos extremos son romos. Los machos miden de 19 a 42 mm de longitud, y las hembras de 33.5 a 50 cm. Tienen una vida promedio de hasta 15 años. Las hembras producen gran cantidad de embriones, llegando a producir varios millones durante toda su vida. Estos embriones, conocidos como microfilarias, pueden ser de dos tamaños: 285 a 368 micras de longitud, y 150 a 287 micras. Tanto el extremo anterior como el posterior de las microfilarias carecen de núcleos, lo mismo que la región del poro excretor. Las microfilarias se encuentran típicamente en los linfocitos del tejido conectivo, y en la capa subepidérmica de la piel.

Por su parte, el vector además de succionar sangre, suele ingerir tejidos de la piel. Ya dentro del vector, las microfilarias tienen una migración característica hacia los músculos torácicos, en los cuales se acomodan en un plano más o menos transversal, entre los elementos intersticiales de las fibras de los músculos torácicos. En esa posición el parásito tiene dos mudas en un mínimo de 6 días, tras lo cual, el tercer estadio larvario verdadero (de tipo filiforme) se desplaza hacia el labio de la mosca y se encuentra listo para infectar al hombre cuando el insecto toma su siguiente alimento de sangre (Faust, 1978; Duke, 1990).

II.2.6. Arbovirus:

Algunos de los factores necesarios para la transmisión de los arbovirus por medio de artrópodos son los siguientes:

1. La susceptibilidad del artrópodo a la infección y a la transmisión del arbovirus.
2. Los hábitos alimenticios de los artrópodos y sus hábitats preferidos, cerca del hombre o de otros hospederos del arbovirus.
3. Los hábitos de picado de los artrópodos.

4. La longevidad de los artrópodos, la cual depende en gran medida de la temperatura, humedad, y la disponibilidad de hospederos para alimentarse. Mosquitos que viven durante el invierno pueden albergar al arbovirus de un año al otro (*C. tarsalis* puede llevar al virus de la encefalitis equina occidental durante 8 meses).
5. La abundancia de los artrópodos.
6. Las aves migratorias a veces ayudan a la diseminación del virus, ya sea llevándolos directamente en su sangre o acarreado al artrópodo portador.
7. Los sistemas ecológicos son de importancia primaria en la transmisión y en la formación de fuentes naturales de infección. Un ejemplo es el de la diseminación del virus de la fiebre amarilla entre monos de la selva y mosquitos que viven en árboles, llegando ocasionalmente a través de los monos a mosquitos que viven en las áreas de cultivo del plátano, y de ahí al hombre, transmitiéndose a otros hombres por mosquitos domésticos (Manson-Bahr, *et al.*, 1982).

Los arbovirus son parásitos intracelulares obligados que se replican en los diferentes microambientes celulares, tanto del mosquito como del vertebrado, y se transmiten por dos vías, oral o verticalmente. La transmisión oral se da cuando un mosquito inocula al virus en la sangre del hospedero vertebrado, y luego llega otro mosquito, el cual al chupar la sangre infectada, recibe al virus previamente inoculado. La transmisión vertical se da de un mosquito hembra a su proge, mediante infección ovárica de la madre y, posteriormente, de los huevecillos.

Está bien establecido que la principal ruta de infección de los mosquitos por los arbovirus es oral, después de una ingestión de sangre con virus. Los estudios de comparación de transmisión oral muestran diferentes patrones de infección en los tejidos, dependiendo del virus en cuestión. Después de la ingestión del virus en la sangre, las células del intestino medio posterior son las primeras infectadas. Esto es común para todos los arbovirus. Después de esta infección inicial, se da la propagación del parásito de célula en célula, dentro del intestino. Después, el virus es liberado de las células intestinales en la hemolinfa. Recientemente se ha sugerido una segunda ruta, basada en la detección de células infectadas en una zona mucho más anterior del intestino; concretamente, en la unión del intestino anterior con el intestino medio (cardias). Esta infección puede ser causada por sangre infectada localizada dentro de los divertículos ventrales, la cual, cuando es regurgitada en el cardias, provoca la infección. Se ha visto que esta ruta de infección provoca la llamada fiebre temprana del valle rift (Romoser, *et al.*, 1987; Weaver, *et al.*, 1991). En

otras ocasiones, saliéndose del patrón de infección típico, el virus puede fugarse directamente al hemocele sin aparente replicación en las células del intestino medio. Concretamente, se encontró que el virus de la encefalomiелitis equina venezolana penetra en el mesenterón y se acumula en el cuerpo graso abdominal del vector *Culex taeniopus*, antes de replicarse. Esto le permitía llegar rápidamente (unos 4 días) a ganglios nerviosos, cerebro y glándulas salivales. Este fenómeno puede encontrarse asociado con ruptura del intestino medio durante la alimentación sanguínea, lo que permitiría la rápida diseminación del virus (Weaver, 1986; Weaver, *et al.*, 1991).

Después de que los virus se liberan de las células del intestino medio, se diseminan a través del hemocele, aunque también se ha sugerido la transmisión de tejido en tejido a través de canales nerviosos. Los alfavirus se diseminan por lo general más rápidamente (el virus de la encefalomiелitis equina oriental se encuentra en 24 horas en el intestino medio y entre 48 y 72 horas en la saliva) que los flavivirus y bunyavirus, además de mostrar también una mejor y más rápida modulación del crecimiento. Todos los arbovirus comienzan infectando intensamente a las células grasas, empezando por el compartimento abdominal, pero transmitiéndose rápidamente al tórax y cabeza. Luego se da la infección del sistema nervioso, la cual es muy frecuente en los flavivirus y bunyavirus, y poco frecuente en los alfavirus. Esta infección neural puede ser selectiva (Fig. 8) (Leake, *et al.*, 1987b; Weaver, *et al.*, 1991).

Uno de los últimos tejidos que suele ser infectado es el de las glándulas salivales. Los virus muestran una marcada asociación con los lóbulos laterales, y no con los lóbulos mediales. Además de los tejidos mencionados, la replicación ocurre en otros órganos, como en el corazón y en las células pericardiacas. No hay reportes de infecciones en células musculares, excepto para los alfavirus (Gubler, *et al.*, 1976; Weaver, *et al.*, 1991).

Además de la transmisión oral, también se ha identificado la transmisión vertical de un mosquito hembra a su progenie. Se han encontrado diferencias en la infección del tejido ovárico, dependiendo del tipo de arbovirus:

Los alfavirus presentan pocos casos de transmisión vertical. Se les encuentra en los oviductos comunes laterales, pero no en la ovariola. Aunque se ha encontrado al virus en la superficie del huevo, el huevo rara vez se ve infectado (Rosen, 1988).

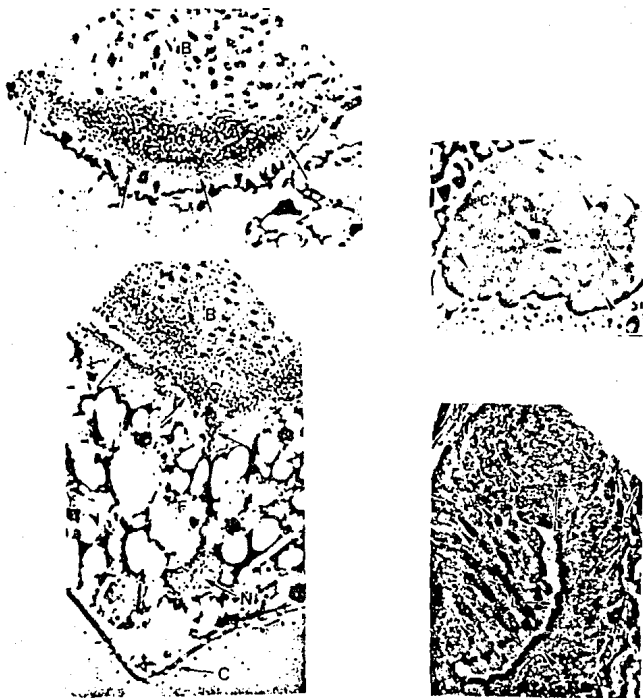


Fig. 8. Rutas de infección de arbovirus en mosquitos. Superior izquierda. Sección oblicua del abdomen del intestino medio. Se aprecia la concentración de los virus marcados, entre las células sanguíneas (B) y el epitelio inferior. Las flechas indican la penetración viral en el citoplasma apical. 400x. Inferior izquierda. Sección transversal del abdomen. Los virus se extienden afuera del alimento con sangre (B), en el hemocoele, en medio y adentro de los trofozoitos de las células grasas. Se aprecia una gran cantidad de virus dentro de un nervio (N). C = Cutícula. Superior derecha. Sección sagital del cardias del intestino medio anterior (C). Se aprecia el grupo de virus dentro del lumen (L), así como alguna señal intracelular (flechas). 400x. Inferior derecha. Sección sagital de un pliegue del final anterior del cardias del intestino medio, junto a las glándulas salivales (S). Se aprecian los virus a lo largo del lumen (L), así como algunas señales intracelulares (flechas). 1,000x. (Tomado de Weaver, *et al.*, 1991)

En un principio se creía que la transmisión vertical en los flavivirus era transovárica. Se demostró lo contrario por vez primera con el virus del dengue, el cual entra al huevo ya formado cuando es ovipositado. Se ha comprobado también que los virus de la encefalitis japonesa y de la encefalitis de San Luis infectan al huevo maduro intacto mientras es ovipositado. Esto no excluye la posibilidad de que también infecten al huevo en el ovario, pero esto no se ha demostrado. En base a esta similitud, es posible que el mecanismo de transmisión vertical sea el mismo para todos los flavivirus de mosquitos (cabe mencionar que, sin embargo, la dinámica de la infección es diferente. Específicamente, la replicación del virus de la encefalitis de San Luis es más rápida que la del virus del dengue, en *Ae. albopictus*). Es curioso notar que aunque la tasa de infección decrece con los sucesivos ciclos ováricos, se ha observado que en un mismo ciclo ovárico, los últimos huevecillos ovipositados son más susceptibles de ser infectados que los primeros huevecillos ovipositados. La explicación de esto, así como la del mecanismo de transmisión vertical, es pobre aún (Rosen, 1988).

Los bunyavirus presentan una gran frecuencia en transmisión vertical. Aunque el caso anterior de transmisión en flavivirus podría también aplicar a los bunyavirus, hay dos mecanismos establecidos de transmisión transovárica de bunyavirus: el primero, en el que los mosquitos infectados oralmente infectan directamente a los oocitos en desarrollo; y el segundo, en el que los mosquitos infectados transováricamente pueden tener su tejido germinal infectado y, por lo tanto, una alta proporción de la progenie es también infectada transováricamente, con sucesivas infecciones tisulares germinales. Esta infección "estable o continua" asegura un alto índice de transmisión vertical a través de generaciones, independientemente de la amplificación por la transmisión oral. Ha sido demostrada experimentalmente mediante combinaciones de varios virus-vectores (Leake, 1984; Turell, 1988).

Estas diferencias en los sitios de infección dependiendo del tipo de arbovirus podrían estar controladas por la cantidad y el tiempo de la infección misma, controlada a su vez por la serie de membranas que componen al ovario. Los individuos infectados transováricamente muestran un número de diferencias en comparación con los infectados oralmente. Los primeros usualmente contienen menos virus infecciosos que los segundos, y tienen antígenos asociados con varios tejidos durante sus estadios inmaduro y adulto, implicando una modulación de la infección por parte del mosquito.

Aunque se han reportado transmisiones venéreas de varios arbovirus, aún se conoce poco de este aspecto (Hardy, 1988; Turell, 1988).

Después del descubrimiento de la fiebre amarilla, se creía que *Aedes aegypti* era el único mosquito transmisor, y que el ciclo era únicamente entre el mosquito y el hombre. Luego se descubrió que el mono es otro hospedero importante en el ciclo biológico. Entre las especies de monos participantes en este ciclo, encontramos a *Cebus* (mono capuchino), *Ateles* (mono araña) y *Alouatta* (mono aullador). Sin embargo, es bastante grande el número de especies de monos que pueden ser susceptibles a este virus. De igual manera, se ha visto que el virus no sólo infecta a *Ae. aegypti*, sino también a *Haemagogus capricorni*, *H. mesodentatus*, *H. equinus*, *Ae. leucocelaneus*, *Sabethes chloropterus*, entre otros (Faust, 1978; Manson-Bahr, et al., 1982).

***III.- INTERACCION VECTOR - PARASITO
DURANTE LA ALIMENTACION SANGUINEA.
FUNCION DE LA SALIVA***

III.1. EL APARATO BUCAL DE LOS INSECTOS

III.1.1. Mosquitos:

Las partes bucales en el mosquito hembra constan de una probóscide adaptada para perforar y chupar. El labio (vainas de la probóscide) contiene a las partes bucales, excepto a los palpos maxilares, y termina en dos labelas cubiertas con pelos y escamas. Durante la alimentación, las labelas se separan a lo largo de la superficie de la piel, formando una envoltura para las partes perforadoras (muy delicadas), y así no entran en la herida. Adentro se encuentra el labro epifaringeo, con un canal ventral en forma de V. Este se extiende a todo lo largo del labio y termina en una punta afilada. Abajo del labro se encuentra la hipofaringe, la cual junto con el labro forma un tubo por el cual se succiona la sangre del hospedero. A lo largo de la hipofaringe, por un canal muy delgado, quitinoso, la secreción de saliva es depositada en la herida. Al lado de la hipofaringe, se encuentran las mandíbulas, estiletes muy delicados, compuestos de quitina, los cuales emergen cuando el labio se dobla al momento de picar. Las maxilas presentan estiletes más robustos, de la misma forma que las mandíbulas, pero también con dientes apuntando hacia atrás. Los palpos maxilares de la hembra son largos en la subfamilia Anophelinae y cortos en la subfamilia Culicinae (Fig. 9) (Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

A diferencia de la hembra, las partes bucales del mosquito macho no están adaptadas para picar. Los palpos maxilares son casi tan largos como la probóscide, pero las mandíbulas y las maxilas son mucho más pequeñas y pueden estar ausentes; el labio puede tener su extremidad roma, y la hipofaringe estar fusionada con el labio.

III.1.2. Moscas:

Los órganos bucales de las moscas están adaptados para chupar, y constan de tres partes: rostro (o pico), hostelo y labelas. En el rostro están el tubo faríngeo y el par de palpos maxilares. El hostelo, unido al rostro, consta de la labroepifaringe, la hipofaringe y el labio. Carecen de maxilas y de mandíbulas. La labroepifaringe y la hipofaringe forman el canal alimentario. El conducto salival baja por la hipofaringe. El labio termina en un par de lóbulos ovales, las labelas, las cuales descargan el alimento en el orificio bucal del conducto alimentario (Faust, 1978).

III.1.3. Chinchas:

Los órganos bucales de las chinchas salen de la parte anterior de la cabeza y son: un labro articulado, un labio acanalado con tres segmentos, un par de maxilas acanaladas que juntas forman el tubo chupador, un par de mandíbulas en forma de lancetas, armadas de pequeños dientes en su extremidad distal, y una hipofaringe corta de forma cónica (Fig. 9).

III.2. LA ALIMENTACION DE LOS INSECTOS VECTORES

La alimentación de los insectos vectores con sangre de sus hospederos, juega un papel de fundamental importancia para la transmisión de los parásitos, ya que es durante este proceso cuando ocurre la infección del nuevo hospedero.

Los mosquitos adultos se alimentan de azúcares, especialmente en la forma de néctar y miel. La alimentación con azúcar sirve como fuente de energía para el vuelo y el metabolismo en general, además de contribuir ligeramente a la fertilidad de las hembras. Durante la alimentación con azúcar, la saliva se mezcla con el alimento y se inicia la digestión. La mezcla saliva-azúcar es llevada al buche, donde probablemente la digestión continúa, aunque el buche es de por sí inerte. A diferencia de la alimentación con azúcar, la alimentación con sangre proporciona las proteínas para el desarrollo de los huevos y sólo las hembras tienen este tipo de alimentación (James, *et al.*, 1991a).

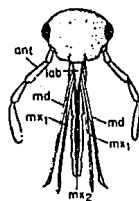
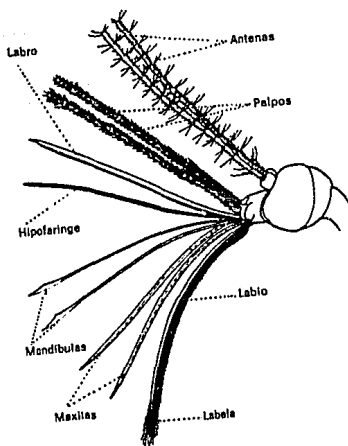


Fig. 9. Partes bucales de insectos. Superior: mosquito hembra (*Anopheles quadrimaculatus*). Partes bucales fuera de su vaina. Obsérvese que las mandíbulas tienen en las puntas sierras finas, a manera de navajas, para cortar, y que las maxilas tienen puntas agudas quitinosas con dientes menos y más gruesos que los de las mandíbulas. Inferior: chinchies. ant, antenas; lab, labium; mx₂, labroepifaringe; md, mandíbulas; mx₁, maxilas. (Tomado de Faust, 1978; Storer, *et al.*, 1982).

III.2.1. Una alimentación exitosa:

Una alimentación exitosa es difícil de conseguir entre los insectos chupadores de sangre, y por lo general constituye un gran reto. La gran dispersión del tejido vascular, las propiedades antigénicas bien conocidas de la saliva y la hemostasia del hospedero, todos ellos combinados, convierten a la alimentación sanguínea del vector en un proceso difícil. Cuando se corta un vaso sanguíneo pequeño, o se lesiona su capa endotelial, las plaquetas se acumulan a nivel de la zona dañada y liberan serotonina, que aumenta la agregación de las plaquetas y provoca vasoconstricción local: ambos mecanismos contribuyen a la hemostasia, o interrupción de la hemorragia (Bowman, *et al.*, 1985).

Los mosquitos se alimentan de la sangre de arteriolas y vénulas (a diferencia de las moscas de la arena, las cuales se alimentan de capilares), y por lo general tienen que cambiar varias veces de sitio y hasta de hospedero, antes de localizar un vaso sanguíneo (James, *et al.*, 1991a). Una vez localizado el sitio, la alimentación comienza en el vaso dañado o en el hematoma (paso de sangre a los tejidos) más cercano. Es entonces cuando los mecanismos de hemostasia comienzan a actuar, principalmente mediante agregación de plaquetas, tratando de inhibir el sangrado.

Otros problemas adicionales se presentan durante la alimentación. Muchos componentes del sistema inmune del vertebrado, como el complemento, se encuentran en la sangre. Si el hospedero ya ha sido picado anteriormente por otro mosquito (lo cual es sumamente frecuente), puede tener anticuerpos dirigidos contra los antígenos de la saliva. Se especula que el complemento y algún otro componente del sistema inmune pueden dañar al intestino medio del mosquito (James, *et al.*, 1991a). Además de estos factores, los antígenos de la saliva provocan la liberación de histamina, con la consecuente respuesta física del hospedero (Gillet, 1967; Ribeiro, *et al.*, 1985b).

III.2.2. La alimentación interrumpida:

La interrupción en la alimentación de los insectos vectores puede tener consecuencias importantes en la transmisión de los parásitos a la sangre del hospedero. Datos cuantitativos del éxito en la alimentación del insecto vector demuestran que el riesgo de interrupción durante la alimentación varía no solo dependiendo del hospedero, sino también del sitio de picado en el hospedero; la frecuencia de las interrupciones también varía a diferentes tiempos y entre diferentes especies de artrópodos (Davies, 1990).

Altos índices de interrupción durante la alimentación disminuyen el éxito de la alimentación y, por lo tanto, incrementan el número de comidas necesarias por cada ciclo productor de huevecillos. Al incrementarse la frecuencia de intentos de alimentación se incrementa claramente el potencial para la transmisión de los patógenos localizados en las partes bucales del vector. También incrementa la efectividad del vector como un transmisor biológico (capacidad vectorial), incrementando las oportunidades de adquirir y transmitir parásitos. Sin embargo, esto pasa con patógenos que no dependen del tamaño del inóculo (ej. arbovirus). Para los parásitos de la malaria, que dependen del tamaño del inóculo para ser transmitidos, las alimentaciones interrumpidas retrasan o impiden su ciclo biológico. En el caso de las chinches y *Trypanosoma cruzi*, la alimentación interrumpida puede demorar la defecación y por lo tanto reducir la posibilidad de transmisión del parásito (Kirk, et al., 1987; Davies, 1990).

Otra consecuencia de altos índices de alimentación interrumpida es el incremento potencial de los vectores para absorber parásitos con diferentes genotipos, lo que favorece la recombinación de estos parásitos, que se reproducen sexualmente dentro de sus vectores. Este fenómeno se ha reportado en *Trypanosoma brucei* y *Plasmodium falciparum* (Jenni, et al., 1986; Walliker, et al., 1987).

El parásito puede modificar la conducta alimenticia del vector, ya que la posición del parásito dentro de las partes bucales del insecto cambia dependiendo de si es una sola comida o varias. Así, los proventrículos de las moscas se pueden ver bloqueados por los parásitos, impidiendo la posterior alimentación de estas. Hay varios reportes de faringes bloqueadas de *Phlebotomus papatasi* con *Leishmania major*; conductas extrañas de alimentación en *Glossina morsitans* debido a la ubicación de *Trypanosoma brucei* o *T. congolense*; *Aedes aegypti* infectado con *Plasmodium gallinaceum* y otros (Killick-Kendrick, et al., 1990). Las infecciones microbianas también juegan un papel importante en la capacidad vectorial, como se ha observado en los flebótomos (Davies, 1990).

III.3. ESTRUCTURA DE LAS GLANDULAS SALIVALES

Los artrópodos vectores de enfermedades y chupadores de sangre inyectan saliva en la zona de picado mientras se alimentan de la sangre del hospedero vertebrado. Los productos de las

glándulas salivales de los artrópodos hematófagos facilitan la alimentación y, al mismo tiempo, juegan un papel importante en la transmisión de los parásitos al hospedero.

Las glándulas salivales de todos los mosquitos son órganos pareados ubicados en el primer segmento torácico; cada glándula consiste de tres lóbulos. Los conductos procedentes de los lóbulos se unen para formar, a cada lado, un conducto común. Los lóbulos consisten de una capa individual de epitelio, predominando las células secretoras alrededor del ducto salival. Los dos conductos laterales se juntan en uno solo al pasar a través de una pequeña bomba salival y de aquí al lado ventral de la cabeza, penetrando en la faringe. Las glándulas salivales de *Anopheles* son casi idénticas a las de *Aedes*, aunque existen algunas diferencias morfológicas. Los ductos salivales contienen quitina a todo lo largo de las glándulas en *Aedes* y en *Culex*, aunque en *Anopheles* sólo hay quitina en la región proximal de sus glándulas. La importancia de la quitina como una barrera a la transmisión de parásitos, especialmente el mecanismo por el cual los esporozoitos de *Plasmodium* penetran en los culicidos, permanece inexplorada (James, *et al.*, 1991a).

Las glándulas salivales de las hembras tienen dos lóbulos laterales idénticos y un lóbulo central más pequeño. Los lóbulos laterales pueden dividirse en dos regiones: proximal y distal. (Fig. 10 y 11). Los lóbulos laterales proximales producen enzimas implicadas en la alimentación con azúcar, las cuales son muy parecidas a las secretadas por las glándulas del mosquito macho; los lóbulos lateral distal y el medial parecen ser específicos de la hembra. De hecho, la hembra adulta parece tener control en la secreción de productos salivales, dependiendo de si se está alimentando con azúcar o con sangre (Marinotti, *et al.*, 1990a; James, *et al.*, 1991a).

Los lóbulos laterales medial y distal de la hembra son los sitios de unión de la lectina RCA 120, producen la enzima apirasa y son el sitio de expresión del gen D7, el cual codifica a la proteína de mayor abundancia en las glándulas salivales femeninas, llamada Polipéptido 7 (James, *et al.*, 1991b). Además, estos lóbulos son los más frecuentemente invadidos por los esporozoitos. El lóbulo medial puede distinguirse histoquímicamente de los lóbulos distales, y difiere en la atracción de algunas lectinas. Por otra parte, los análisis electroforéticos detectan diferencias regionales en la producción de proteínas (James, *et al.*, 1991b).

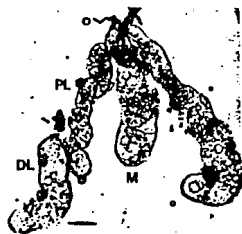


Fig. 10. A: Un par de glándulas salivales femeninas. Cada glándula se compone de dos lóbulos laterales y un lóbulo medial o central (M). Los lóbulos laterales se encuentran divididos en dos regiones proximal (PL) y distal (DL) con respecto al ducto salival común. La escala es de 0.5 mm.
(Tomado de James, *et al.*, 1989).

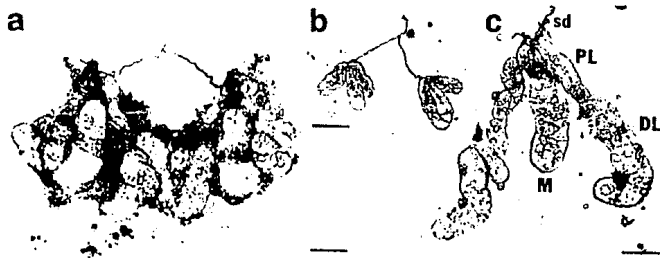


Fig. 11. Visión microscópica de glándulas salivales de *Aedes aegypti* adulto. Se observa tejido graso rodeando a los lóbulos del par de glándulas salivales femeninas (a). También se muestra un par de glándulas salivales masculinas (b) y una sola glándula femenina (c). Lóbulo medial o central (M); Lóbulo distal lateral (DL); Lóbulo proximal lateral (PL); Ducto salival (sd). Escalas: 0.3 mm (a), 0.1 mm (b), 0.6 mm (c). (Tomado de James, *et al.*, 1991a).

III.4. FUNCIONES DE LAS GLANDULAS SALIVALES Y DE LOS COMPONENTES DE LA SALIVA

III.4.1. Función general de los componentes de la saliva:

En los primeros estudios realizados usando animales como modelos experimentales, las infecciones con parásitos eran iniciadas inyectando estos directamente en los animales. Sin embargo, ahora es evidente que los artrópodos no son simples "jeringas voladoras" y que la administración de patógenos a animales en esta forma no imita la forma de transmisión natural (Titus, *et al.*, 1990).

Cuando los artrópodos vectores pican o muerden al hospedero vertebrado, prueban la sangre como alimento. En este proceso, el artrópodo inyecta saliva en la piel. Se ha encontrado que esta saliva contiene un gran número de sustancias cuyos efectos farmacológicos incluyen a los anti-hemostáticos, vasodilatadores o antiinflamatorios/inmunosupresivos. Estas sustancias ayudan a mantener el flujo sanguíneo sin inducir una respuesta inflamatoria del hospedero, además de evitar la coagulación. En este proceso, el artrópodo libera al patógeno que transmite en el sitio de la picadura, de manera que este último resulta beneficiado.

Este fenómeno se aplica a los patógenos que son transmitidos por las partes bucales, ya sea por salivación o por regurgitación, y quizá a los patógenos que son transmitidos por las hoces del vector (*Trypanosoma cruzi*, transmitido por triatómidos), ya que estos también sueltan saliva en el tejido inyectado (Titus, *et al.*, 1990).

Entre las actividades farmacológicas de las moléculas secretadas por las glándulas salivales de los artrópodos vectores, hay actividad anticoagulante y antiplaquetaria en los flebotomos (moscas de la arena), mosquitos, moscas tsé tsé, insectos triatómidos y garrapatas (aunque las garrapatas no forman parte de nuestra investigación, es importante mencionar el trabajo realizado con ellas). La actividad antiplaquetaria puede ser atribuida, en parte, a la apirasa, una enzima de las glándulas salivales que degrada el ATP a AMP y ortofosfato, destruyendo así un importante mediador fisiológico de la agregación plaquetaria. Normalmente, las plaquetas tienen una carga superficial negativa, por lo que se separan por repulsión mutua. El ADP provoca la agregación plaquetaria y se piensa que actúa combinándose con un componente específico de la membrana de la plaqueta, llamado factor de Von Willebrand, formando luego un complejo con Ca^{+2} , el cual neutraliza la carga superficial; la agregación de las plaquetas provocada por ADP es reversible (Bowman, *et al.*, 1985).

En varias especies de mosquitos se han encontrado diferentes cantidades de apirasa, lo que podría significar una respuesta evolutiva de protección contra la hemostasia de los hospederos (Ribeiro, 1985a). Además de la apirasa, se han descrito otras moléculas con actividad antiplaquetaria en otros artrópodos, como el antitromboxano, el cual inhibe al tromboxano A_2 , un inductor muy potente de agregación plaquetaria en *R. prolixus* (Ribeiro, *et al.*, 1982), la prostaglandina E_2 (PGE_2), la cual, aunque participa en reacciones de tipo inflamatorio, inhibe la liberación de histamina, la cual intensifica la respuesta hemostática, y posiblemente prostaciclina, un poderoso vasodilatador y un inhibidor de la agregación de plaquetas en la garrapata *Ixodes dammini* (Bowman, *et al.*, 1985; Ribeiro, 1985a). La PGE_2 y la prostaciclina, además de su actividad antiplaquetaria, promueven la vasodilatación en la zona de picado, un proceso que puede proveer de más sangre para el vector en el sitio de alimentación.

Actualmente se investiga un nitrovasodilatador de *Rhodnius*, y un potente péptido vasodilatador ha sido descrito en la saliva de *Lutzomya*. También se ha observado que personas no sensibilizadas pueden desarrollar eritema (inflamación de la dermis debido a la proliferación de vasos sanguíneos) aún sin rascarse, después de haber sido mordidos por algunas moscas del género *Culicoides* (jejenes), lo que sugiere que estos artrópodos pueden secretar en su saliva un vasodilatador mientras se alimentan (Titus, *et al.*, 1990).

III.4.2. Productos salivales específicos de los mosquitos:

Entre los productos salivales descritos específicamente en mosquitos (Cuadro VI), están la α -glucosidasa, α -amilasa, un factor bacteriolítico y una esterasa no específica, los cuales se encuentran presentes en cantidades similares en los mosquitos de ambos sexos, en contraste con la apirasa, la cual es 20 veces más activa en las hembras; su significado en los machos aún no ha sido descrita (James, *et al.*, 1991a).

La presencia de la α -glucosidasa, apirasa y del factor bacteriolítico fue detectada bioquímicamente. La actividad de la α -amilasa se dedujo en base a la presencia de transcritos en el RNA de los machos. La α -glucosidasa y la α -amilasa se encuentran involucradas en el metabolismo de la alimentación con azúcar. Así mismo, el factor bacteriolítico, parecido a una lisozima, parece estar fuertemente relacionado con la alimentación con azúcar, ya que esta alimentación no empieza hasta que este factor se encuentra en concentraciones altas (James, *et al.*, 1991a).

Producto	Especie de Mosquito	Referencia
Aglutinina	Varias	James, <i>et al.</i> , 1991a.
α -amilasa	<i>Aedes aegypti</i>	Grossman, no publicado.
Anticoagulante	Varias	Ribeiro, <i>et al.</i> , 1985c.
Factor de necrosis anti-tumor	<i>Ae. aegypti</i>	Bissonnette, no publicado.
Apirasa	<i>Ae. aegypti</i> , <i>Anopheles spp.</i>	Ribeiro, <i>et al.</i> , 1984.
Factor bacteriolítico	<i>Ae. aegypti</i>	Rosignol, <i>et al.</i> , 1986.
D7 (proteina especifica de hembras)	<i>Ae. aegypti</i>	James, <i>et al.</i> , 1991b.
Esterasa	<i>An. stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i>	Pochling, <i>et al.</i> , 1980.
α -glucosidasa	<i>Ae. aegypti</i>	Marinotti, <i>et al.</i> , 1990b.
Histamina	<i>C. pipiens</i>	James, <i>et al.</i> , 1991a.
Vasodilatador	<i>Ae. triseriatus</i>	James, <i>et al.</i> , 1991a.

Cuadro VI. Productos secretados por las glándulas salivales de mosquitos. (Tomado de James, *et al.*, 1991a)

La actividad vasodilatadora ha sido identificada debido a su monitoreo en el sitio de picado, y combate a una de las respuestas principales de la homeostasis del hospedero, la vasoconstricción. El anticoagulante fue uno de los primeros componentes identificados, pero, aunque es antihemostático, la respuesta retardada de la coagulación y la falta de relación entre la ubicación de la sangre y los niveles de anticoagulante, sugieren que su función está más enfocada a la digestión; no obstante, se requiere de mayor investigación. La función de la aglutinina se desconoce, aunque parece ser específica del vector - hospedero; se cree que podría ser una lectina antibacteriana. La presencia de la histamina es desconcertante, ya que normalmente su función es intensificar la respuesta hemostática; de hecho, muchos artrópodos secretan factores antihistamínicos en su saliva. El factor de necrosis anti-tumor se descubrió recientemente, y se cree que podría jugar un papel anti-inmune.

Los análisis electroforéticos de la saliva del mosquito han detectado de 12 a 15 bandas correspondientes a productos salivales, y no se descarta la presencia de otros productos que no hayan podido ser identificados en geles de poliacrilamida - SDS (James, *et al.*, 1991a).

III.4.3. Productos salivales específicos de triatómidos y garrapatas:

Además del antitromboxano, la PGE₂, la prostaciclina y el nitrovasodilatador ya mencionados, las glándulas salivales de *Rhodnius* y de la garrapata *Ixodes* secretan otros agentes en su saliva, con actividades antiinflamatorias, como la antihistamina, antiserotonina, quininasa; la anafilatoxina con actividad inhibitoria, y anticplemento. Estas sustancias previenen la formación del edema (el edema es la inflamación causada por la vasodilatación local, la cual incrementa el flujo de líquido del plasma a los tejidos), el cual podría interrumpir la alimentación del vector debido a que bloquea el flujo sanguíneo, atrapando a la garrapata en un exudado sudoroso en lugar de sangre.

Parece ser que en la saliva de la garrapata existe una actividad inmunosupresiva, que se observa en los linfocitos de los animales infestados con garrapatas, los cuales muestran una gran reducción de la respuesta mitogénica *in vitro* (Sell, 1981; James, *et al.*, 1991a). Además, la saliva de la garrapata *I. dammini* inhibe la activación de las células T *in vitro*, un fenómeno que no puede ser logrado por la PGE₂ presente en la saliva. Así, puede ser que el efecto inmunosupresivo de la saliva de la garrapata incremente el éxito de alimentación de este artrópodo y por lo mismo, la eficiencia en la transmisión de los patógenos. Este fenómeno, sin embargo, podría no ser aplicado a todos los hospederos de la garrapata. Se ha demostrado que los suyos ó cobayos infestados con *Dermocenter variabilis* o con *I. scapularis* bajo un repetido contacto con las garrapatas

desarrollan una respuesta inmune efectiva a estas últimas. Sin embargo, estas respuestas no ocurren cuando en lugar del cuyo (hospedero no típico) se usan ratones de pies blancos, hospederos naturales de las garrapatas (Titus, *et al.*, 1990).

III.4.4. Productos salivales específicos de los simúlidos:

Los lisados de las glándulas salivales del simúlido *Lutzomyia longipalpis* inhiben varias funciones de los macrófagos. La resistencia a la leishmaniasis, tanto en el hombre como en los animales, se da mediante mecanismos inmunes celulares, no humorales. El sistema mejor caracterizado es el del ratón, infectado con *L. major*, en el que se ha encontrado un papel central de los linfocitos T en la respuesta inmune a este parásito. Estas células T específicas contra *L. major* protegen al paciente de la infección y también del progreso de la enfermedad. Las células T activadas son de la subpoblación Th1, las cuales reaccionan produciendo principalmente IFN- γ , linfotóxina e interleucina 2 (IL-2), junto con otras citocinas como la IL-3, factor estimulante de las colonias macrófago-granulocito (GM-CSF), y el factor de necrosis tumoral (TNF). El interferon - gamma, IFN- γ , induce al macrófago a producir metabolitos tóxicos para el parásito (como el peróxido de hidrógeno), permitiendo al macrófago librarse del parásito (Titus, *et al.*, 1990). Se ha visto que macrófagos preincubados durante 3 horas con los lisados de las glándulas salivales de *Lu. longipalpis*, son incapaces de producir peróxido de hidrógeno en respuesta a la activación con gama-interferón (IFN- γ) y no son capaces de presentar antígenos. (Titus, *et al.*, 1990).

Para comprobar la influencia de los componentes farmacológicos de la saliva en la infectividad del parásito en el hospedero vertebrado, se realizaron experimentos en donde mezclas de lisados de *Lu. longipalpis* y el parásito *L. major* fueron inyectados en ratones. Los resultados se pueden resumir de la siguiente forma:

- 1) La inyección del parásito en presencia del lisado de glándula salival, resultó en lesiones substancialmente más grandes comparadas con los controles, además de contener un incremento de hasta 5000 parásitos, en comparación con los mismos controles.
- 2) Cuando se inyectó una cantidad pequeña de *L. major* (10 organismos), la presencia o ausencia del material salival determinó la presencia o ausencia de los parásitos en la lesión.

Cuando se intentó el mismo experimento con extractos de glándulas salivales de otros tres artrópodos chupadores de sangre no se obtuvo el mismo efecto en el sistema, sugiriendo la presencia de uno o varios componentes en la saliva de *Lu. longipalpis* que capacitan

específicamente a este parásito. También se observó que cuando diez parásitos en forma metacíclica de *L. major* se inyectaron en el ratón en ausencia de estos componentes, la infección no ocurría (un simúlido usualmente inyecta aproximadamente 10 parásitos cada vez) (Titus, *et al.*, 1990).

Se ha comprobado la existencia de un componente único de la saliva de *Lu. longipalpis*, al que se le designó como LEF (Factor Acelerador de *Leishmania*) (Titus, *et al.*, 1990). Recientemente se han realizado esfuerzos para determinar la naturaleza de LEF. Parece ser que LEF es la misma molécula que el Factor Inductor del Eritema (EIF) en las glándulas salivales de *Lu. longipalpis*. LEF/EIF, a su vez, pueden estar relacionadas con el neuro péptido Relacionado con el Gen de la Calcitonina (CGRP ó PRGC). EIF ha sido extensamente caracterizado y es un péptido de aproximadamente 3900 Da que induce un eritema de larga duración en la piel humana y en la de conejo. La zona del eritema es rodeada por un halo de palidez y no está relacionado con el rascarse o con un edema, ni es inhibido por la indometacina (agente químico que inhibe la acción de las prostaglandinas y, por lo tanto, la inflamación). El único inductor conocido de eritema con propiedades iguales a EIF, es CGRP. En otros estudios se demostró por cromatografía y métodos inmunológicos y farmacológicos que EIF es un péptido similar a la familia de genes de la calcitonina, pero más potente que CGRP (Ribeiro, *et al.*, 1989; Titus, *et al.*, 1990).

El LEF actúa directamente sobre los macrófagos modificando la habilidad de estos para presentar al antígeno a las células T, y para su posterior activación con IFN- γ . Se ha observado que tanto LEF como CGRP inhiben la habilidad de los macrófagos para presentar los antígenos de *Leishmania* u otros antígenos modelo, como la ovoalbumina.

Para conocer el efecto de LEF en la activación del macrófago mediante la señal de IFN- γ , se midió la capacidad del macrófago para producir peróxido de hidrógeno en presencia de IFN- γ . Se observó que tanto LEF como CGRP inhibieron completamente la producción de peróxido de hidrógeno de los macrófagos humanos. Además, también inhibieron la capacidad de IFN- γ para activar a los macrófagos que eliminan directamente a *Leishmania major*. Esta actividad dura hasta 4 días después de la infección, lo cual es importante, ya que los linfocitos aparecen 2 a 3 días después de la infección. Ya dentro de los macrófagos infectados, el promastigote puede transformarse en amastigote, los cuales infectaran a nuevos macrófagos. En este punto, la saliva ya no es necesaria para el progreso de la infección, ya que el amastigote es mucho menos susceptible que el promastigote a la lisis mediada por complemento y a la acción de los macrófagos (de hecho, mientras que la gran mayoría de promastigotes inyectados en ratón son destruidos, prácticamente todos los amastigotes sobreviven a la acción inmune) (Titus, *et al.*, 1990).

III.5. CONTROL DE LA SALIVACION. EXPRESION GENETICA.

Monitoreando la actividad de la maltasa, una enzima implicada en la alimentación con azúcar, y de la apirasa, se ha observado que el mosquito hembra puede regular la actividad secretoria de las glándulas salivales, dependiendo del tipo de comida (Marinotti, *et al.*, 1990a). Cuando la alimentación es con azúcar, hay una pérdida considerable de la actividad de la maltasa en las glándulas salivales, mientras que tanto la maltasa como la apirasa disminuyen sus actividades después de una alimentación con sangre. Los productos salivales pueden ser liberados de los lóbulos laterales proximales en respuesta a una alimentación con azúcar, sin liberar ningún producto de los lóbulos laterales medial y distal. La base del control de la hembra sobre la salivación no se ha discernido. Se ha propuesto que este podría darse mediante estimulación nerviosa de las regiones proximales y estimulación hormonal de las regiones distales (James, *et al.*, 1991a).

El análisis de la expresión genética en las glándulas salivales ha confirmado la relación funcional y estructural entre los lóbulos y el tipo de alimentación de los mosquitos. Las glándulas salivales presentan una actividad de α -glucosidasa, y la secuencia de aminoácidos de esta enzima coincide con los productos de un gen parecido a la maltasa I (Mal I) (James, *et al.*, 1989; Marinotti, *et al.*, 1990b). También se encuentra presente un gen parecido al gen α -amilasa de *Drosophila melanogaster* (James, *et al.*, 1991a). Los análisis (mediante la técnica Northern) de los RNAs mensajeros transcritos de los genes α -glucosidasa y α -amilasa indican que estos genes tienen un desarrollo similar y un mismo patrón de expresión, el cual es específico del sexo. Los genes que codifican ambas enzimas se expresan durante la edad adulta de ambos sexos. Sin embargo, la expresión en las hembras se encuentra restringida a los lóbulos proximales laterales (los lóbulos parecidos a los lóbulos de los machos) (James, *et al.*, 1991a).

Se cree que los genes cuya expresión es específica de las glándulas salivales femeninas, participan en la alimentación con sangre. Este es el caso del producto del gen D7, con función desconocida, el cual codifica para la proteína más abundante de las glándulas salivales femeninas, llamada Polipéptido 7. Esta proteína es secretada y no tiene semejanza con alguna proteína antes descrita (no es apirasa tampoco, puesto que es una proteína más pequeña y no tiene ninguna de las características de adhesión de nucleótidos). D7 es expresada en los lóbulos lateral distal y medial de las glándulas femeninas. Actualmente se investiga si tiene alguna interacción con la sangre del vertebrado (James, *et al.*, 1991b).

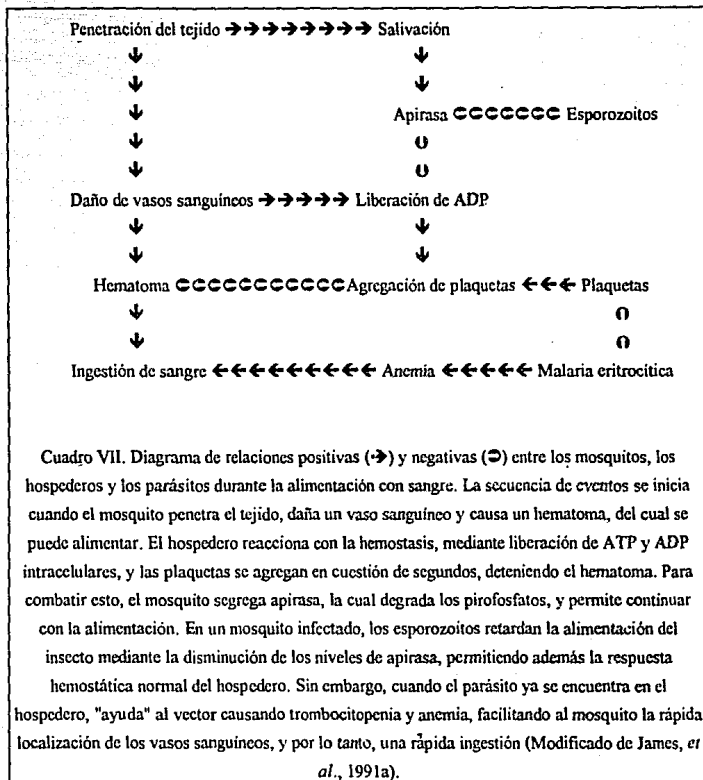
III.6. MODIFICACIONES PROVOCADAS POR LOS PARASITOS EN LA ALIMENTACION

La evolución de los patógenos transmitidos por los mosquitos está relacionada con los efectos hemostáticos y anti-inmunes de la saliva. Así, los esporozoitos de la malaria invaden sólo las regiones de las glándulas salivales que contienen apirasa, disminuyendo la cantidad de la enzima en la saliva. De esta forma, los mosquitos infectados tienen que inyectar saliva durante mayor tiempo en el hospedero, y también quizás probar en varios hospederos (Rossignol, *et al.*, 1984). Por su parte, *Leishmania* modifica directamente la conducta de alimentación de su vector, bloqueando el canal de alimentación y beneficiándose indirectamente de la saliva, ya que esta le indica el sitio de infección (Titus, *et al.*, 1988, 1990).

Contrariamente, cuando el parásito ya se encuentra en el torrente sanguíneo del vertebrado hospedero, la pérdida de plaquetas provocada por la infección (trombocitopenia) facilita al insecto la localización de los vasos sanguíneos. Esto sugiere un beneficio del insecto al alimentarse de un hospedero infectado, y sugiere un posible mutualismo entre el vector y el parásito (Daniel, *et al.*, 1983; Rossignol, *et al.*, 1985) (Cuadro VII).

Otros ejemplos de modificaciones provocadas por los parásitos en la alimentación del vector (no en la salivación) han sido sugeridas, como la anemia producida por la malaria (Daniel, *et al.*, 1983), o los cambios de temperatura en la piel, mediante vasodilatación, que permiten a los mosquitos intensificar su tasa alimentaria, al mismo tiempo que impiden la alimentación de otros vectores artrópodos (Jenni, *et al.*, 1980).

El beneficio del insecto al alimentarse del hospedero infectado podría conducir a una tendencia a nivel poblacional a alimentarse con mayor frecuencia de los hospederos infectados. Esta tendencia, a lo largo del tiempo, podría llegar a transformarse en un patrón de equilibrio (Dye, 1990).



Cuadro VII. Diagrama de relaciones positivas (→) y negativas (⊖) entre los mosquitos, los hospederos y los parásitos durante la alimentación con sangre. La secuencia de eventos se inicia cuando el mosquito penetra el tejido, daña un vaso sanguíneo y causa un hematoma, del cual se puede alimentar. El hospedero reacciona con la hemostasis, mediante liberación de ATP y ADP intracelulares, y las plaquetas se agregan en cuestión de segundos, deteniendo el hematoma. Para combatir esto, el mosquito segrega apirasa, la cual degrada los pirofosfatos, y permite continuar con la alimentación. En un mosquito infectado, los esporozoitos retardan la alimentación del insecto mediante la disminución de los niveles de apirasa, permitiendo además la respuesta hemostática normal del hospedero. Sin embargo, cuando el parásito ya se encuentra en el hospedero, "ayuda" al vector causando trombocitopenia y anemia, facilitando al mosquito la rápida localización de los vasos sanguíneos, y por lo tanto, una rápida ingestión (Modificado de James, *et al.*, 1991a).

***IV.- MEMBRANAS PERITROFICAS Y MOLECULAS
DE SUPERFICIE EN LOS INSECTOS VECTORES;
INTERACCION CON LOS PARASITOS Y SUS
TROPISMOS***

IV.1. APARATO DIGESTIVO DE LOS INSECTOS

IV.1.1. Mosquitos:

La cavidad bucal de los mosquitos está situada precisamente en la base de la probóscide y se abre hacia adentro, mediante una válvula, en el bulbo muscular faríngeo, el cual, a su vez, se continúa con un esófago corto que tiene un par de reservorios alimenticios en la parte dorsal, un reservorio ventral impar y su válvula muscular en el extremo posterior. En *Aedes* los divertículos esofágicos reciben el exceso de sangre del estómago sobrecargado (sangre no regurgitada), en tanto que en *Anopheles* los divertículos se llenan únicamente con sangre regurgitada. El intestino medio, no quitinizado, consta de una sola capa de células epiteliales; comienza en la mitad del tórax, atraviesa la mayor parte del abdomen y termina en el intestino posterior, formado por el ileon - colon tubular y el recto ampollar; este último se abre al exterior en el ano, situado por debajo de la porción terminal (Fig. 12).

IV.1.2. Moscas:

En la mayor parte de las moscas el tubo faríngeo es sumamente dilatable; la principal o la única bomba de aspiración es la faríngeo muscular. Con raras excepciones, el esófago, que entra inmediatamente en el tórax, se divide en dos ramas, una de las cuales va al gran buche o reserva de alimentos, comúnmente situado en la parte ventral de la porción anterior del abdomen, y la otra conduce hacia el llamado proventrículo (o cardias), el cual se vacía en el intestino medio. Los tubos de malpighi, generalmente en número de cuatro, se vacían en el ileo del intestino posterior. El colon, que forma parte del intestino posterior, se continúa hacia atrás con el recto, el cual está provisto de dos, cuatro o seis papilas. En el extremo anterior del tubo digestivo hay un par de glándulas salivales, cuyos conductos se unen para formar un solo conducto medio que pasa por la hipofaringe (Faust, 1978; Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

IV.1.3. Chinchas:

El aparato digestivo de las chinchas consta de una pequeña faríngeo muscular, un esófago relativamente corto, también muscular, y el intestino. El intestino se divide en tres partes: el buche, para almacenar la sangre (porción anterior en forma de saco), el intestino medio absorbente (porción posterior larga y tubular), y el recto.

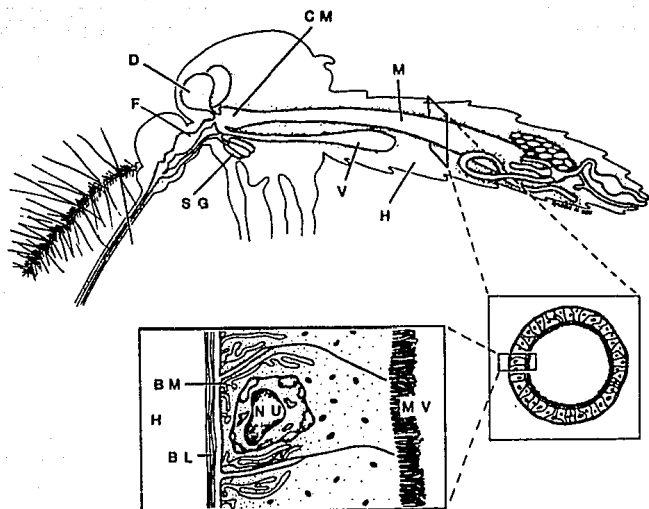


Fig. 12. Anatomía interna del mosquito, mostrando la localización del intestino anterior (F), el intestino medio (M), cardias del intestino medio (CM), hemocele (H), glándulas salivales (SG), ventrículos dorsales (D) y ventrales (V). Se observa también la estructura fina del epitelio del intestino medio, incluyendo al núcleo de las células (N), microvellosidades apicales (MV), la membrana basolateral (BM), y la lámina basal (BL) (Tomado de Weaver, *et al.*, 1991).

IV.2. LAS MEMBRANAS PERITRÓFICAS Y DEMAS BARRERAS DEL INTESTINO MEDIO

Los parásitos de artrópodos suelen penetrar el epitelio del intestino medio (no quitinizado) de estos últimos. Sin embargo, en muchas especies el tejido del intestino medio se encuentra separado de la comida por una membrana peritrófica (MP), la cual impide y hasta bloquea completamente la invasión del parásito. La efectividad de la MP varía dependiendo tanto del vector como del parásito (Miller, *et al.*, 1993).

Las membranas peritróficas (MP) son formadas por secreciones del epitelio del intestino medio: son discretas, acelulares, con estructura semitubular y encapsulan a la comida. Las MP's Tipo I (Fig. 13) son producidas por una área de secreción difusa, expandida a todo lo largo del intestino medio. En cambio, las MP's Tipo II (Fig. 14) se secretan a partir de un área localizada en la unión del intestino medio con el intestino anterior, usualmente dentro del cardias (proventrículo). Las MP's Tipo I se secretan en forma discontinua, usualmente como respuesta después de la comida (consecuentemente, los parásitos que se enfrentan a este tipo de MP, al principio no enfrentarán ninguna barrera, pero conforme el tiempo pase la barrera aparecerá y se incrementará). Las MP's Tipo II se producen continuamente, formando barreras permanentes entre los parásitos ingeridos y el epitelio del intestino medio. Una sola especie de insecto puede formar diferentes tipos de MP's en diferentes estadios de su vida (las larvas de los mosquitos producen MP's Tipo II, mientras que los mosquitos adultos producen el Tipo I) (Miller, *et al.*, 1993).

Las MP's usualmente tienen varias capas, cada una de ellas laminada y con regiones distinguibles por afinidad de tinción. Normalmente son asimétricas en cuanto a su grosor, apariencia y composición, así como en cuanto a la superficie endoperitrófica (vista al lumen) y ectoperitrófica (vista al epitelio). Se conoce muy poco sobre su composición química. Parecen estar compuestas de residuos de azúcares en abundancia, quizás debido a la presencia de glicoproteínas glicosiladas, o de polisacáridos estructurales, como la quitina. Las MP's Tipo II parecen ser ricas en glicosaminoglicanos separando una red fibrosa. Las MP's Tipo I son muy variables (Miller, *et al.*, 1993).

Las barreras subsiguientes a la MP contra los parásitos dependen de los diferentes tropismos de cada parásito (como la afinidad por tejidos específicos, rutas de migración, etc) y de diferentes secreciones del epitelio medio (componentes como el glicocalix y la lámina basal), factores tóxicos o encapsulantes en el hemocle, y finalmente de la lámina basal del tejido que el parásito planea alcanzar (Miller, *et al.*, 1993). La penetración del parásito suele verse precedida por interacciones específicas entre la superficie celular del parásito y las moléculas de los tejidos del vector (y a veces ayudada por enzimas secretadas por el parásito las cuales debilitan el tejido a penetrar) (Miller, *et al.*, 1993).

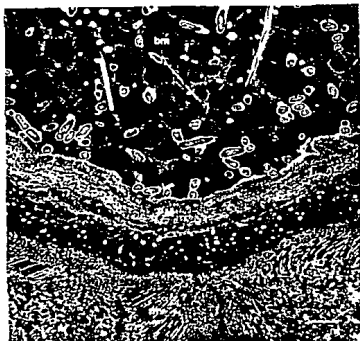


Fig. 13. Micrografía de electrón mostrando la membrana peritrófica Tipo I (PM) de *Anopheles stephensi*, 48 horas después de la alimentación con sangre. La PM separa el alimento sanguíneo (bm) de los microvellos (mv) del epitelio del intestino medio. Escala = 3 μm (Tomado de Miller, *et al.*, 1993).



Fig. 14. Micrografía de electrón mostrando la membrana peritrófica Tipo II (PM) de *Glossina morsitans morsitans*. Nótese las 3 láminas diferentes de la PM (1, 2, 3). La lámina 1 constituye la cara que da al lúmen. La lámina 3 está cara al epitelio del intestino medio. Esta lámina puede llegar a encontrarse completamente ausente (flecha), y en esta zona la lámina fibrilar intermedia (2) queda expuesta. Escala = 0.35 μm (Tomado de Miller, *et al.*, 1993).

IV.2.1. Paso de *Leishmania* a través de las barreras del intestino medio:

Una forma de evadir a la MP Tipo I es esperando a su desintegración, después de que ha terminado la digestión del alimento sanguíneo. Esto ocurre con varias especies de *Leishmania*. *L. mexicana amazonensis* parasita a *Lutzomyia longipalpis*. Los amastigotes en el alimento sanguíneo se transforman en promastigotes y se multiplican. Unos cuatro días después de la alimentación, la MP se desintegra y es entonces cuando los parásitos llegan al epitelio del intestino medio (Miller, *et al.*, 1993).

Sin embargo, no es el caso de *L. major* en *Phlebotomus papatasi* o el de *L. chagasi* en *Lutzomyia longipalpis*. Mientras que en el insecto no infectado la desintegración de la MP comienza en el extremo posterior (se desintegra formando grandes pedazos), en la mosca de la arena infectada se da una desintegración adicional en la parte anterior (en esta zona la MP parece disolverse). Esta ruptura anterior permite la migración de los parásitos hacia la parte anterior. La ruptura es provocada por quitinasas y N-acetilglucosaminidasas producidas por los promastigotes de *Leishmania*. Estas enzimas rompen el almacén de quitina de la MP. Se han encontrado enzimas quitinolíticas en cuatro especies de *Leishmania* (*L. major*, *L. braziliensis*, *L. donovani* y *L. infantum*) y además en otros parásitos como *Leptomonas seymouri*, *Crithidia fasciculata*, *Herpetomonas muscarum* y *Trypanosoma lewisi* (Miller, *et al.*, 1993).

El papel de las enzimas quitinolíticas no está dirigido únicamente a desintegrar la membrana peritrófica, ya que ni los parásitos de *Leptomonas* ni *Trypanosoma lewisi* tienen que enfrentarse a la MP en sus respectivos insectos hospederos. Estas enzimas digieren otras barreras, como es el caso de la capa cuticular de la válvula cardíaca de *P. papatasi*, digerida por *L. major* (Miller, *et al.*, 1993).

IV.2.2. Paso de *Trypanosoma* a través de las barreras del intestino medio:

Los parásitos que se enfrentan a las MP's Tipo II no tienen las mismas ventajas que los que se enfrentan a las Tipo I. Deben penetrar la MP o bien rodearla de alguna forma. Se cree que los tripanosomas africanos rodean la MP de la mosca tsé-tsé saliendo por la parte posterior del intestino en donde la MP se encuentra segregada, y luego se dirigen hacia delante por el espacio ectoperitrófico, en donde se multiplican. De ahí los parásitos llegan al cardias y penetran la MP inmadura en su sitio de secreción, volviendo a entrar al espacio endoperitrófico en la unión del intestino medio con el intestino anterior. De ahí llegan al lumen del esófago y al labro, llegando finalmente a las glándulas salivales por la hipofaringe (Fig. 15) (Miller, *et al.*, 1993).

Por otro lado se sugiere la posibilidad de que los tripanosomas sean capaces de penetrar directamente los tejidos del vector, incluyendo a la MP (Fig. 15). Hay reportes que indican la presencia de tripanosomas en

el hemocele de *Glossina*. Estudios de microscopía electrónica han sugerido que *T. brucei rhodesiense* y *T. congolense* penetran la MP y las células epiteliales del intestino a la altura de los 2/3 del intestino medio. Si esta ruta ocurre realmente en la naturaleza, seguramente *T. brucei* penetraría el tejido de las glándulas salivales a través de la hemolinfa, y la inability de *T. congolense* para infectar las glándulas salivales podría deberse a la incapacidad de penetrar una barrera (quizá por receptores de superficie inapropiados). Sin embargo, esta ruta directa por el hemocele no se ha demostrado contundentemente. De hecho, la hemolinfa de la tsé-tsé contiene una sustancia tripanosomacida (Miller, *et al.*, 1993).

IV.2.3. Paso de *Plasmodium* a través de las barreras del intestino medio:

Los parásitos de la malaria son capaces de superar muchas de las barreras dentro del mosquito vector. Sin embargo, dentro de una misma población de vectores encontramos variabilidad natural entre los individuos en su susceptibilidad a la infección con parásitos de la malaria. Mosquitos que son vectores eficientes de una especie particular de malaria rechazan totalmente el desarrollo de otra especie. Específicamente, mientras la malaria en mamíferos es transmitida por los mosquitos anófeles, la malaria en aves es transmitida por los culicidos. A pesar de una exposición persistente, los parásitos de los mamíferos no han podido adaptarse a los mosquitos culicidos (Waters, *et al.*, 1991). El Cuadro VIII muestra casos documentados de incompatibilidad encontrada entre diferentes especies de mosquitos y parásitos causantes de la malaria.

Parte de esta especificidad mosquito-parásito parece estar basada en la relación temporal entre la maduración de la MP Tipo I de cada especie de mosquito y el tiempo que lleva al gametocito específico de *Plasmodium* para transformarse en gameto y ser fertilizado para producir un cigoto móvil u oocineto. *An. atroparvus* y *An. stephensi*, en los cuales la MP madura en 24 hrs y 30-36 hrs, respectivamente, pueden ingerir a *P. berghei* y a *P. falciparum*, los cuales se transforman en oocinetos maduros en 18 hrs y 24 hrs, respectivamente. La relación temporal entre estos dos eventos puede explicar el porqué *An. atroparvus* es refractario a *P. falciparum*, y el porqué *An. stephensi* es susceptible a ambas especies del parásito. Esto implica el hecho de que los oocinetos pueden penetrar o evadir las recién secretadas MP's, pero no las MP's ya maduras. Por lo tanto, la MP en unos casos actúa como un agente limitante del desarrollo del parásito, y en otros casos como un agente delecto del parásito (Miller, *et al.*, 1993). Sin embargo, esta hipótesis no es aplicable en todos los casos. En *Ae. aegypti*, la formación de la membrana empieza inmediatamente después de la alimentación con sangre, pero hasta unas 12 horas después se convierte en una estructura bien formada.

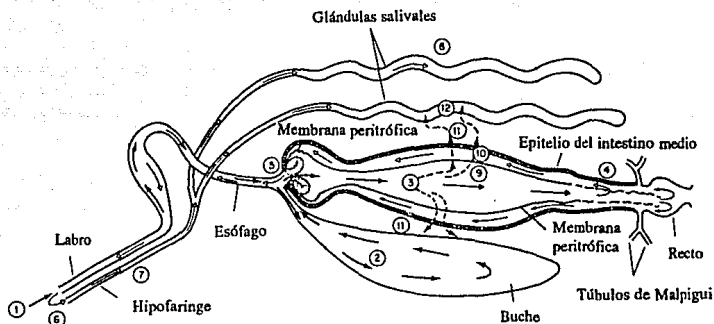


Fig. 15. Las rutas de desarrollo alternativas de *Trypanosoma brucei* en *Glossina*: la ruta clásica y la ruta de circuito corto. Las flechas continuas negras (\rightarrow) muestran el paso de los tripanosomas en el alimento de sangre, del labro (1), por el buche (2) al intestino medio (3). Del intestino medio, la ruta clásica se indica por flechas blancas continuas (\Rightarrow); los tripanosomas escapan de la membrana peritrófica yendo hasta el extremo posterior (4), en donde dan vuelta y van hacia adelante a lo largo del espacio ectoperitrófico hasta llegar a la válvula proventricular (5), donde penetran la parte de fluido de la membrana peritrófica y entran al esófago; de ahí llegan a la punta del labro y se dan vuelta (6), entrando a la hipofaringe (7), llegando de ahí a las glándulas salivales (8). Las flechas interrumpidas negras (- - \rightarrow) muestran la ruta de circuito directo; los tripanosomas penetran activamente la membrana peritrófica intacta (9), y entran a las células epiteliales del intestino medio (10), en donde se dividen antes de pasar al hemocele (11); de ahí probablemente penetran directamente a través de la pared celular a las glándulas salivales (12) para completar el desarrollo a la fase metacíclica (Tomado de Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

Mosquito	Parásito	Bloqueo del desarrollo	Referencia
<i>Aedes aegypti</i>	<i>P. berghei</i>	Los oocinetos no penetran la pared del intestino medio	Warburg, <i>et al.</i> , 1991.
<i>Anopheles atroparvus</i> (línea selecta)	<i>P. berghei</i>	Los oocistos tempranos cesan su desarrollo	Sluiters, <i>et al.</i> , 1986.
	<i>P. falciparum</i>	Los oocinetos no penetran la membrana peritrófica	Warburg, <i>et al.</i> , 1991.
<i>A. freeborni</i>	<i>P. knowlesi</i>	Los esporozoitos no penetran las glándulas salivales	Rosenberg, 1985.
<i>A. gambiae</i> (línea selecta)	<i>P. berghei</i> <i>P. cynomolgi</i> <i>P. falciparum</i> <i>P. gallinaceum</i> <i>P. knowlesi</i> <i>P. malariae</i> <i>P. vivax</i>	Los oocinetos y oocistos tempranos son encapsulados en el intestino medio	Collins, <i>et al.</i> , 1986.
<i>A. stephensi</i>	<i>P. gallinaceum</i>	Los oocinetos no penetran la pared del intestino medio	Rudin, W., no publicado.
<i>A. stephensi</i> (línea selecta)	<i>P. falciparum</i>	Los oocinetos pueden ser afectados debido a la intensificación de la actividad de la aminopeptidasa en el intestino	Fieldmann, A.M., <i>et al.</i> , 1990.
<i>Culex pipiens</i>	<i>P. gallinaceum</i>	Todos los estadios (inyectados) cesan su desarrollo en el hemocele	Weathersby, <i>et al.</i> , 1975.
<i>C. salinarius</i>	<i>P. berghei</i>	No hay flagelación externa	Warburg, <i>et al.</i> , 1991.
<i>Mansonia uniformis</i>	<i>P. cynomolgi</i>	Los esporozoitos presentes en el hemocele no penetran las glándulas salivales	Warburg, <i>et al.</i> , 1991.

Cuadro VIII. Casos documentados de combinaciones mosquito - *Plasmodium* incompatibles (el único mecanismo conocido de bloqueo es el que se da en la línea selecta de *A. gambiae*) (Tomado de Warburg, *et al.*, 1991).

Los oocinetos de *P. gallinaceum* (el cual parasita a *Ae. aegypti*) se desarrollan en 16 a 20 horas, y la invasión se da entre las 30 y 35 horas. Como la membrana ya completamente formada dura de las 12 hasta las 48 horas, y entonces se disuelve, los parásitos deben atravesarla para llegar a las células epiteliales, y de hecho, lo hacen (Huber, *et al.*, 1991). *P. gallinaceum* penetra inclusive la MP aún cuando el vector es inducido artificialmente a producir una MP mucho más gruesa (Miller, *et al.*, 1993).

La MP no muestra ningún tipo de ruptura durante el periodo en el que el parásito la penetra (Sieber, *et al.*, 1991), sino que las capas de la MP se van separando conforme el oocineto va avanzando y la membrana circundante se va desmembrando. La MP directamente en frente del parásito se encuentra intacta y se forman vesículas densas de un material amorfo enfrente del parásito. Esto sugiere la liberación de enzimas por el parásito, las cuales alteran químicamente la MP (Fig. 16). El mecanismo es desconocido, aunque el posible proceso enzimático podría involucrar la acción de una quitinasa (la MP de *Ae. aegypti* contiene quitina) (Huber, *et al.*, 1991; Sieber, *et al.*, 1991). De hecho, en los oocinetos hay presencia de quitinasa durante su crecimiento *in vitro*, mas o menos al mismo tiempo en que están listos para penetrar por la membrana peritrófica (Warburg, *et al.*, 1991).

Ya cruzada la MP, los oocinetos pasan del lumen del intestino medio al hemocele, atravesando el epitelio del intestino medio. Existen dos teorías sobre la ruta que toman: una ruta intercelular (entre las células epiteliales) y una ruta intracelular (por adentro de las células epiteliales). Los oocinetos de *P. gallinaceum* y de *P. berghei* se han detectado dentro de células epiteliales y también entre ellas (Torii, no publicado; citado por Warburg, *et al.*, 1991). Los oocinetos de *P. cynomolgi bastianelli* y de *P. yoelii nigeriensis* también toman la ruta intracelular. *P. falciparum* ha sido observado pasando entre las células sin invadir las (Meis, *et al.*, 1989).

El movimiento intercelular de *P. falciparum* parece no dañar el epitelio del intestino medio, y los mosquitos infectados no muestran mayor mortalidad que los no infectados. Por otro lado, los mosquitos infectados con *P. berghei* muestran una mayor mortalidad que los no infectados, lo cual se pudiera correlacionar con el movimiento intracelular que muestra *P. berghei* en este caso, destruyendo las células epiteliales (Fig. 17) (Meis, *et al.*, 1989).

Sin embargo, también es probable que los oocinetos de *Plasmodium* pasen a través del epitelio mediante una invasión celular, y no mediante el uso de un pasaje intercelular, ya que los oocinetos poseen un complejo apical, el cual se ha asociado con la invasión celular en los parásitos del Phylum Apicomplexa (Hadley, *et al.*, 1986; Warburg, *et al.*, 1991).



Fig 16. Micrografías electrónicas mostrando un oocinet (O) de *P. gallinaceum* penetrando la membrana peritrofica (PM) 39 horas después de la ingestión con sangre de *Ae. aegypti*. El parásito se encuentra rodeado por una zona de baja densidad electrónica (flecha en la figura superior), excepto en la terminación apical, donde hay un material denso electrónicamente (D). Entre la PM y los microvellos hay una célula epitelial degenerándose (De). Superior x18,000. Inferior x10,000 (Tomado de Sieber, *et al.*, 1991).



Fig. 17. Superior. El oocineto de *P. falciparum* en *A. stephensi* se encuentra entre el borde de dos células epiteliales adyacentes y ha hecho contacto con la lámina basal. La figura de la derecha es la ampliación de la de la izquierda mostrando al oocineto entre las láminas basales de cada célula (flechas). Las membranas celulares divergen y se mueven alrededor del parásito. Inferior. El oocineto de *P. berghei* en *A. stephensi* se encuentra dentro de una célula epitelial. La envoltura nuclear (asterisco) se encuentra dilatada y la célula se está degenerando. La figura de la derecha muestra más en detalle la clara posición intracelular del oocineto, en contacto cercano con la lámina basal (BL) y la membrana epitelial (flecha) entre cilios (Tomado de Meis, *et al.*, 1989).

IV.2.4. Paso de *Onchocerca* a través de las barreras del intestino medio:

Onchocerca y otras microfilarias deben enfrentarse a una MP Tipo I en la mosca negra. Las microfilarias deben penetrar el intestino medio 4 horas después de la ingestión; de otra forma quedan atrapadas por la MP formada (Miller, *et al.*, 1993).

IV.2.5. Paso de los arbovirus a través de las barreras del intestino medio:

Mediante experimentos de infección oral (inoculación intratorácica del virus directamente en el hemocele) se ha demostrado el papel del intestino medio como la primera barrera a la infección. Esta barrera es dependiente de la dosis de inoculación. La susceptibilidad a la infección puede darse entre poblaciones geográficas de las mismas especies. Aún dentro de una población de vectores eficientes hay individuos con replicación viral restringida en las células del intestino medio, con poca o ninguna liberación de virus al hemocele. Esto se encuentra bajo control genético y los fenotipos de rechazo o susceptibles pueden ser seleccionados (Miller, *et al.*, 1991). De los mosquitos que diseminan al virus desde el intestino, solamente una pequeña parte son capaces de transmitir al virus eficientemente. Sin embargo, este es un sistema dinámico, influenciado no solamente por los factores del mosquito, sino también por variación del virus, del hospedero vertebrado y de los factores ecológicos y ambientales. Todas estas observaciones han llevado a identificar o proponer una serie de barreras de infección y de transmisión (Leake, 1992).

La barrera de infección mesentérica (MIB) se encuentra asociada con la interacción inicial del virus con las células del intestino medio y con los eventos tempranos en el proceso de la infección. La barrera de escape mesentérico (MEB) refleja los eventos tardíos en la replicación viral y la salida del virus de la célula infectada del intestino medio. También se han propuesto las barreras de infección de las glándulas salivales (SGI), y la del escape de las mismas (SGE) (Hardy, 1988).

Hay ocasiones en las que, saliéndose del patrón de infección típico, el virus puede fugarse directamente al hemocele sin aparente replicación en las células del intestino medio. Esto le permite al virus llegar rápidamente (unos 4 días) a ganglios nerviosos, cerebro y glándulas salivales. Este fenómeno puede encontrarse asociado con interrupciones del intestino medio durante la alimentación sanguínea, lo que permitiría la rápida diseminación del virus. Sin embargo, no se ha comprendido la importancia de esta rápida diseminación para el virus (Weaver, 1986; Weaver, *et al.*, 1991).

IV.3. MECANISMOS DE ADHESION. MOLECULAS DE RECONOCIMIENTO. POSIBLES TROPISMOS

La penetración de la MP y demás tejidos del insecto vector se puede llevar a cabo por un sistema de reconocimiento entre el parásito y la superficie del tejido en cuestión.

IV.3.1. Leishmania:

Cuando los amastigotes de *Leishmania* son ingeridos por la mosca de arena, la transición de amastigotes a promastigotes requiere de una adaptación a diferentes temperaturas: 32 a 37°C, versus 21 a 26°C, la primera necesaria para la adhesión a los macrófagos en el hombre hospedero; la segunda necesaria para la adhesión al epitelio del intestino medio de la mosca de arena (Lighthall, *et al.*, 1992). Los amastigotes viven en un ambiente con pH ácido, respirando óptimamente entre pH 4.0 y 5.5, mediante el catabolismo de glucosa y prolina. Tanto amastigotes como promastigotes de *L. donovani* catabolizan la glucosa y la prolina mediante un sistema symport acoplado de protones (Meade, *et al.*, 1989).

El establecimiento de la infección con *Leishmania* requiere de la adhesión de los parásitos al epitelio del intestino medio del vector (Pimenta, *et al.*, 1992). Esta adhesión retiene a los parásitos durante el paso de la sangre por el intestino y probablemente ayuda a su diferenciación. El siguiente paso es la separación del parásito y su movimiento hacia el intestino anterior, donde algunos se adhieren mediante hemidesmosomas y otros quedan libres para ser transmitidos por la mordida. Este movimiento de los promastigotes va acompañado de su diferenciación de un estadio no infectivo a un estadio altamente infectivo (metacíclicos).

La molécula de mayor abundancia en la superficie de los promastigotes es el LPG (lipofosfoglicano), el cual forma el glicocalix que cubre toda la superficie celular del parásito, incluyendo al flagelo, y además cubre a las otras moléculas de superficie. Estructuralmente, LPG es un polímero de unidades repetidas de $PO_4-4-6-Gal(\beta 1-4)Man\alpha 1$ (Gal = Galactosa; Man = Manosa), unido por un fosfosacárido a una cadena del lípido liso-1-O-alcilfosfatidilinositol. En *L. major*, las unidades de repetición son sustituidas en la posición 3 del residuo Gal por una variedad de cadenas de sacáridos. Durante la metaciclogénesis, tanto el número como la composición de los sacáridos son modificados. Específicamente, el LPG de los organismos metacíclicos tiene dos a tres veces el número de unidades de repetición que tiene un LPG de los procíclicos (los Gal terminales son sustituidos durante la metaciclogénesis por unidades con un α -arabinopiranos terminal) (Pimenta, *et al.*, 1992).

Se ha encontrado LPG libre de parásitos depositado en células del epitelio medio de *P. papatasi* infectado con *L. major* (Davies, et al., 1990), y se ha demostrado que la unión de los promastigotes procíclicos a las células del epitelio del intestino medio del vector es llevada a cabo mediante la porción de galactosa expuesta del LPG. Primeramente, el fosfoglicano del LPG procíclico se une directamente con los microvellos de la célula epitelial, combinado con la acción de una proteína de la membrana del flagelo (Pimenta, et al., 1992). El primer sitio de reconocimiento de la molécula de unión de *P. papatasi* parece ser el residuo terminal β -galactopiranososa de *L. major*, el cual al ser sustituido por α -arabinopiranososa durante la metacicloogénesis provoca la pérdida de adhesión de las formas metacíclicas. Esta molécula de unión del vector es capaz de reconocer azúcares específicos, propiedad característica de las lectinas y las selectinas. Se han encontrado moléculas tipo-lectina en los intestinos medios de varios insectos, incluyendo a los mosquitos, las moscas de la arena y las moscas tsétsé (Pereira, et al., 1981). Otras moléculas con capacidad de unirse a lipopolisacáridos son las moléculas tipo-integrina, de las cuales por lo menos hay una en los insectos, aunque no hay evidencia de su localización en el intestino medio (Miller, et al., 1993).

Aunque el papel del LPG en la adhesión es un hecho patente, no conviene descartar otras posibles influencias de adhesión, como la modificación de la pared del epitelio, o la inhibición mediante azúcares nutritivos (Pimenta, et al., 1992).

Además de la típica adhesión de *Leishmania* al intestino medio del insecto vector, se encuentran casos de adhesión al intestino posterior. Cerca de 90% de las moscas de la arena infectadas con *L. braziliensis* panameña tienen promastigotes en sus intestinos posteriores (la mitad de ellos adheridos a una zona llamada triángulo posterior). También se ha encontrado una cepa peruana de *L. braziliensis* en los intestinos posteriores de *Lutzomya sanguinaria* y *Lu. gomezi*. (Fig. 18).

Por otro lado se sabe que dos cepas de *L. mexicana* (de Guatemala y Honduras) solamente se encuentran (como promastigotes) en el intestino medio de sus moscas de la arena hospederas. Estos estudios nos indican que tanto *L. braziliensis* como *L. mexicana* tienen sus sitios preferidos dentro del insecto vector (Cheng, 1973).

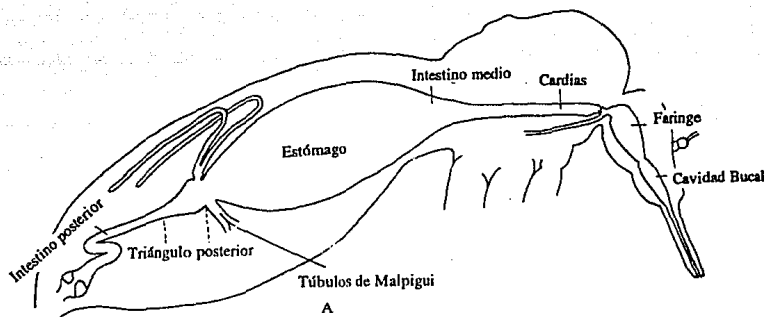


Fig. 18. *Leishmania braziliensis* en las moscas de la arena *Lutzomya gomezi* y *Lu. sanguinaria*. A. Esquema de la mosca de la arena señalando el triángulo Posterior. B. Microfotografía mostrando a *L. braziliensis* adherida a la pared del triángulo Posterior de *Lu. gomezi* 3 días después de la infección. C. Microfotografía mostrando a *L. braziliensis* adherida a la pared del triángulo Posterior de *Lu. sanguinaria* 7 días después de la infección (Tomado de Cheng, 1973).

IV.3.2. *Trypanosoma*:

La transformación de *T. cruzi* en tripomastigote se lleva a cabo en el recto de sus vectores. Para el estudio de este fenómeno, Böker (1984) subdividió el recto de *Triatoma infestans*, en base a los pliegues de la pared del recto, en cinco regiones (de anterior a posterior): región A, cerca de la entrada del intestino medio y con forma de cono, con grandes pliegues y unos cuantos pliegues menores irregulares; la región B, la glándula rectal, una zona circular alrededor de la región A, con grandes pliegues, y con la más fina estructura de todo el recto; la región C, una región angosta, con grandes y profundos pliegues; la región D, con muy pocos pliegues superficiales; y la región E, anterior al ano y con los pliegues más profundos de todo el recto. Las regiones A y B están claramente separadas, mientras que las regiones C,D y E son continuas (Fig. 19) (Böker, *et al.*, 1984).

Durante el estudio, los tripanosomas se detectaron por primera vez a los 14 días de la infección. En esta fase, *T. cruzi* prefirió claramente la región B (glándula rectal). La región A no fue colonizada y las otras regiones tuvieron un pequeño número de parásitos. Conforme el tiempo fue pasando, la región B continuó como la más colonizada, llegándose a formar una capa compacta de parásitos alrededor de 6 semanas post-infección, en contraste con la región A, sin ningún parásito. Para cuando la infección ya estaba bien establecida (8 a 11 semanas post-infección), toda la pared del recto estaba colonizada, pero con diferencias en densidad dependiendo de cada región. La región A presentó unos pocos flagelados adheridos. La región B siguió siendo la preferida, con la formación de una capa de flagelados (los flagelos apuntando hacia la cutícula). Las regiones C y D mostraron una densidad similar de parásitos entre ellas. La región E fue densamente colonizada y, debido a lo profundo de los pliegues, se podían ver a los parásitos agrupados en tiras (Fig. 20).

De estos estudios se dedujo que la cutícula de la glándula rectal presente en la región B fue la región preferida por los parásitos para adherirse, debido quizá a la estructura tan fina de ésta y, por lo tanto, a la mayor cantidad de superficie absorbente. En esta región se dan también una menor distensión y menor habilidad de contracción, lo que ayudaría a una adhesión "mas cómoda" de los parásitos (Böker, *et al.*, 1984).

En el proceso de adhesión de *Trypanosoma* a la superficie celular del vector, el flagelo se convierte en un órgano de adhesión, normalmente expandiendo su membrana para incrementar el área de contacto célula-substrato (Fig. 21). Normalmente los flagelos forman placas tipo hemidesmosómicas. La adhesión de *T. cruzi* a la superficie del epitelio de glándulas rectales es también por vía hemidesmosoma (García, *et al.*, 1991).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

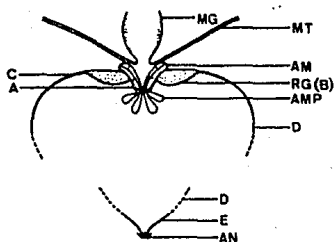


Fig. 19. Esquema del recto, intestino medio, túbulos de Malpighi, ámpulas y el proceso de las células ampulosas de *T. cruzi*. A-E, regiones de la cutícula del recto; AM, ampulla; AMP, proceso de las células ampulosas; AN, ano; MG, intestino medio; MT, túbulos de Malpighi; RG(B), glándula rectal (región B) (Tomado de Böker, *et al.*, 1984).

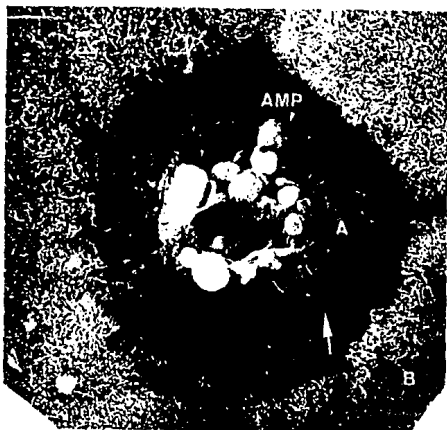


Fig. 20. Superior. Colonización de la parte anterior del recto: en la región A los flagelados (flecha) se ven raramente, mientras que en la región B forman una capa de parásitos (800x). Inferior. *T. cruzi* permanece con la parte anterior del cuerpo y el flagelo (→) en la región E de la cutícula con menos pliegues, y el término posterior (⇔) orientado hacia el lumen del recto (8,000x) (Tomado de Böker, *et al.*, 1984).

Cuando el epimastigote se ha adherido, la metacicloogénesis ocurre *in situ*, aparentemente, mediante el movimiento y elongación del cuerpo del protozoario. Tanto el mecanismo de adhesión como la transformación de epimastigotes a tripomastigotes se han estudiado *in vitro* y son marcadamente similares a los procesos *in vivo*. De estudios con diferentes cepas y clones de *T. cruzi* se concluyó que la adhesión de los epimastigotes es necesaria para que se de la diferenciación en tripomastigotes, los cuales se liberan una vez transformados (Bonaldi, *et al.*, 1988).

Durante el proceso de diferenciación de epimastigote a tripomastigote, la superficie del parásito va adquiriendo una carga negativa, obteniéndose después de 96 hrs (incubación *in vitro*) un cambio significativo en la movilidad electroforética. En este tiempo se observa un gran número de formas de transición entre el epimastigote y el tripomastigote. Al principio se observan dos formas de epimastigotes: una larga (7 a 11 μm) y una corta (5 a 6 μm), las dos con torsión longitudinal de sus cuerpos (Fig. 22) (Böker, *et al.*, 1984). Se cree que todos estos cambios obedecen a la desaparición o bloqueo de los componentes que mantienen al parásito adherido a la superficie del hospedero. Estudios metabólicos muestran que estos componentes son polipéptidos; específicamente, los parásitos adheridos expresan un grupo de 4 polipéptidos con masas moleculares entre 45 y 50 kD (punto isoeléctrico de 4.8), así como un grupo de dos polipéptidos con masas moleculares de 54 y 57 kD respectivamente (punto isoeléctrico de 5.3). El primer grupo de polipéptidos parece ser un antígeno de superficie. Actualmente se investiga si estas presuntas proteínas se encuentran glicosiladas, ya que la adhesión podría estar mediada por lectinas (Zeledon, *et al.*, 1984). Sin embargo, todavía no hay evidencia de la posible acción de estos polipéptidos en el proceso de la transformación (García, *et al.*, 1991).

En estudios recientes se han encontrado 4 genes en *T. brucei* que codifican para receptores tipo ciclasa de adenilato o de guanilato, y que parecen expresarse en la membrana del flagelo. Estas diferentes ciclasas podrían ser activadas por moléculas de unión del vector a la hora de la adhesión (Miller, *et al.*, 1993).

Los tripomastigotes recién formados son aplanados dorsolateralmente y con una longitud de 25 a 33 μm . La mayoría no presenta torsión del cuerpo, aunque la membrana ondulante ya es claramente visible (sin embargo, es posible que esta forma de tripomastigote sea una forma de transición debido a lo delgado de su cuerpo) (Fig. 22). Durante y después de la metacicloogénesis es difícil determinar la distribución de las diferentes formas de *T. cruzi* a lo largo de la pared del recto. Sin embargo, se ha visto que los epimastigotes se siguen encontrando en las cinco regiones mencionadas, siendo más abundantes que los tripomastigotes en la región E. Los tripomastigotes son más numerosos en la región A (Böker, *et al.*, 1984). Se han descrito otras formas de *T. cruzi* adheridas a la pared de *T. infestans* (como los esferoamastigotes), aunque hay controversia en este punto (Alvarenga, *et al.*, 1982).



Fig. 21. Micrografía electrónica de *T. cruzi* adherido in vitro a tiras cubiertas de vidrio. Se pueden apreciar proyecciones parecidas a filopodios (flechas), con las cuales el parásito se adhiere, luego de haber usado su flagelo como primer punto de adherencia (Tomado de Bonaldo, *et al.*, 1988).



Fig. 22. Superior. Epimastigote en su forma larga; el bolsillo flagelar (flecha) es cubierto por otro flagelado. Enmedio (izquierda). Epimastigote en su forma corta. → bolsillo flagelar; ⇒ torsión longitudinal. Enmedio (derecha). Epimastigote en su forma corta, dividiéndose; los flagelos son los primeros que se separan (flechas). Inferior. Tripomastigote con la membrana ondulante claramente visible (flecha) (36,000x) (Tomado de Böker, *et al.*, 1984).

A pesar de haber demostrado que la adhesión es necesaria para la metaciclogénesis, se ha visto que por sí sola no es suficiente para este proceso, ya que *in vitro* muchas cepas de *T. cruzi* se adhieren pero no se transforman (Molyneux, *et al.*, 1987; Bonaldo, *et al.*, 1988).

IV.3.3. *Plasmodium*:

La adhesión de *Plasmodium* al epitelio del intestino medio del mosquito y el paso a lo largo de él puede depender también de un reconocimiento específico de receptores e invasión.

La malaria en aves se transmite por mosquitos culicidos, y la malaria en mamíferos por mosquitos anofeles. Parece que hay una diferencia en los residuos de azúcares expuestos en las MP's de *Aedes* y *Anopheles*. El residuo expuesto más abundante en *Ae. aegypti* es GlcNAc, mientras que en *An. stephensi* es GalNAc. No se sabe que tan diferente es la cantidad de cada uno con respecto al otro y si esta diferencia es relevante en la capacidad vectorial de los dos grupos de mosquitos (Miller, *et al.*, 1993).

Anticuerpos monoclonales contra la proteína de superficie Pgs25 de oocinetos de *P. gallinaceum* bloquearon la penetración de la MP por el parásito, pero no alteraron la adhesión de los oocinetos a la MP. Por lo tanto, el contacto inicial con la MP está mediado por diferentes células de superficie, y no únicamente Pgs25 (Sieber, *et al.*, 1991). Pgs25 puede jugar un papel importante también en la adhesión y penetración del epitelio del intestino medio. Se sabe que la molécula de unión del epitelio del intestino medio contiene residuos de GlcNAc. Los mecanismos de penetración (intercelular e intracelular) podrían variar dependiendo de la afinidad específica de la proteína de superficie de 25 kD de los oocinetos de las diferentes especies de *Plasmodium* (Miller, *et al.*, 1993).

Después de haber cruzado el epitelio del intestino medio y de haber llegado al hemocele, la siguiente adhesión del parásito se lleva a cabo en las glándulas salivales. En algunos casos se ve que la invasión de las glándulas salivales se da en un porcentaje bastante bajo. Ejemplos de esto son el caso de invasión de sólo el 20% de esporozoitos de *P. vivax* a las glándulas de *Anopheles dirus*, o el caso de invasión del 6.5 a 10.4% de esporozoitos inoculados de *P. gallinaceum* en *Ae. aegypti* (Touray, *et al.*, 1992). Este hecho puede deberse a una liberación temprana de los esporozoitos de los oocistos, o a que sólo una fracción de estos esporozoitos liberados sea infectiva a las glándulas salivales.

La diferencia más obvia entre la malaria de mamíferos y la de aves es la proliferación en células del parénquima hepático y en células reticuloendoteliales, respectivamente. Una hipótesis propone que los receptores de los esporozoitos que se encargan del reconocimiento de células hepáticas en mamíferos y de células reticuloendoteliales en aves sean los mismos agentes encargados de reconocer las glándulas salivales

de sus respectivos hospederos (Hollingdale, 1987). Sin embargo, se ha comprobado que esporozoitos de *P. gallinaceum* recién formados en los oocistos son incapaces de infectar directamente a las gallinas, mientras que si invaden las glándulas salivales de su hospedero *Aedes aegypti*. Por otro lado, esporozoitos ya salidos de las glándulas salivales, infectan a las gallinas pero son incapaces de reinvasar las glándulas salivales (Touray, et al., 1992). Esta especificidad tan marcada de los esporozoitos liberados de los oocistos sugiere que la invasión de las glándulas salivales es un evento mediado por receptores. Esto ha sido apoyado por Sinden, (1984), y por Rosenberg, (1985), quienes demostraron el reconocimiento específico en *P. knowlesi*. Este parásito se desarrolló normalmente en *An. freeborni*, pero los esporozoitos no entraron en las glándulas salivales. Entonces se implantaron glándulas de *Ae. dirus*, las cuales se vieron infectadas, independientemente de la habilidad del parásito para completar su ciclo de vida. De esta forma, se ve que las glándulas salivales determinan por sí mismas la especificidad, y que esta no se debe a otros factores, como podrían ser los componentes de la hemolinfa (Touray, et al., 1992).

Parece ser que el tiempo en el que los oocistos son liberados es también un factor importante para la infección a las glándulas salivales (Touray, et al., 1992). Esto puede ser causado por una diferencia en los receptores de la superficie celular entre esporozoitos liberados de los oocistos y los esporozoitos ya dentro de las glándulas salivales. La proteína circunsporozoítica es un componente de gran importancia en la superficie de *Plasmodium spp* y tiene regiones que se cree se encargan de unirse a células del parénquima hepático. Estas mismas regiones podrían encargarse de la invasión de las glándulas salivales. Sin embargo, se ha visto que no hay diferencia entre la proteína circunsporozoítica de esporozoitos liberados de oocistos y la proteína de esporozoitos de glándulas salivales. Por lo tanto, esta proteína por sí sola no es el receptor específico, tanto para las células salivales como para las células reticuloendoteliales en las aves (en el caso de *P. gallinaceum*) (Hollingdale, 1987; Warburg, et al., 1991; Touray, et al., 1992).

La proteína circunsporozoítica ocupa únicamente el 10 al 20% de las proteínas totales de superficie del esporozoito. Recientemente se ha descrito una proteína de superficie, la cual se cree pueda jugar un papel importante en la invasión de las células hospederas, en combinación con la proteína circunsporozoítica. Esta situación sería análoga a la que se presenta en el merozoito de *Plasmodium*, que requiere de varios receptores de superficie para invadir a los eritrocitos (Touray, et al., 1992).

Ya dentro de las glándulas salivales, los esporozoitos se encuentran en las porciones distales de los lóbulos laterales y en el lóbulo medial, regiones en donde el conducto salival no tiene quitina. Estas regiones producen enzimas asociadas con la alimentación con sangre, y su lámina basal contiene moléculas de unión específicas de carbohidratos. La asociación de los esporozoitos con estas regiones funcionales de las glándulas puede ser importante para identificar las bases moleculares del reconocimiento y la penetración (Warburg, et al., 1991)

Como se ha visto, el sistema de moléculas de reconocimiento entre *Plasmodium* y el mosquito es bastante complejo, e implica diferentes interacciones celulares. Es posible que al menos dos de estas interacciones (adhesión de los oocinetos al intestino medio y reconocimiento de los esporozoitos por los lóbulos de las glándulas salivales) sean mediadas por carbohidratos específicos y moléculas tipo lectinas o selectinas (Miller, N., et al., 1993).

IV.3.4. Arbovirus:

Aunque se han propuesto varios posibles mecanismos controlando el MIB, como el efecto de la membrana peritrófica, la desviación del alimento sanguíneo dentro del divertículo ventral, o los efectos de la carga de superficie del intestino medio, el mecanismo más probable es la presencia de receptores específicos virales en las células del intestino medio del mosquito. No se ha identificado aún ningún receptor, pero se ha observado la adherencia específica del virus de la encefalomiелitis occidental equina a fragmentos aislados de las células del intestino medio (Houk, et al., 1985). De la misma forma, se ha demostrado que la cubierta proteínica del virión juega un rol importante en la adhesión inicial del virus a la célula hospedera; el segmento medio del RNA de los bunyavirus que codifica a las glicoproteínas de la envoltura, genera además importantes determinantes para la diseminación y la transmisión oral (Beaty, et al., 1982). También se ha observado que un cambio en un solo aminoácido (encargado de la adhesión celular) de la glicoproteína E2 del alfavirus de la encefalitis equina venezolana altera la habilidad de este virus para replicarse y diseminarse en *Ae. aegypti* (Woodward, et al., 1991).

Se podría especular que los virus se adhieren a la célula hospedera por reconocimiento mediante receptores de proteína, lípido u oligosacárido. Consecuentemente, la especificidad de la relación ligando-receptor podría definir el rango de hospederos: una unión de alta especificidad con un rango muy pobre de hospederos (ej. HIV uniéndose a receptores CD4 de células T), ó una unión de alta especificidad con un rango alto de hospederos (ej. ortomixovirus y paramixovirus uniéndose al ácido siálico en las glicoproteínas de la superficie celular). De esta forma, es posible decir que, *in vitro*, varios arbovirus podrían crecer en un amplio conjunto de células (ej. el virus del Bosque Semliki usa varias proteínas de superficie, pero no carbohidratos) (Marsh, et al., 1989).

La liberación restringida de los virus del intestino resulta en una infección pobre de las glándulas salivales, resultando en una barrera SGI pobremente definida. La SGI se demostró por primera vez con el virus occidental de la encefalitis equina en *C. tarsalis*, donde el virus aparentemente se replicó normalmente en el intestino medio, pero no se detectó infección en las glándulas salivales. Este fenómeno se ha encontrado en otras combinaciones virus-vector, y se cree que realmente es un bloqueo previo a la infección de las

glándulas (Hardy, 1988). Los mecanismos que podrían influenciar la infección de las glándulas son las barreras físicas, que son la lámina basal del cuerpo graso torácico, las mismas glándulas salivales, o un posible bloqueo de receptores específicos. Otra posibilidad podría ser simplemente la inactivación del virus dentro del hemocele. A este respecto, se sabe que los mosquitos poseen sistema inmune, tanto celular como humoral, el cual actúa contra las bacterias y los parásitos. Sin embargo, hay información limitada con respecto a los insectos infectados con virus y mucho más limitada hablando de la combinación arbovirus-vectores (Leake, 1992).

En varios casos, mosquitos con glándulas salivales infectadas, han sido incapaces de transmitir al virus oralmente, demostrando una barrera SGE. Esto podría explicarse por una baja producción de virus infecciosos, o una baja secreción dentro del lumen, una modulación de la replicación viral dentro de las células de las glándulas salivales, o una citopatología específica contra los virus (Hardy, 1988).

Se ha propuesto una hipótesis que relaciona la evolución de las barreras del intestino medio con los daños causados por la infección viral y la transmisión transovárica. Esta hipótesis usa un modelo de bunyavirus, y propone que los mosquitos pueden ser infectados oral o transováricamente, como ya se ha mencionado. Los mosquitos infectados oralmente sufren daño, y por lo tanto se da un alto MIB-MEB en la población. En cambio, los modelos matemáticos de transmisión vertical sugieren que las infecciones ya "estables o continuas" pueden proporcionar una ventaja selectiva al hospedero si la infección persiste. Estos individuos no sufren daño, convirtiendo a la infección transovárica en una ventaja (los mosquitos infectados transováricamente no permiten la replicación de virus transmitidos oralmente, debido a una interferencia homóloga). Se debate mucho sobre la aplicación de este modelo a alfavirus y flavivirus, ya que parece no haber en estos una evolución de la transmisión vertical ni de barreras a la infección (Leake, 1992).

***V.- OTRAS INTERACCIONES ESPECIFICAS ENTRE
INSECTOS Y PARASITOS***

V.1. Trypanosoma Y LA CHINCHE HOCICONA

V.1.1. Algunas condiciones para la infección del insecto:

El crecimiento y metaciclógenésis de diferentes cepas y clones de *T. cruzi* en el insecto dependen de la cepa del parásito. Dos diferentes clones de *T. cruzi* tienen una tasa diferente de crecimiento, tanto en *Dipetalogaster maximus*, como en *R. prolixus* (García, *et al.*, 1982; García, 1984).

El número de parásitos ingeridos por el insecto vector es crítico, ya que determina la naturaleza de la infección posterior. La infección del intestino medio de *D. maximus* es posible con pocos tripomastigotes: 5 tripomastigotes de dos diferentes cepas de *T. cruzi* son suficientes para poder infectar a este insecto. La infección en el insecto es proporcional a la concentración de tripomastigotes presentes en la alimentación sanguínea durante los 30 días siguientes a la infección (esta infección es diferente dependiendo del clón de *T. cruzi*). Inoculando diferentes números de tripomastigotes directamente en el buche de *T. infestans*, tres parásitos son suficientes para infectar al menos el 12% de los insectos dentro de los 20 días siguientes a la infección, mientras que 10 parásitos infectan a un 63% dentro de los 15 días posteriores a la infección (Alvarenga, 1982; García, *et al.*, 1982).

V.1.2. Relación de la sangre con el parásito:

Debido a que los parásitos son siempre ingeridos con sangre, podría pensarse que algunos factores sanguíneos podrían ser necesarios para un desarrollo eficiente así como para la diferenciación de estos parásitos. Sin embargo, se ha visto que *T. cruzi* puede inocularse en *T. infestans* en preparaciones libres de sangre y los parásitos se desarrollan y diferencian normalmente en tripomastigotes metacíclicos. Además, aunque la sangre ingerida induce la producción de algunas proteasas digestivas en las regiones del intestino medio donde se multiplican los tripomastigotes, estas proteasas no afectan a *T. cruzi* en su desarrollo. Esta insensibilidad del parásito a las proteasas parece ser común a otros tripanosomas, como en el caso de *T. rangeli* en *R. prolixus* (García, *et al.*, 1991).

V.1.3 Agentes del tubo digestivo

Hay un factor hemolítico en el buche de *R. prolixus* (Azambuja, *et al.*, 1983), el cual puede causar lisis de la membrana del eritrocito con la consecuente liberación de hemoglobina para la acción de proteasas en el intestino medio. Se purificó este factor y se expusieron varios tripanosomátidos *Leptomonas*, *Crithidia*, *Herpetomonas* y varias cepas de *T. cruzi* a su acción *in vitro*, siendo lisados todos a diferentes velocidades. El clon Dm28c de *T. cruzi* fue dos o tres veces más resistente al factor lítico que la cepa Y. Así, como esta actividad lítica tiene diferente actividad en los parásitos, es posible que provea una ventaja selectiva para el desarrollo de ciertas cepas de *T. cruzi* más resistentes que otras. Así, Dm28c se desarrolla mucho mejor en el tracto digestivo de *R. prolixus* que la cepa Y. Se ha descrito actividad lítica similar en *Glossina palpalis* afectando a tripanosomas africanos (Azambuja, 1989; Stiles, *et al.*, 1990).

Pereira *et al* (1981) indicó la presencia de lectinas con diferente especificidad de carbohidratos en el buche, intestino medio y hemolinfa de *R. prolixus*, y cada lectina es altamente específica interactuando con los estadios de desarrollo de *T. cruzi*. Las lectinas del buche son específicas para la N-acetil-D-manosamina, las del intestino medio para la α -N-acetil-D-galactosamina, y las de la hemolinfa para la β -D-galactosa. Los receptores de estas lectinas se encuentran en los epimastigotes pero no en los tripomastigotes de *T. cruzi*, y no se encuentran en otros flagelados, como *Leishmania donovani*, *L. mexicana amazonensis*, *Tritrichomonas foetus*, *Crithidia deanei*, *Herpetomonas samuelpessoai* y *Phytomonas davidii* (ninguno de estos parásitos habita normalmente en *R. prolixus*). Existen otros reportes de presencia de lectinas en la hemolinfa de otros insectos hematófagos, como lo son *T. infestans*, *T. pallidipennis*, *T. vitticeps*, *T. lenti*, *T. matogrossensis*, *Dipetalogaster maximus*, *Panstrongylus megistus*, y *P. herrerri*, todos ellos vectores eficientes de *T. cruzi* (Pereira, *et al.*, 1981).

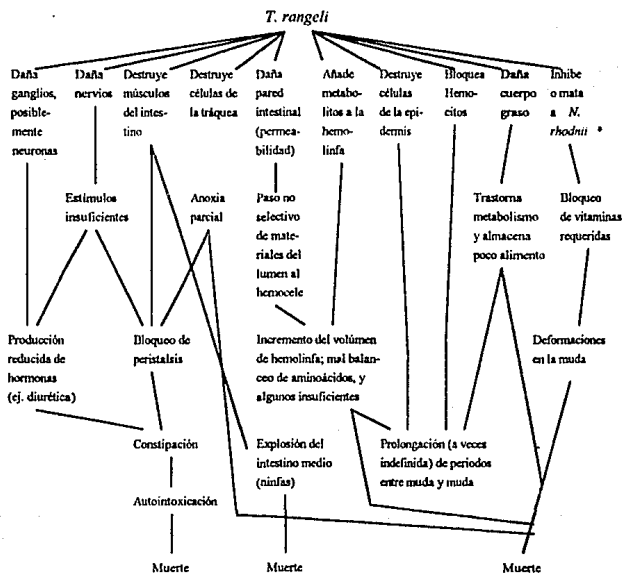
Las lectinas de *Glossina* parecen afectar el desarrollo de estadios específicos de *Trypanosoma* en el intestino y/o en la hemolinfa del insecto. En algunos casos tienen un doble papel: tienen una actividad tripanosomicida pero también estimulan a los tripanosomas a empezar su proceso de maduración, ambas actividades en el intestino medio (Maudlin, *et al.*, 1988; Maudlin, *et al.*, 1989). Existe una fosfoglicoproteína de 72 kD en el epimastigote de *T. cruzi*, la cual parece ser la que interactúa con las lectinas del intestino medio y además parece que juega un papel importante en la diferenciación del parásito (Snary, 1985; Welburn, *et al.*, 1989).

Además de las lectinas, hay unos organismos parecidos a rickettsias (RLO) que juegan un papel importante en el establecimiento de los tripanosomas en sus vectores (Gooding, 1992). Estos RLOs se encuentran en las pupas (son heredados de la madre) y producen una quitinasa la cual genera glucosamina en el intestino medio. La glucosamina inhibe la actividad tripanosomicida de las lectinas del intestino medio. El número de RLOs del intestino medio es afectado por la temperatura en la que la pupa del vector es mantenida, y se

incrementa rápidamente cuando la mosca empieza a alimentarse. Sin embargo, no se sabe si este número es controlado por mecanismos genéticos de la mosca, o si es controlado por variaciones aleatorias, ya sea de la hembra en su progenie o de efectos ambientales (Gooding, 1992).

V.1.4. Acción directa de *Trypanosoma* sobre el vector:

Además de las interacciones ya mencionadas, se ha descubierto que en ocasiones los tripanosomas dañan a sus insectos hospederos. En 1957 se reportó que cuando *T. rangeli*, parásito del hombre y de perros en Sudamérica, era introducido en la chinche *R. prolixus*, esta última sufría severos daños. Durante los primeros estadios ninfales, los tripanosomas inhibieron el proceso de muda. Cuando esta especie era introducida en chinches de cama, la patogenicidad se volvía mayor, causando un número significativo de muertes entre estos insectos (Cuadro IX) (Cheng, 1973).



Cuadro IX. Los sitios más importantes de daño causado por *Trypanosoma rangeli* en *Rhodnius prolixus*, sus posibles efectos fisiológicos y las interacciones de estos resultando en la muerte del hospedero.

(**Nocardia rhodni* es un microbio simbiótico esencial que vive en el esófago e intestino medio de *Rhodnius prolixus*) (Tomado de Cheng, 1973).

V.2. Plasmodium Y EL MOSQUITO

V.2.1. Algunas condiciones para la infección del insecto:

La gametogénesis se da en condiciones ligeramente alcalinas (pH cercano a 8.0) y con una reducción en la temperatura con respecto a la temperatura del hospedero. Una molécula derivada del mosquito estimula la exflagelación y en algunas especies de mosquito la actividad de la enzima digestiva puede influir en la habilidad de los oocinetos para penetrar la pared del intestino (Nijhout, 1979; Feldmann, *et al.*, 1990). Además de estos, hay poco conocimiento de otros factores extrínsecos que pudieran afectar o contribuir al desarrollo de los gametos y oocinetos en el intestino medio.

V.2.2. Barreras defensivas en el hemocele:

Una vez atravesado el epitelio del intestino medio, los oocinetos llegan a la membrana basal, formando los oocistos. En este lugar, ambas formas son víctimas del ataque inmune mediado por la hemolinfa. A pesar de esto, la mayoría de los parásitos en sus vectores específicos parecen ser invisibles a este sistema inmune. Cuando el oocineto llega a la membrana basal del epitelio externo del intestino medio, la formación de la cápsula del oocisto se da mediante una acumulación de material, consistente en una sustancia gris con microvesículas internas. Poco a poco, el oocineto, aún rodeado por la membrana basal, empieza a formar una protuberancia dentro del hemocele. Esta membrana se va estrechando, mientras que se va formando una nueva membrana basal abajo de la cápsula del oocisto. Finalmente, la membrana basal que está en contacto con el hemocele desaparece, quedando el oocisto con su cápsula ya bien formada, fijo a la nueva lámina basal de la pared externa del intestino medio, y en contacto directo con el hemocele. El desarrollo inicial del oocisto empieza debajo de la lámina basal y la maduración continúa después de que se ha formado la cápsula del oocisto (Fig 23) (Meis, *et al.*, 1989).

Se cree que el mosquito puede jugar también un papel importante en la formación de la cápsula. Durante este proceso, la lámina basal primero y la cápsula después podrían dar alguna protección al oocisto contra el sistema inmune. Sin embargo, ya que la cápsula bloquea cualquier salida, cuando se forman los esporozoitos, estos deben penetrarla o fragmentarla para poder llegar a las glándulas salivales (Warburg, *et al.*, 1991).

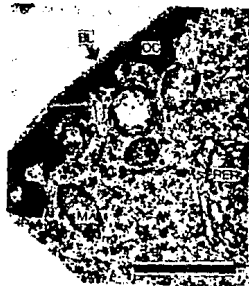


Fig. 23. Superior. Oocinet/oocisto joven entre la lámina basal del intestino medio e invadiendo el hemocoele. Escala 1 μ m. Enmedio. Detalle de un oocisto de 48 horas. Parte de la membrana interior aún es visible (flechas). Comparada con la altamente estructurada lámina basal (BL), la cápsula del oocisto (OC) es una estructura delgada, en proceso de formación. Escala 1 μ m. Inferior. Detalle de un oocisto de 6 días. La lámina basal (flecha gruesa), atenuada, se distingue claramente de la cápsula del oocisto (OC) (Tomado de Meis, *et al.*, 1989).

V.2.3. La encapsulación:

Una de las manifestaciones más evidentes de rechazo inmune en los mosquitos Anofelinos es la encapsulación humoral (Gotz, *et al.*, 1974; Christensen, *et al.*, 1986). Esta reacción es causada por la activación de la cascada de fenoloxidasas, una compleja secuencia de reacciones químicas que causa un depósito de complejos melanóticos de proteína-quinona sobre cuerpos extraños al organismo (Ashida, *et al.*, 1990). De esta forma, la encapsulación se observa en forma de esporas negras. Estas esporas resultantes se ven comúnmente en individuos capaces de rechazo dentro de poblaciones susceptibles. Sin embargo, también se observan frecuentemente oocistos encapsulados en mosquitos susceptibles.

Por selección genética, Collins *et al* obtuvieron una línea fenotípica pura de *A. gambiae* que rechaza la infección con varias especies de *Plasmodium*, y una línea proveniente de la misma parentela, la cual es susceptible al desarrollo normal de los parásitos (Collins, *et al.*, 1986). En mosquitos alimentados sólo con azúcar, se identificó la actividad de la fenoloxidasa en la lámina basal y en las células epiteliales, tanto en la línea de mosquitos refractarios (de rechazo) como en la línea de mosquitos susceptibles. Después de alimentar con sangre se observó que en los mosquitos refractarios la fenoloxidasa actuó encapsulando a los oocinetos, mientras que se observó una actividad reducida o ausente en los mosquitos susceptibles (Paskewitz, *et al.*, 1988; Paskewitz, *et al.*, 1989).

Aún se desconoce el mecanismo por el que los parásitos son reconocidos como extraños en los mosquitos refractarios, pero se sabe que este fenotipo general de rechazo está codificado por al menos dos genes, un gen asociado al locus Est, el cual se localiza junto al locus autosómico de la esterasa (y que podría de hecho ser el mismo gen), y el llamado gen independiente de Est. Se cree que estos dos componentes genéticos forman parte de un sistema de rechazo a un amplio espectro de especies de *Plasmodium*. Este sistema genético actúa contra casi todas las especies de malaria probadas, con unas cuantas excepciones. Estas excepciones podrían deberse a factores del parásito que tengan influencia sobre este proceso. Esto podría explicar el que cepas de *P. falciparum* de África Occidental que son parásitas de *An. gambiae*, sean resistentes a la encapsulación en este vector, mientras que cepas de *P. falciparum* de otras partes del mundo sean uniformemente encapsuladas (Vernick, *et al.*, 1989).

V.2.4. Mecanismos alternos a la encapsulación:

La incompatibilidad innata de ciertas combinaciones de mosquito - parásito es causada comúnmente por mecanismos diferentes a la encapsulación. Como ejemplo de esto, se encuentra el parásito *P. gallinaceum*, el cual inyectado en el hemocelo de la cepa refractaria *Culex pipiens*, se deteriora rápidamente, sugiriendo la presencia de factores tóxicos en la hemolinfa. De hecho, las infecciones de *P. gallinaceum* en el

mosquito susceptible *Ae. aegypti* son detenidas cuando se une a *Aedes* (unión parabiótica) con *C. pipiens* (Weathersby, *et al.*, 1982).

Se sabe que normalmente *P. gallinaceum* no forma oocistos en los anofelinos. Sin embargo, las infecciones en cepas de *A. gambiae* capaces de encapsular, resultan en la formación de esporas negras, indicando que los oocinets son viables para cruzar la membrana peritrófica e invadir las células epiteliales. Por lo tanto, el bloqueo de los oocistos de *P. gallinaceum* en anofelinos no capaces de encapsular es causado mas bien por factores diferentes, y no por incapacidad de los oocinets para penetrar el intestino medio (Warburg, *et al.*, 1991).

Se han sugerido otros elementos de rechazo en el hemocele. Se sabe que las infecciones bacterianas en los insectos inducen la síntesis de proteínas antibacterianas y de péptidos, como las cecropinas (Bowman, *et al.*, 1987). Se desconoce si las infecciones de la malaria en mosquitos inducen la producción de péptidos inmunes, o si los parásitos son afectados por estos últimos. Durante los estadios iniciales de desarrollo, *P. cynomolgi* es resistente a las cecropinas inyectadas en el hemocele del mosquito, pero después de 3.5 días de infección, los parásitos son lisados. Ya que las cecropinas muestran actividad antiparasítica a dosis en las que empiezan a causar toxicidad en los mosquitos, estas moléculas no son verdaderas candidatas como elementos del sistema inmune en los mosquitos de rechazo. Quizá existan otros compuestos, sólo o combinados con cecropinas, efectivos como elementos de rechazo, y sin ser tóxicos al mosquito hospedero (Warburg, *et al.*, 1991).

V.3. Onchocerca Y LA MOSCA NEGRA

V.3.1. Recorrido de *Onchocerca volvulus* dentro de *Simulium damnosum*:

Las larvas de la piel ingeridas por *Simulium* se acumulan entre el coágulo de sangre y la pared del intestino. Son muy activas y la mayoría salen del intestino en las siguientes 24 hrs, hallándose en los músculos torácicos en 48 hrs. A esta altura, ya son completamente diferentes en forma, habiéndose incrementado el ancho y con un nuevo apéndice caudal parecido a una espina, el cual puede ser curvo o recto. También han perdido gran parte de su movilidad.

Desde 1925 se habían descubierto a 20 de 780 moscas (2.6%) especie *S. damnosum* infectadas con larvas morfológicamente idénticas de *O. volvulus* en el intestino. Mas tarde se descubrió que estas infecciones intestinales ascendían a un 17. 28. 59 y hasta un 80% del total de las moscas infectadas. Por otro lado, durante la disección de tórax de 1,320 *Simulium* infectados, 15 (1.1%) mostraron presencia de formas de desarrollo de *O. volvulus*. Igualmente, se comprobó después que estos porcentajes eran mayores, llegando hasta un 82% de infección en esta zona anatómica de la mosca. La larva de *Onchocerca* crece en tamaño y sufre de modificaciones morfológicas en el tórax, invadiendo entonces la cabeza de *Simulium*, y llegando finalmente a la probóscide.

Antes de que la larva invada la cabeza, parece que sufre de varias mudas. Las formas torácicas avanzadas muestran un desarrollo progresivo del canal alimenticio, el cual primeramente se encuentra diferenciado en una porción anterior y posterior, separadas y de diferente calibre; estas se unen después para formar un intestino uniforme, el cual va de la cabeza al ano de la larva. Ya dentro de la probóscide, *Onchocerca* entra al labium de la mosca, donde permanece esperando para emerger. Algunos reportes indican un 63% de formas larvarias encontradas en el tórax y un 16% de formas encontradas en la cabeza. La infección más temprana de la cabeza (región posterior) se da al quinto día de haber sido alimentada la mosca, y la infección de la parte anterior de la cabeza se da al séptimo día. En total, el tiempo desde que entra a la mosca y llega a la madurez en el labium, lista para infectar al hombre, es de diez días. Durante este tiempo, la larva ha sufrido grandes cambios en forma y en tamaño, variando este último de 250 μ de largo y 7 μ de ancho hasta 760 μ de largo y 20 μ de ancho (Fig. 24) (Blacklock, 1978).

V.3.2. El efecto de la temperatura en el desarrollo:

Diferentes temperaturas muestran diferencias en el desarrollo. Las bajas temperaturas retardan el nivel de desarrollo de tal forma que las moscas mueren antes de que la cabeza sea infectada. De 78 moscas que vivieron 6 días a una temperatura promedio de 15°C, sólo 5 (6%) fueron infectadas en la cabeza. Con una temperatura promedio de 20°C, el 31% de moscas muertas al sexto día fueron infectadas en la cabeza (Blacklock, 1978).

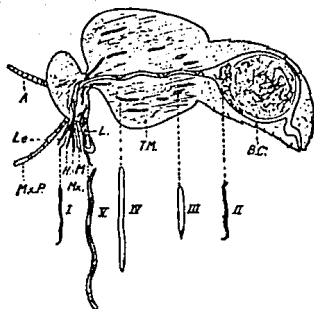


Fig. 24. Diagrama ilustrando el desarrollo de la larva de *O. volvulus* en los tejidos de *S. damnosum*. I. Larva en piel infectada del hospedero. II. Larva en el intestino medio. III. Larva en los músculos torácicos (estadio temprano). IV. Larva en los músculos torácicos (último estadio). V. Larva en la cabeza y en el labium. A. Antena. B-C. Coágulo de sangre. T-M. Músculos torácicos. L. Labium. Le. Labroepifaringe. H. Hipofaringe. M. Mandíbula. Mx. Maxila. Mx.P. Palpo maxilar. (Tomado de Blacklock, 1978).

V.3.3. Salida de la larva de la cabeza de *S. damnosum*:

Una vez que la larva ha llegado a su posición final en el labium de la mosca, emerge espontáneamente cuando se le pone en contacto con suero de mono a temperatura caliente (no se ha reportado la temperatura exacta). La solución salina normal caliente no produce el mismo efecto estimulante, por lo que el suero de mono debe ejercer una atracción especial. La larva también emerge espontáneamente cuando se aplica una muy pequeña presión en la cabeza de *Simulium* con una aguja (Blacklock, 1978).

V.3.4. Encapsulación en el insecto vector:

La encapsulación, como ya se ha mencionado, es una defensa común de los artrópodos contra los parásitos que son demasiado grandes para ser fagocitados por simples células. Se ha visto que larvas de filarias son encapsuladas en mosquitos hospederos, ya sea por encapsulación extracelular o por melanización intracelular (Shih, *et al.*, 1991).

La encapsulación extracelular combina una melanización humoral inicial y una encapsulación hemocítica posterior. Actúa contra microfilarias que están en el hemocele de mosquitos. La melanización intracelular es una reacción típica humoral, y actúa contra las larvas cuando están en los músculos torácicos o en los túbulos de Malpighi (Shih, *et al.*, 1991).

En la reacción de melanización actúan varias enzimas, como la monofenol oxidasa, la difenoloxidasa, la dopa descarboxilasa, entre otras. Sin embargo, se sabe poco sobre cuales son las enzimas que participan en la formación de la sustancia de la cápsula melanótica durante la encapsulación. Se ha visto que la concentración de la proteína monofenol oxidasa en la hemolinfa aumenta al doble en mosquitos infectados con filarias, comparado con la concentración normal en mosquitos control. La actividad de esta enzima llega a su máximo entre las 24 y 48 hrs post ingestión de la sangre infectada. Después de 72 hrs sigue siendo alta, pero después de 3 días post ingestión la actividad decrece más que en los mosquitos alimentados con sangre normal. Esta diferencia en actividad enzimática podría atribuirse al consumo de monofenol oxidasa en la melanización de microfilarias migrando en el hemocele de los mosquitos infectados. El decrecimiento posterior de actividad enzimática coincide con el tiempo en que las va han sido encapsuladas (entre 24 y 48 hrs post infección) (Shih, *et al.*, 1991).

V.4. LOS ARBOVIRUS Y EL MOSQUITO

V.4.1. La replicación de los virus:

La penetración del virus en la célula se ha estudiado y comprendido mejor *in vitro*, aunque más en células de mamífero que en células de mosquito. Los viriones se fusionan directamente con la membrana celular o, más comúnmente, son endocitados dentro de la membrana plasmática y liberados intactos como endosomas primarios. Ya dentro de la célula, las condiciones ácidas conllevan a cambios en la conformación y fusión de proteínas virales, induciendo la fusión de las membranas vírica y endosomal, y una posterior liberación de la nucleocápsula dentro del citoplasma, seguido de la desintegración de esta cápsula y la liberación del RNA. Este podría ser un proceso común, así como la penetración de células por mecanismo ácido, como se ha observado *in vitro* en alfavirus, flavivirus y bunyavirus obtenidos de mosquitos (Tardieu, *et al.*, 1982; Leake, 1992).

Los detalles de la replicación viral divergen dependiendo del grupo de virus en cuestión. En las células de los vertebrados, la replicación de los arbovirus es típicamente de periodo corto y citocídica. La replicación del RNA de los alfavirus parece darse en la superficie de las membranas endosómica y lisosómica, ya que estas estructuras se modifican formando las llamadas vacuolas citopáticas tipo I; la maduración se da en la membrana celular como un proceso de formación de capullo o una exocitosis inversa. La replicación del RNA de los flavivirus parece ocurrir en la región perinuclear en asociación con las membranas, mientras que la maduración ocurre en las vacuolas intracitoplasmáticas y las vesículas de Golgi. La replicación de los bunyavirus se da en el citoplasma, mientras que la maduración ocurre en las membranas del retículo endoplásmico y del cuerpo de Golgi (Bishop, *et al.*, 1979; Brinton, 1986).

Parece ser que los flavivirus y bunyavirus son liberados de las células infectadas mediante exocitosis o por destrucción de la célula y liberación. En las células de mosquitos, *in vitro*, la infección es de larga duración y persistente, generalmente sin citopatología. La replicación, por lo tanto, es diferente a como se presenta en las células de los mamíferos. La maduración de los alfavirus y flavivirus ocurre frecuentemente en el complejo de las vesículas internas, con la posterior fusión de estas vesículas con la superficie celular. Es de interés el que en los mosquitos, *in vivo*, la evidencia indica que la maduración ocurre primariamente por formación de capullo de la membrana plasmática (Enzmann, 1987; Weaver, *et al.*, 1988).

Se han descrito ejemplos del bloqueo de la replicación viral en base a virus mutantes en células de vertebrados. Los virus muestran síntesis normal del RNA y los nuevos precursores de las envolturas proteicas se insertan en la membrana celular. Sin embargo, estas proteínas son hiperglicosiladas e inhabilitadas para seguir adelante y formar la envoltura proteica. Como resultado de este bloqueo tardío en

la replicación, las nuevas formas virales nucleocapsulares son incapaces de salir a través de la membrana celular (Stollar, 1987). Se ha intentado describir a estos virus mutados químicamente, restringidos en una fase temprana de la replicación en células de mosquito (cosa que no sucede en células de vertebrados). Es importante mencionar que, in vitro, la célula hospedera del mosquito es capaz de controlar la cantidad de replicación del RNA viral, regulando quizás el nivel de sustratos para la síntesis de RNA o regulando directamente a la RNA polimerasa. La modulación de los virus se ha observado repetidamente en los mosquitos in vivo, y también en células de mosquitos in vitro, lo cual se manifiesta como infecciones persistentes con liberación controlada de virus infecciosos (Leake, 1992). Se ha demostrado la existencia de una o varias proteínas del mosquito, las cuales juegan un papel crítico en la diseminación de los flavivirus a partir del intestino medio (Miller, *et al.*, 1991).

Suponiendo que la replicación del virus procediera exitosamente en las células del intestino medio, los nuevos viriones serían liberados en la lámina basal de las células del intestino medio para llegar al hemocele y de ahí a las glándulas salivales. La lámina basal intacta representa una barrera física a la liberación de partículas enteras. Por lo tanto, parece haber una relación entre la eficiencia de la barrera del intestino medio y el tamaño del cuerpo del mosquito, ya que, según el modelo de *Ae. triseriatus* - virus de LaCrosse, los mosquitos pequeños son transmisores más eficientes que los mosquitos grandes. Esto podría ser causado por el espesor de la lámina basal, el cual parece estar directamente relacionado con el tamaño del cuerpo del mosquito. Se desconoce el mecanismo de esta barrera potencial, pero quizás la citopatología ultraestructural que se ha visto recientemente en intestinos medios infectados por alfavirus es un patrón más común de lo que se sabe hasta ahora (Weaver, S.C., *et al.*, 1988).

V.4.2. Efectos citopatológicos de los arbovirus sobre el mosquito:

A pesar de que conocemos efectos dañinos de los arbovirus en los mosquitos vectores (reducción en el éxito en la alimentación, disminución de la tasa de sobrevivencia de adultos y larvas, desarrollo retardado de las larvas, reducción de la fecundidad; por cierto, la naturaleza de estos efectos dañinos es desconocida), se creía que los arbovirus no producían daños citopatológicos en los mosquitos vectores (Turell, 1988). De hecho, varios estudios demuestran la ausencia de cambios citopatológicos en mosquitos infectados con alfavirus y flavivirus (Weaver, *et al.*, 1988). Sin embargo, existen tres reportes en la literatura de daños citopatológicos en los mosquitos ocasionados por alfavirus. El primero habla de cambios citopatológicos en las glándulas salivales de *Ae. aegypti*, infectado con el virus de la Selva Semliki (cuestionable, porque se sabe que *Ae. aegypti* no transmite a este virus en la naturaleza) (Mims, *et al.*, 1966). El segundo habla de vacuolización en las células epiteliales del intestino medio de *Ae. dorsalis*, infectado con el virus de la encefalomielitis equina oriental (cuestionable, ya que el autor no comparó sus resultados con mosquitos no

infectados) (Houk, *et al.*, 1985). A diferencia de los dos anteriores, el tercer reporte (Weaver, *et al.*, 1988) parece demostrar evidencia concluyente de lesiones citopatológicas en *Culiseta melamura*, infectado por el virus de la encefalomielititis equina oriental (alfavirus).

La replicación de este virus comienza cuando la sangre infectada llega al intestino medio del mosquito. De dos a tres días después, el virus se disemina a través del hemocele, llegando a varios órganos, entre ellos las glándulas salivales. La transmisión al hospedero vertebrado puede ocurrir en estos tres días (esta rápida diseminación y transmisión es de las más veloces dentro de los arbovirus) (Hardy, *et al.*, 1983; DeFoliart, *et al.*, 1987). Weaver encontró células degeneradas en el lumen y epitelio del intestino medio del mosquito infectado, así como la ausencia de estas lesiones en mosquitos control, no infectados. Se observaron dos tipos de citopatología: 1) condensación y degeneración de células epiteliales infectadas adentro y cerca del lumen; 2) hinchazón y necrosis de células dentro del epitelio. Parece ser que la condensación y degeneración es una respuesta al incremento de contacto (ocasionado por la replicación de los virus) con el ambiente digestivo del lumen, mientras que las células alejadas del lumen simplemente se hinchan y degeneran (Weaver, *et al.*, 1988).

V.4.3. La competencia de especificidad del vector:

Debido a que los arbovirus pueden sobrevivir en diferentes microambientes celulares se podría pensar en una ausencia de especificidad de hospedero; sin embargo, varios de los principales virus se encuentran restringidos a pocas especies de vectores, mientras que otros tienen un amplio espectro de hospederos. Específicamente, los mosquitos anofelinos son raramente asociados con arbovirus (ej. el virus O'nyong-nyong), mientras que los mosquitos culicidos (principalmente *Aedes* y *Culex*) predominan como vectores de virus; así, por ejemplo, los virus del dengue, restringidos a pocas especies de *Aedes*, son transmitidos principalmente por *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (Leake, 1992).

Extensos estudios de la replicación de los arbovirus en líneas celulares de mosquitos, *in vitro*, han sugerido algunas de las bases celulares de la especificidad. Como ejemplo, las células de *Ae. albopictus* y *Ae. pseudoscutellaris* muestran una susceptibilidad amplia, mientras que las células de los anofelinos permiten la replicación de pocos virus (Leake, 1987a). Por lo tanto, la especificidad del vector es un reflejo de las complejas interacciones que controlan la infección y la replicación de los virus en las células individuales y tejidos del vector, además de los componentes de la cepa del virus, la biología del vector y del vertebrado y de los aspectos ambientales (Hardy, 1988). Concretamente hablando del Dengue y la Fiebre Amarilla, la primera se asocia con condiciones urbanas y con la presencia de *Aedes aegypti* alimentándose en lugares domésticos.

Es claro que existe una compleja variedad de mecanismos que controlan la infección viral y la replicación en mosquitos. Ahora queda aclarar sobre la contribución de la especificidad del vector a la transmisión del virus. Se puede ver la especificidad bajo dos perspectivas diferentes: cuando la especificidad indica que un individuo es completamente susceptible o completamente inmune a la infección; o cuando la especificidad se puede ver en forma de mecanismos de control que retardan el desarrollo de la infección, y alargan por lo tanto el periodo extrínseco de la incubación. La especificidad del vector podría ser menos importante para la transmisión de patógenos que otros factores de competencia vectorial, como el índice de picaduras, la densidad de los mosquitos o su supervivencia. Un ejemplo reciente ha ilustrado esto: la acción de un número extremadamente alto de individuos de un vector incompetente (*Ae. aegypti*, con 7% de transmisión experimental), alimentándose en lugares domésticos, causó una gran epidemia en Nigeria en 1987 (Miller, *et al.*, 1991).

COMENTARIOS FINALES

Los mosquitos han sido foco del estudio científico desde principios de este siglo, cuando fueron asociados a las enfermedades del hombre.

En vista de los daños ambientales que acompañan al uso de insecticidas contra mosquitos, y ante el incremento de resistencia genética a estos insecticidas, cada vez se le presta más atención a los proyectos de control biológico.

Las esterases son el mas grande mecanismo de resistencia a diferentes pesticidas contra mosquitos. Se han realizado estudios toxicológicos, genéticos y moleculares. Se han encontrado mecanismos de amplificación génica de esterases, mostrando la importancia de este proceso genético como un mecanismo de sobrevivencia bajo condiciones de presión selectiva (Georghiou, 1991).

Otro método de control biológico es también la manipulación genética, como lo es la liberación de gran cantidad de machos y hembras estériles portando genes letales o la liberación de poblaciones resistentes al parásito en cuestión. Este último método no ha sido probado todavía contra mosquitos u otro insecto vector de protozoarios parásitos.

LEISHMANIASIS

Un posible método de control de *Leishmania* radica en la posibilidad de utilizar al LEF como agente inmunogénico para neutralizar la infección de este parásito. Como ejemplo de este tipo de inmunización, se demostró que conejos previamente infectados con garrapatas, eran más resistentes que otros individuos a posteriores infecciones con el parásito de estas garrapatas, *Francisella tularensis*. De igual forma, los ratones pueden ser protegidos contra la infección de *Plasmodium berghei*, mediante la inmunización con glándulas salivales de mosquito (Alger, *et al.*, 1972).

TRIPANOSOMIASIS

Actualmente se sabe que aunque el desarrollo cíclico de los tripanosomas dentro de la mosca tsé tsé no requiere de apareamiento para que ocurra, el intercambio genético puede darse bajo condiciones en las que tripanosomas genéticamente distintos se desarrollan dentro de la misma mosca. Durante los últimos años ha habido un considerable avance en la investigación de cruza de laboratorio, y se han propuesto varios controvertidos y aparentemente contradictorios modelos de mecanismos de intercambio genético y de la ploidía de diferentes estadios del ciclo de vida.

El procedimiento general usado para generar tripanosomas híbridos en el laboratorio consiste en mezclar dos lotes de parásitos en una proporción 1:1 y dar esta mezcla de alimento a moscas tsé tsé. Los tripanosomas no clonados producidos por estas moscas desarrollan infecciones maduras y son examinados para buscar la presencia de progenie híbrida, usando isoenzimas o marcadores de cariotipos moleculares. Entonces, los clones de tripanosomas derivados de moscas productoras de híbridos son sujetos a un detallado análisis de marcadores. El primer prerequisite en este análisis es determinar cuales clones son híbridos, esto es, aquellos que difieren en una variedad de marcadores genéticos de sus padres.

Los resultados de estos experimentos han mostrado que el intercambio genético no es obligatorio. Sólo un número limitado de moscas con infecciones maduras producen tripanosomas híbridos (14-45%), y entre grupos de clones generados de estas moscas productoras de híbridos una proporción de clones (10-100%) son idénticos a uno u otro de los padres. La naturaleza no-obligatoria del ciclo sexual ha probado ser una gran limitación técnica para los análisis genéticos.

El análisis por marcadores de la progenie de los clones no ha dejado muy en claro si el intercambio genético en los tripanosomas implica a la meiosis, segregación de alelos y recombinación, ya que son pocos los datos obtenidos de las cruza de laboratorio. Se ha examinado la herencia de dos marcadores con el objetivo de descubrir como los genes de la glicoproteína de superficie variante (VSG) y el DNA maxi-circular (mitocondrial) son heredados. Sin embargo, los resultados de estos experimentos no encajan en ningún modelo simple, debido en parte a las dificultades del análisis genético de los genes familiares, y también a que los genes VSG son en su mayoría haploides.

Las reglas de la genética básica del proceso sexual en *T. brucei* no han sido aún determinadas. El proceso implica meiosis y singamia, pero el orden de los procesos es aún desconocido. Es difícil distinguir entre varios modelos basándose solamente en el análisis de marcadores y no hay evidencia citológica de la cual disponer, por lo que el mecanismo preciso permanece indeterminado.

La principal limitación del progreso ha sido la generación de un número suficiente de clones de progenie, y esta parece ser una constante limitación para el futuro inmediato. Sin embargo, varios aspectos de la genética y biología del sistema han sido descubiertos y el avance genético continuará enfocándose en descubrir nuevas formas de resistencia genética a la tripanosomiasis africana (Tait, *et al.*, 1990).

Actualmente se estudian agentes químicos que puedan afectar la interacción tripanosoma - insecto vector. La azadiractina, aislada de semillas de *Azadirachta indica*, causa cambios en el sistema neuroendócrino de varias especies de insectos, y se ha utilizado para tratar de modificar la condición fisiológica del insecto hospedero y, por ende, el desarrollo de *T. cruzi*. Se ha demostrado recientemente que la azadiractina administrada en la sangre a diferentes tiempos, ya sea al mismo tiempo, antes o después de la infección con el parásito, reduce el número de tripanosomas en el intestino del insecto vector. El compuesto no mata al parásito directamente ya que la sangre continúa infectada aún con azadiractina y tampoco interfiere con el desarrollo del parásito dentro del hospedero mamífero. Una dosis simple de azadiractina es suficiente para inhibir el desarrollo del insecto vector y conferirle resistencia contra la reinfección de tripanosomas por varios meses. Además, este bloqueo de las interacciones vector-parásito puede observarse en varias especies de triatómidos con varias cepas de *T. cruzi*. Se han formulado dos hipótesis para explicar el efecto de la azadiractina: primera, el compuesto puede actuar indirectamente a través de cambios generales, no específicos en el sistema neuroendócrino; segunda, el compuesto puede afectar directamente la fisiología del intestino. El último caso parece menos probable debido a que la azadiractina no afecta funciones específicas del intestino, como son la hemólisis del buche o la secreción de proteasas (García, *et al.*, 1991).

MALARIA

Los géneros *Anopheles*, *Culex* y *Aedes*, como se ha mencionado, representan los principales vectores de los grupos más abundantes de patógenos del hombre. La complejidad en el control de las poblaciones de estos vectores es ejemplificada por el fracaso para eliminar la malaria del mundo en desarrollo, especialmente del África, a pesar de una campaña de erradicación de la malaria de 20 años, organizada por la Organización Mundial de la Salud. Los intentos para controlar al mosquito han sido frustrados debido a su enorme capacidad reproductiva y a su

flexibilidad genética. Esta última es demostrada no solo por el desarrollo de resistencia a insecticidas, sino también por la multitud de especies crípticas relacionadas estrechamente, mostrando un proceso de especiación en respuesta a la adaptación al ambiente del hombre (Trager, 1986; Besansky, *et al.*, 1992a).

El DDT (1,1,1-tricloro-2,2-di(p-clorofenil)etano) y otros insecticidas residuales dependen de su eficacia en el comportamiento de los mosquitos. Especialmente prometedor es el trabajo realizado con la bacteria *Bacillus thuringiensis israelensis*, cuyas esporas actúan como un insecticida de origen microbiano muy activo contra la larva del mosquito.

Desde un punto de vista teórico, los microsporidias parecen tener el mejor potencial como agentes de control biológico duradero de protozoarios parásitos de invertebrados. Tienen una gran patogenicidad, una transmisión eficiente y las esporas infectivas son resistentes y de larga vida. Estos parásitos son transmitidos verticalmente por medio de los ovarios de hembras infectadas a la siguiente generación, de donde una proporción de las larvas desarrollan infecciones letales caracterizadas por la invasión masiva del cuerpo graso. Un ciclo completo de estos microsporidios comprende dos generaciones de mosquitos (durante las cuales ocurre la transmisión vertical) y una generación de copépodos (transmisión horizontal). Sin embargo, hay algunos microsporidios cuyo ciclo entero de vida transcurre en el mosquito hospedero. En este caso, la transmisión horizontal y vertical ocurre en sucesivas generaciones de mosquitos sin la intervención de un hospedero intermedio. Entre estos casos, encontramos a *Culicosporella lunata* infectando a *C. pilosus*, *Culicospora magna* infectando a *C. restuans*, y a *Edhazardia aedis* infectando a *Aedes aegypti* (Sweeney, *et al.*, 1991).

La ingeniería genética también es usada en el estudio del control de la malaria. Los métodos de diagnóstico del rRNA tienen una gran importancia para detectar al parásito *Plasmodium*, aún en pequeñas cantidades y en diferentes estadios (Waters, *et al.*, 1990).

El conocimiento de las bases moleculares sobre el desarrollo de *Plasmodium spp* en ciertos mosquitos y el bloqueo del desarrollo en otros sigue siendo muy limitado. Sin embargo, los mecanismos de rechazo hereditarios funcionan en poblaciones de mosquitos susceptibles (como ejemplo, se ha visto que los culicidos se convierten en insectos incapaces de transmitir la malaria a mamíferos mediante este mecanismo). Identificar los genes responsables de estos fenómenos será el primer paso para crear verdaderas poblaciones anofelinas de rechazo a la malaria. Concretamente, gracias al avance de la ingeniería genética, en lugar de tratar de erradicar a los insectos, las investigaciones actuales se enfocan a producir cepas transgénicas que sean incapaces de transmitir las enfermedades. En un futuro alguna modificación genética podría producir una especie genética

totalmente resistente a todas las especies de *Plasmodium* (Vernick, et al., 1989). Los mapas genéticos son un paso importante hacia este fin. Además de los mapas ya descritos del cromosoma X de *An. gambiae*, se tiene contemplado obtener el mapa de otros dos cromosomas de este insecto para 1994 (Zheng, et al., 1993).

Debido a que *Plasmodium falciparum* es resistente a diversos fármacos, se ha buscado reducir su transmisión mediante un fármaco gametocitocídico o una vacuna gamética. Los gametos y oocinetos de *Plasmodium* han sido el foco principal de esfuerzo para desarrollar vacunas inhibitoras del desarrollo (Carter, et al., 1984). Estas vacunas estimulan la producción de anticuerpos, los cuales reconocen a los oocinetos, bloqueando su desarrollo. Otro de los tipos de vacuna pospone la inducción en el vertebrado hospedero de anticuerpos contra los gametos. Cuando estos anticuerpos se encuentran presentes con la sangre ingerida en el intestino medio de un mosquito recién alimentado, inactivarán cualquier gameto de la malaria formado de los gametocitos de la sangre ingerida. De esta manera, la infección del mosquito y la subsecuente transmisión son detenidas (estas vacunas se conocen como altruistas). Una vacuna así puede ser muy útil como un ingrediente adicional en una vacuna dirigida contra los esporozoitos y los estadios eritrocíticos (Trager, 1986).

La restricción MHC de los péptidos de *Plasmodium* es bien conocida en algunas cepas de ratones, y los intentos de vacuna contra la malaria han insinuado que puede ser el mismo caso para la población humana, pero esto tendría que ser estudiado a larga escala (Ash, 1991).

Hay desventajas en los estudios limitados en medir la respuesta de células T a péptidos in vitro. Bajo condiciones de exposición natural, las respuestas inmunes son inducidas por los parásitos enteros y puede pasar que diferentes péptidos de un antígeno se unan con más de un alelo MHC. En regiones endémicas, los estudios de proliferación de células T sugieren que una alta proporción de gente aparentemente inmune no tiene respuesta de anticuerpos a varios antígenos de la malaria. Sin embargo, la no respuesta de Clase II MHC no quiere decir necesariamente que una vacuna de subunidad no sirve. Existe un número de explicaciones alternativas, como las limitaciones inherentes de los ensayos de proliferación de las células T, o explicaciones debidas a los genes que gobiernan a las células B y a los macrófagos (Ash, 1991).

Además del polimorfismo del hospedero, la variación del parásito puede contribuir a una respuesta inmune deficiente. La generación de variantes del parásito puede ser intrínseca, como en *Trypanosoma brucei*, y puede deberse también a la recombinación genética. Esta última es objeto de mucha discusión. Algunos aseguran que la reproducción clonal es la regla de los protozoarios parásitos, y hasta para *P. falciparum* dicen que un ciclo sexual es una noción clásica. Sin

embargo, así como la amplificación asexual es llevada dentro del hospedero mamífero, la reproducción sexual dentro del mosquito vector es obligatoria durante el ciclo de vida de *P. falciparum*.

En defensa de la importancia del sexo para este parásito, Walliker y colegas explican que la recombinación genética en este parásito ha sido demostrada dentro de los mosquitos y que los aislados geográficamente muestran una considerable diversidad genética (Walliker, *et al.*, 1987). Para demostrar esto, se aislaron mutantes de *P. yoelii*, *P. chabaudi*, *P. berguei* y *P. gallinaceum*, resistentes a drogas utilizadas en el tratamiento de la malaria: antifolatos, sulfonamidas, quininas y 8-amino-quinolinas. Estas mutantes se usaron en el estudio de fenómenos de recombinación y de transmisión de factores de virulencia. Con estas mutantes se demostró que existe una fase sexual donde probablemente hay recombinación genética, y una fase haploide, producto de la meiosis de los cigotos formados durante la fase sexual, en la que se expresan todos los alelos presentes (Walliker, 1983). Estos fenómenos tienen implicaciones prácticas en el desarrollo de una vacuna y en el manejo de la resistencia a los fármacos (Ash, 1991).

Se han realizado algunos avances específicos en inmunización. Las vacunas contra la proteína circunsporozoítica de *Plasmodium* no habían tenido resultados positivos hacia 1990 (Arnot, 1990). Sin embargo, se creía que esta proteína no era inmunogenéticamente pobre, ya que la mayoría de anticuerpos producidos van contra ella. Se empezaron a buscar nuevas vacunas trabajando con epitopes específicos (Sinigaglia, *et al.*, 1990). Ultimamente se han reportado casos de protección por inmunización gracias a esta proteína (Greenwood, *et al.*, 1991).

ONCOCERCOSIS

Desde finales de la Segunda Guerra Mundial la disponibilidad de insecticidas organo-clóricos hizo ver la posibilidad de controlar a las moscas negras (simúlidos) (Edungbola, 1991).

En la ausencia de una vacuna y de una droga que pudiera ser usada con seguridad a nivel masivo (hasta 1988), el control de la oncocercosis se ha basado en el uso de larvicidas contra el vector *Simulium* en los lugares de alimentación cerca del río. Si la población del vector puede ser eliminada o controlada de esta manera, la transmisión del parásito puede ser detenida. Si la

interrupción se mantuviera durante un tiempo suficiente (unos 14 a 18 años, para cubrir la vida del adulto y de la microfilaria) y en un área suficientemente grande (para eliminar el riesgo de inmigración a otras áreas), la enfermedad podría ser satisfactoriamente controlada e incluso, eliminada de las áreas bajo tratamiento.

La mayor necesidad considerada antes de la erradicación de la oncocercosis ha sido el desarrollo de un macrofilaricida no tóxico para el humano y eficaz contra *O. volvulus* en una dosis individual o en varias dosis, y capaz de ser desarrollado en gran escala. Desde inicios de 1988, el arma quimioterapéutica fue desarrollada para el control de la oncocercosis. La droga Ivermectina (Mectizan) fue registrada en Francia para su uso en oncocercosis humana. Sin embargo, ni Ivermectina por sí sola ni Ivermectina con un control larvicida han sido capaces de erradicar la infección de *O. volvulus* (Duke, 1990).

En Nigeria se ha realizado una combinación de educación en la higiene, quimioterapia a nivel masivo con ivermectina y control vectoriano. La clave estratégica usada para el país fue el tratamiento a nivel masivo con ivermectina en comunidades donde la prevalencia de microfilarias de piel era de 30% y mayor. Datos preliminares de investigación epidemiológica han confirmado que la oncocercosis existe virtualmente en todo Nigeria con variaciones de densidad de infección en distintas áreas endémicas. Si resulta exitoso el control de la Oncocercosis en Nigeria, los conocimientos obtenidos serán aplicados para implantar programas de control semejantes en las zonas endémicas remanentes de Africa (Edungbola, 1991).

FIEBRE AMARILLA Y DENGUE

Aunque se han descrito varios casos de resistencia intraespecífica a infecciones virales en sistemas virus-vector, la genética y base molecular permanece oscura para varios de los fenotipos reportados. Una estrategia para identificar loci genéticos encargados de la resistencia a la transmisión de los flavivirus es la unión de marcadores genéticos (RFLPs ó Fragmentos de restricción de Longitud Polimórfica) con el fenotipo resistente. Para incrementar la posibilidad de descubrir RFLPs diferentes entre las cepas en cuestión, los mosquitos susceptibles y resistentes deben diverger genéticamente en lo más posible. Recientemente se trabajó con una línea resistente de *Aedes aegypti formosus* y una línea susceptible de *Aedes aegypti aegypti*, unas subespecies de

gran divergencia (basada en análisis de isoenzimas). Al mismo tiempo se trabajó con *Aedes aegypti formosus* población Ogbomoshó (línea resistente) y el virus de la fiebre amarilla. Se encontró que la diferencia en susceptibilidad fue muy grande en la primera generación de mosquitos, y esta diferencia desapareció en las siguientes generaciones. Esto sugiere que un locus o unos pocos loci son los que determinan el fenotipo de susceptibilidad/rechazo (Miller, *et al.*, 1991). De hecho, podría ser que un alelo controlando la resistencia fuera codominante de un alelo controlando la susceptibilidad (explicado por la 1ª generación), y que un locus secundario influyera en el fenotipo del locus principal de control (explicado por la 2ª generación). Sin embargo, no se descarta la posible presencia de otros loci involucrados en este fenotipo.

La resistencia a la infección con arbovirus se puede medir en tres fenotipos: 1) rechazo a la infección en el intestino medio; 2) ausencia de la multiplicación del virus después de la infección; 3) inhibición de movimiento del virus. En el experimento anteriormente descrito, se observó en las cepas resistentes que, aunque el virus de la fiebre amarilla se podía replicar en el intestino medio, no se diseminaba a las otras zonas del mosquito. Después de 14 días de incubación, las líneas susceptibles tenían unas 100 a 1000 veces más virus que las líneas resistentes. No es realmente claro si el fenotipo resistente podría estar determinado por receptores virales en el intestino medio. Lo que sí parece probable es que, debido a que el movimiento viral parece ser inhibido por un gen principal, una o pocas proteínas deben jugar un papel crítico impidiendo esta diseminación (Miller, *et al.*, 1991).

Se ha encontrado que cepas resistentes de *Ae. aegypti* al virus de la fiebre amarilla en la naturaleza, son también resistentes al virus del dengue. Debido a que quizá los flavivirus comparten una misma estrategia de replicación, podrían ser comunes también los factores que impiden la diseminación de estos virus a partir del intestino medio. El descubrimiento de estos factores podría ser esencial para identificar los rasgos de futuros mosquitos de rechazo de las dos enfermedades mencionadas (Gubler, *et al.*, 1982; Miller, *et al.*, 1991).

La tendencia actual predice que los arbovirus provenientes de mosquitos continuarán expandiéndose con los consecuentes problemas epidémicos y endémicos. Conociendo la dificultad de encontrar una vacuna contra ellos, el conocimiento de los mecanismos que controlan la especificidad del vector podría ser de gran ayuda en un futuro. El actual interés en la manipulación genética de los mosquitos da la posibilidad de aislar y caracterizar a los loci responsables del control de la infección viral y de la replicación. Estos genes podrían ser insertados en poblaciones vectoras, reduciendo la competencia vectorial y el índice de transmisión. A pesar de este descubrimiento, los mecanismos de la especificidad son aún objeto de mucho estudio para profundizar en la investigación de la relación arbovirus-vectores (Leake, 1992). Cabe mencionar

que los mosquitos *An. gambiae*, *Ae. aegypti* y, en menor grado, *Cx. pipiens* siguen siendo los organismos modelo de estudio del grupo de insectos vectores (Besansky, et al., 1992a).

Ejemplos del mecanismo de resistencia a diferentes pesticidas por medio de esterases se han encontrado en *Culex* (Raymond, et al., 1991).

Actualmente se manipula con la ingeniería genética para lograr mosquitos transgénicos, concretamente, pasando genes de *Drosophila melanogaster* a *Aedes aegypti*. Sin embargo, estos estudios se encuentran en sus comienzos.

Superar los obstáculos de la transformación genética del mosquito nos proporcionará una poderosa herramienta para estudiar muchos aspectos biológicos del mosquito. Sin embargo, como parte del programa de control de enfermedades transmitidas por el mosquito, la transformación genética es sólo uno de los problemas que requieren solución, incluyendo la identidad de relevantes genes blanco (no necesariamente del genoma del mosquito) y el desarrollo de métodos para dirigir las construcciones genéticas dentro de las poblaciones de mosquitos.

Varios grupos se encuentran tratando de dilucidar las bases de la competencia vectorial entre los parásitos de la malaria en *Anopheles* y de los arbovirus y gusanos en *Aedes*, y tratando de mapear y clonar los genes implicados. También se realizan esfuerzos para caracterizar los clones de *Aedes* homólogos a proteínas antimicrobianas, attacinas, cecropinas y dipterocinas de otros insectos. Mucho del trabajo en genes con expresión específica-tejido, tejidos particulares como las glándulas salivales, donde los arbovirus tienen su replicación intracelular, es motivado por la posibilidad de una estrategia de control genético basada en un RNA antisensorial de un arbovirus específico, producido en el tejido apropiado bajo el control del promotor del tejido-específico del mosquito. Desafortunadamente, se desconoce mucho todavía, especialmente a nivel molecular, y se necesita aún mucha investigación antes de implementar alguno de estos avances (Besansky, et al., 1992a).

Otros mecanismos de control adicionales en mosquitos y que interfieren con la replicación de virus homólogos, in vitro, son los que utilizan moléculas de defensa tipo interferón; partículas que interfieren y dañan al virus; o por formación de virus mutantes sensibles a la temperatura (Enzmann, 1987). Existen también defensas a nivel genético.

El conocimiento del desarrollo e interacciones de parásitos de importancia médica dentro de sus insectos vectores es indispensable para el diseño de sistemas de control de estos organismos patógenos. Como se ha visto, aunque los parásitos mencionados y sus enfermedades son objeto de estudios a nivel mundial, aún falta mucho por recorrer para poder declarar a cada una de estas enfermedades bajo control. Poco se ha hecho referente al control del parásito dentro de su hospedero intermediario, campo que, como se ha mencionado, tiene un gran potencial.

APENDICE A

EPIDEMIOLOGIAS

LA LEISHMANIASIS

En 1990 fue realizada la Segunda Comisión de la Comunidad Europea (CEC) enfocada en Leishmania, promocionada por el Programa de Desarrollo de Ciencia y Tecnología (STD-2) de la Comunidad Europea (EC). De esta comisión se desprendieron conocimientos importantes:

Se discutieron modelos matemáticos para explicar la dinámica de poblaciones de *Leishmania* y de su insecto vector *Phlebotomus*. la leishmaniasis ya no se considera una enfermedad sino mas bien un complejo de enfermedades, cada una con su propio nicho ecológico y características patológicas (van Eys, 1991).

El Kala-azar:

El Kala-azar también es conocido como Leishmaniasis visceral, Fiebre de la Muerte, Fiebre Dum-Dum, y otros nombres menos usados. Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida, aunque la endemia local se halla bien limitada. En América, se encuentra en el norte de Argentina, Paraguay, Bolivia y Brasil, y en focos dispersos en otros países. En Africa, es endémica en el Sudán, Etiopía, Somalia, norte de Kenya, Marruecos, Argelia y Tunicia. En Asia abunda en casi toda China, Manchuria, Turquestán y este de la India, y en focos aislados en otros países. En Europa, es endémica en Portugal, España, Córcega, Italia, Albania, Grecia, Bulgaria y Rusia (Fig. 25).

El Kala-azar es esencialmente una enfermedad doméstica en los países que a causa de las condiciones favorables de clima y vegetación abunda el vector apropiado para efectuar la transmisión. Todos los años se puede esperar la aparición de nuevos casos de Kala-azar unos tres meses después de la época de reproducción de los *Phlebotomus* transmisores. Entre las especies de

Phlebotomus vectores de *L. donovani*, se encuentran *P. argentipes*, *P. chitnensis*, *P. major*, *P. sergenti*, *P. papatasi*, *P. orientalis*, *P. perniciosus*, *P. martini*, *P. langeroni*, entre otros.

Existen varios reservorios de *L. donovani*, como el perro, las zorras y chacales. En la mayoría de los focos de kala-azar, la enfermedad es moderadamente endémica, pero de cuando en cuando se manifiesta en forma epidémica. Un ejemplo es el que se presentó en Bengala, donde una epidemia se registró al máximo en 1946. Otra forma de contaminación es mediante la ingestión de alimentos y bebidas contaminados con *L. donovani*, o mediante contacto con las heces y orina de pacientes con la enfermedad. En algunas regiones, la edad tiene gran influencia sobre la epidemiología. En las regiones del Mediterráneo, las infecciones son más comunes en niños de 1 a 4 años de edad, y en la India en adultos jóvenes, aunque en cada región se pueden presentar, tanto en niños como en adultos. La falta de higiene, la temperatura ambiente y la humedad moderadamente elevadas favorecen la infección, y la enfermedad es más frecuente en zonas rurales que en las ciudades (Faust, 1978; Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

Los pacientes que mueren de kala-azar están anémicos, y las lesiones principales se encuentran en el bazo, hígado, médula ósea, corazón, riñones y ganglios linfáticos. La enfermedad es una reticuloendoteliosis causada por las leishmanias al invadir el sistema reticuloendotelial. El periodo de incubación puede durar desde diez días hasta más de un año, pero por lo común es de dos a cuatro meses (Faust, 1978).

La Leishmaniasis Cutánea del Viejo Mundo:

Esta enfermedad también es conocida como Botón de Oriente, Botón de Alepo, entre otros. Es causada por *Leishmania tropica*, de la cual podemos mencionar las subespecies *L. tropica major*, *L. tropica minor* y *L. aethiops*. El vector típico de estas es *P. papatasi*.

La enfermedad se presenta en tres formas principales. La forma rural, causada por *L. major*, es una infección del gerbil del desierto (*Rhombomys opimus*), el cual infecta al hombre en áreas inhabitadas o villas a orillas del desierto (en algunos casos la tasa de infección puede llegar al 100%). La forma urbana, causada por *L. tropica*, es una infección del hombre y del perro, afectando al primero en las grandes ciudades del Medio Oriente (En Delhi, el 40 a 70% de los residentes europeos se vieron afectados, en 1864). La tercera forma, causada por *L. aethiops*, es una infección del antílope, el cual se halla en áreas altas de Etiopía, África del Este y Sudáfrica (Fig. 25).

La patología de esta enfermedad consiste en un granuloma infeccioso en la dermis. Se pueden formar focos de necrosis o formación de tubérculos (esto se ve frecuentemente en Italia, Irán, Egipto, Israel, Jordán y Nigeria). Pueden ocurrir también lesiones en los ojos (Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

La Leishmaniasis Cutánea del Nuevo Mundo:

También conocida como Leishmaniasis Americana, Espundia, entre otros. Consiste en un granuloma ulceroso de la piel, y a veces de las áreas mucocutáneas, como resultado de la infección con diferentes especies de *Leishmania* que tienen como hospederos a roedores de bosques. Hay dos complejos principales: *L. mexicana* y *L. braziliensis*.

La leishmaniasis americana se encuentra desde Texas hasta Centro y Sudamérica (Fig. 25), llegando hasta el norte de Argentina. Es una enfermedad rural, común en hombres que trabajan en los bosques (es una zoonosis). Los animales hospederos son pequeños roedores y otros mamíferos más grandes. Los vectores son de los géneros *Lutzomyia* y *Psychodopygus* (Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

L. braziliensis braziliensis es la causa de la Espundia en Brasil, Perú, Ecuador, Bolivia, Paraguay y el norte de Argentina. Se sabe poco acerca de los animales hospederos, aunque se ha encontrado en el roedor *Orizomys concolor*. Los principales vectores son *Lu. pessoai*, *Lu. intermedia* y *Psychodopygus wellcomei*. La Espundia es una infección rural que se ha convertido en Brasil en un problema grave. En Paraguay llegó a afectar al 70-80% de gran parte de la población (Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

La Leishmaniasis en México:

Las leishmaniasis en México se distribuyen al menos en 17 entidades, desde Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas por el norte, hasta la Península de Yucatán y Chiapas al sureste. Por el Golfo involucra los estados de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo y por el Pacífico los de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco y Nayarit. También afecta estados mediterráneos como San Luis Potosí, Morelos y Puebla (Fig. 26).

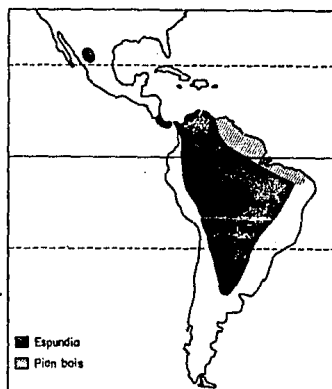
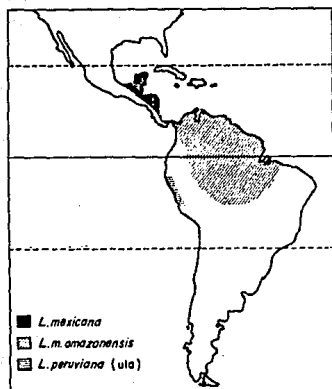
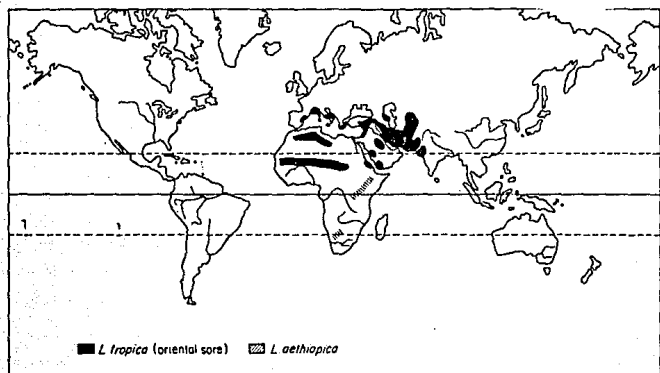


Fig. 25. Superior: Distribución geográfica de *L. tropica* y *L. aethiopica* Inferior: Distribución geográfica de *L. mexicana*, *L. m. amazonensis*, *L. peruviana* (izquierda), y *L. braziliensis* (derecha) (Tomado de Manson-Bahr, et al., 1983).



Fig. 26. Distribución geográfica de las especies de *Leishmania* en México (Tomado de Castrejón, 1991).

L. mexicana mexicana causa la Úlcera de chicleros en Yucatán. Se ha encontrado en cinco roedores: la rata de árbol (*Orizomys capito*), *Otiotylomys phyllotis*, *Heteromys desmarestianus*, el ratón de bolsillo (*Nyctomys sumichrasti*) y *Stenomodon hispidus*. El vector es *Lutzomyia olmeca*, pariente cercano de *Lu. flaviscutellata*, la cual no muerde al hombre en estas regiones. Esta enfermedad es común en colectores de chicle y leñadores. Otros vectores en México son *Lu. longipalpis* (Cuenca del Balsas), *Lu. cruzi* (Oaxaca) y *Lu. diabolica* (Noreste) (Castrujón, 1991).

LA TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

El descubridor de la Tripanosomiasis americana ó Enfermedad de Chagas, Carlos Chagas, describió los elementos clínicos, anatómico-patológicos y epidemiológicos de esta enfermedad, y reconoció, tanto al protozoo flagelado *T. cruzi* como el agente etiológico, como al vector triatomino de este parásito. Esta enfermedad se encuentra actualmente distribuida en todos los países de América Central y Sudamérica, siendo en esta última región un serio foco de infección (Fig. 27).

La Organización Mundial de la Salud estimó en 1960 que unos 7 millones de personas estaban infectadas y 30 millones expuestas a la infección. Para 1982 la OMS estimó unos 20 millones de personas con infección crónica y 5 millones en riesgo de infección. A pesar de que esta enfermedad es una zoonosis típica (en donde el hombre teóricamente es un hospedero accidental), el hombre, sin embargo, no debe ser considerado un hoperdo accidental, sino que, por el contrario, hay tanta gente infectada que esta es la enfermedad más peligrosa y distribuida de Latinoamérica (Manson-Bahr, *et al.*, 1983; Böker, *et al.*, 1984; Trager, 1986).

Más de 110 especies de insectos chupadores de sangre de la familia Triatomidae actúan como vectores de *Trypanosoma cruzi*, los cuales colonizan con frecuencia las casas pobres (típicamente de paja o adobe), saliendo en la noche de recovecos en las paredes para alimentarse de los hospederos mientras duermen. Ejemplos de insectos vectores eficientes son *Panstrongylus megistus*, *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus*, los cuales infectan dependiendo de la región: en Argentina, Uruguay y Chile el vector común es la chinche "vinchuca", *Triatoma infestans*; en Brasil lo son *T. infestans*, *T. sordida*, *T. brasiliensis* y *Panstrongylus megistus*; en Venezuela,

parte norte de Sudamérica y Centroamérica, *Rhodnius prolixus*; en México, especies del grupo *T. protracta-phylosoma-pallidipennis*. Sin embargo, se ha visto que *T. cruzi* puede ser transmitido por otros triatómidos, como lo es el caso de *T. sanguisuga* en Estados Unidos. Aunque los insectos pueden recibir al parásito del hombre, también son infectados por animales reservorios, entre los que hay varios tipos de animales salvajes, tales como armadillos, zarigüeyas, murciélagos, ratas de campo y mapaches, y animales domésticos, como perros, gatos y cerdos, entre otros. Además de transmitir a *T. cruzi*, los triatómidos pueden actuar como vectores de otros tripanosomátidos, como *T. rangeli* y *Blastocrithidia triatominae*, los cuales son de interés debido a su patogenicidad en el insecto vector (Faust, 1978; Manson-Bahr, *et al.*, 1983; García, *et al.*, 1991).

Además de la transmisión por el insecto vector, *T. cruzi* también puede transmitirse congénitamente. Se han encontrado parásitos en infantes de 15 días en Argentina, así como en fetos y bebés prematuros. *T. cruzi* también puede entrar accidentalmente a través de la conjuntiva del ojo, o por abrasiones en la piel, así como por transfusiones sanguíneas. La patología de la infección consiste esencialmente en la destrucción de células del sistema reticuloendotelial y de otros tejidos del cuerpo por el crecimiento y la multiplicación de los parásitos dentro de las células. Prácticamente cualquier órgano del cuerpo puede ser invadido, pero particularmente expuestas están las células del sistema reticuloendotelial, el músculo cardíaco y las células de la neuroglia del sistema nervioso central (Faust, 1978; Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

A pesar de que *T. cruzi* ha sido conocido durante largo tiempo, el conocimiento de la relación que guarda con el parásito sigue siendo sumamente limitado (García, *et al.*, 1991).

La Tripanosomiasis en México:

En 1990 se reportaron alrededor de 300 casos agudos comprobados y nuevos estados iniciaron su aportación de este tipo de casos, como Aguascalientes, Colima, Campeche, Durango, Guanajuato, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí y Sinaloa. En otros la casuística se incrementó, como en Jalisco, Veracruz, Oaxaca, Zacatecas, Nayarit y Chiapas (Fig. 28). En contraste con estas cifras, se calculan alrededor de 3 millones de infectados en México, con base en los resultados de las encuestas seroepidemiológicas realizadas en áreas endémicas (Castrejón, 1991).

LA TRIPANOSOMIASIS AFRICANA

La Tripanosomiasis Africana ó Enfermedad del Sueño es causada por *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* y *T. brucei*, esta última de gran importancia en el hombre, con tres subespecies, *T. brucei brucei*, *T. brucei rhodesiense* y *T. brucei gambiense*. Los insectos vectores son las moscas tsé-tsé, que corresponden al género *Glossina*, de los que hay unas 34 especies conocidas, la mayoría de las cuales no son transmisoras de esta enfermedad. Las especies transmisoras corresponden al grupo de la Enfermedad del Sueño Rhodesiense (*G. morsitans*, *G. swynnertoni* y *G. pallidipes*) y al grupo de la Enfermedad del Sueño Gambiana ó tsé-tsé de río (*G. palpalis*, *G. tachinoides* y *G. fuscipes*) (Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

La Tripanosomiasis Africana se encuentra en Africa Oriental, Africa Occidental y Africa Central, entre los paralelos 20N y 20S. La Variedad Gambiana se encuentra en Africa Occidental, Zaire, la región sur de Sudán y en Uganda, con los principales focos de infección a lo largo del Congo y del Níger. La Variedad Rhodesiense se encuentra principalmente en Africa Oriental y Africa Central (Fig. 27). Las moscas tsé-tsé infestan 1/3 del continente africano (10.5^{10} km² de 30^{10} km² totales), y evitan el desarrollo de la agricultura y el pastoreo en grandes áreas del Sahara (Manson-Bahr, *et al.*, 1983). Es curioso notar que aunque las moscas tsé-tsé tienen velocidades de hasta 15 millas/hr, su tasa de dispersión es sólo de 200 yardas por semana; es decir, tienden a ser locales (los machos hambrientos vuelan únicamente unos 10 a 15 minutos por día).

Las moscas tsé-tsé muestran una distinta jerarquía de preferencia por hospederos, y el hombre prácticamente nunca está en lo más alto de esta jerarquía. Se ha encontrado que entre las moscas picadoras predominan los machos (llegan hasta un 80% de frecuencia); esto se explica porque los machos muestran un "apetito sexual" en respuesta a objetos en movimiento, antes de que se acerquen a alimentarse. Se presentan grandes congregaciones de machos cerca de hospederos potenciales en movimiento y cuando llegan las hembras a alimentarse, se produce el apareo simultáneamente con la alimentación. La actividad de alimentación en las moscas es mínima en sus primeras 24 hrs de vida, pero se incrementa progresivamente en el segundo y tercer día, donde es muy probable que ya hayan recibido su primer alimento. Los machos no son fértiles hasta los días 4 a 7, y la musculatura de vuelo no se desarrolla completamente hasta que no se han recibido dos o tres comidas de sangre.

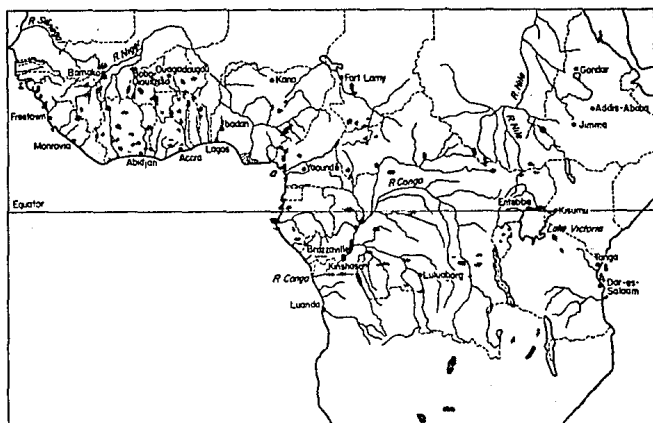


Fig. 27. Superior: Incidencia de la Enfermedad de Chagas en Sudamérica, América Central y México. Inferior: Distribución de la Tripanosomiasis Africana (Tomado de Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

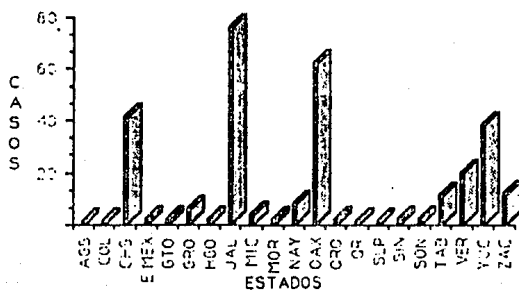


Fig. 28. Casos agudos de Enfermedad de Chagas en México en 1990 (Tomado de Castrejón, 1990).

T. b. gambiense es transmitido por las tsétsé de río *G. palpalls* y *G. tachnoides* en regiones donde el hombre y la mosca se encuentran en contacto cercano, como cruces de ríos, villas a la orilla de ríos y pequeños lagos frecuentados por el hombre. Predominan los pescadores infectados sobre todo. Se han dado grandes epidemias en el pasado. La transmisión mecánica directa se realiza por la probóscide sucia de la mosca que, después de haber interrumpido su alimentación en una persona infectada, pica a una sana en el término de 2 a 3 horas. Este método de transmisión puede ser a veces de gran importancia durante las epidemias, cuando se encuentran en gran número individuos infectados, individuos sanos y moscas. La forma ordinaria de transmisión es la picadura de la mosca cuando el tripanosoma ha llegado a su fase metacíclica de infección en el insecto. En condiciones de temperatura y humedad que pueden ser variables, este proceso puede durar desde doce hasta treinta días (por lo general, unos 20 días). Menos del 10% de las moscas se tornan infectantes después de haber ingerido al tripanosoma. La transmisión congénita no se da en la mosca, pero en el hombre se han reportado algunos casos. No se ha demostrado la existencia de hospederos reservorios para *T. b. gambiense*, aunque se sabe que la infección se presenta en ganado, cerdos y cabras, sin manifestar enfermedad alguna (Faust, 1978; Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

T. b. rhodesiense no se encuentra realmente bien adaptado al hombre y es transmitido principalmente entre animales por *G. morsitans*, *G. pallidipes* y *G. swynnertoni*. Por lo tanto, la prevalencia en las zonas endémicas es menor que la provocada por *T. b. gambiense*. Es más frecuente en hombres que en mujeres, y también es más evidente entre los pescadores, aunque hay notable incidencia en la cercanía con arbustos y bosques. El hombre es infectado esporádicamente cuando hay triple contacto entre él, el hospedero reservorio y la mosca. En Tanzania hubo epidemias severas en los 20s y 30s. Sin embargo, las epidemias han resurgido últimamente (En 1980 hubo un notable incremento de enfermedades en Kenia, llegando a 68 casos en ese año, más que el total de enfermedades en los 5 años anteriores). Esto es debido a que la abundancia y distribución de las tsétsé depende de factores ecológicos complejos, como la abundancia de animales salvajes, la densidad de poblaciones humanas y las prácticas de agricultura del hombre. Las actividades del hombre y las densidades crecientes de población han restringido a la tsétsé a los mismos lugares frecuentados por el hombre, incrementando el contacto mosca-hombre (sin embargo, a densidades de población aún mayores, como las ciudades, las tsétsé son destruidas, situación bien diferente a lo que ocurre con los mosquitos anófeles) (Trager, 1986).

El desarrollo de *T. b. rhodesiense* dentro de la mosca es controlado por la temperatura. Se ha visto también que la actividad de alimentación de la mosca se da a temperaturas del aire arriba de los 18°C. Entre los animales más atacados por *G. morsitans* y *G. swynnertoni* en Africa Oriental (de

40 hasta el 80% de alimentación) están el facoquero (*Phacochoerus aethiopicus*) y el rinoceronte, seguidos de rumiantes, como el antilope, el búfalo, el ciervo y la jirafa.

La Tripanosomiasis Africana se caracteriza por fiebre crónica irregular, erupciones en la piel, edema local, letargia mental y física y la muerte. Las lesiones principales se dan en las glándulas linfáticas del cuello, en el mesenterio y en el sistema nervioso central. *T. b. rhodesiense*, aunque menos común, suele ser mortal y mucho más rápido en su acción que *T. b. gambiense* (Faust, 1978; Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

LA MALARIA

El nombre malaria se deriva del italiano mal aria, que significa mal aire. La enfermedad también es conocida como Paludismo, del latín palus, que significa pantano o marisma. Estos nombres reflejan la idea antigua que se tenía de que la enfermedad se contraía por la niebla, la cual surgía de los pantanos.

En la segunda mitad del siglo pasado, la malaria era endémica en dos terceras partes del mundo habitadas por el hombre. En 1957 la Organización Mundial de la Salud empezó la campaña mundial para erradicar esta enfermedad. Para 1970 la población libre del riesgo de contraer la malaria se había incrementado de 400 millones a 1200 millones (en 1953, Manila y Tailandia tuvieron 200,000 casos de enfermedades). Actualmente la malaria se ha erradicado de Europa, casi todo Norteamérica, gran parte del Caribe, zonas de Sudamérica, Australia, Singapur, Japón, Corea y Taiwán (Fig. 29) (Manson-Bahr, *et al.*, 1983). Sin embargo, la malaria sigue siendo la enfermedad más frecuente en la población humana del mundo (se reportaron 2.5 millones de casos entre 1956 y 1989, el 70% de ellos en Asia) (Trager, 1986). Para 1992 la OMS reportó a 2073 millones en riesgo de infección, 270 millones infectados, 110 millones de enfermos y 1 millón de muertes (el Instituto Médico de Kenia eleva estos números a 400 millones de personas infectadas y a 2 millones de muertes).

La malaria es transmitida de hombre a hombre por los mosquitos *Anopheles*, de los cuales hay cientos de especies. También puede ser transmitida por accidente, es decir, por transmisión de

sangre infectada de una persona a otra. La transmisión congénita también ocurre, y de hecho en las epidemias de malaria el aborto se presenta con relativa frecuencia.

La epidemiología es resultante de varios factores, los cuales abarcan al hombre, al parásito y al insecto vector. Así, vemos que juegan un papel importante la inmunología de la población humana, así como sus hábitos de vivienda; también intervienen la disponibilidad de agua para la cría de los mosquitos, la cual depende grandemente del clima y la época, de las lluvias y de la temperatura. La efectividad de los vectores, así como su longevidad son también factores importantes en la epidemiología, así como la cantidad de parásitos inoculados al hombre y la disponibilidad de éste último para ser picado (Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

La anatomía patológica del paludismo es característica. Debido a la destrucción de los glóbulos rojos por los plasmodios, la sangre demuestra siempre una anemia secundaria; el cerebro se encuentra congestionado, los capilares distendidos, las arteriolas pequeñas, tortuosas y con engrosamiento. El bazo, el hígado y la médula ósea están intensamente afectados. La condición se agrava paulatinamente hasta llegar al estado de choque, el cual aparece en el paludismo grave agudo (Faust, 1978).

La Malaria en México:

A mediados del presente siglo esta enfermedad era la quinta causa de mortalidad en el país. A pesar de la campaña de erradicación, durante 1983 a 1989 se reportaron más de 100,000 casos anualmente (Fig. 30). En los últimos 3 años, la Secretaría de Salud, a través de la campaña contra el paludismo, introdujo el Programa de Actividades Intensivas Simultáneas (PAIS) en las localidades afectadas. El número de casos se ha reducido significativamente (Cerón, 1992).

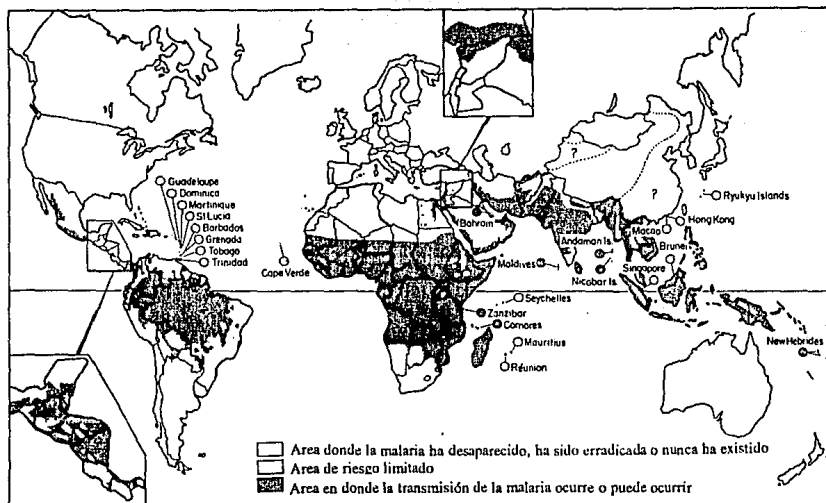
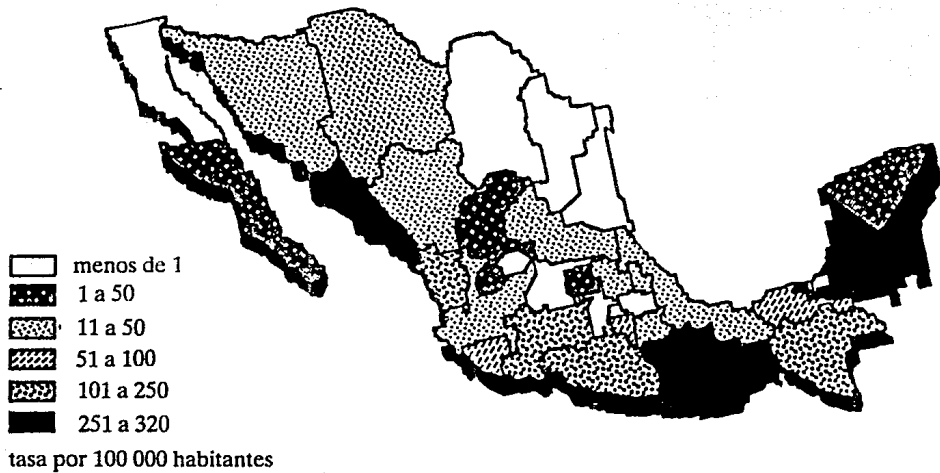


Fig. 29. Distribución de la malaria en Diciembre de 1978 (OMS, 1980) (Tomado de Manson-Bahr, *et al.*, 1983).

Fig. 30. Distribución geográfica del Paludismo en México durante 1990 (Tomado de Cerón, 1992).



LA ONCOCERCOSIS

Cuando Blacklock describió por vez primera el desarrollo de *Onchocerca volvulus* en *Simulium damnosum* en 1926, la percepción que se tenía de las moscas negras como simples mordedoras cambió a vectores potenciales de enfermedades humanas. Las moscas negras (Diptera: Simuliidae) tienen varios sinónimos: Simulium, simúlidos, borrachudos, jejenes, moscas de la arena.

Entre 1932 y 1975 se realizaron unos 45 intentos en África y América Tropical, con éxitos variables de control de la Oncocercosis en localidades específicas. Muchos de estos dieron conocimientos de los hábitats y distribución local de estos vectores. Estos estudios culminaron en 1975 con el ambicioso Programa de Control de la Oncocercosis (OCP), realizado por la Organización Mundial de la Salud, el cual actualmente controla la enfermedad en gran parte de África Occidental, mediante el ataque al insecto vector. El conocimiento de las moscas negras se ha incrementado considerablemente a partir de ese momento. Sin embargo, aunque en los últimos 15 años la OCP ha dominado la investigación y ataque contra esta enfermedad, sus actividades han sido enfocadas contra un solo complejo de especies, mientras que hoy en día se reconocen unas 1550 especies de este insecto vector (Edungbola, 1991).

La oncocercosis es una enfermedad endémica de países en desarrollo de África Tropical y América. No se encuentra esta enfermedad en ningún país desarrollado. De un número estimado de 86 millones de personas en países en vías de desarrollo con riesgo de contraer oncocercosis, unos 18 millones están infectados. Más del 99% de estas personas infectadas viven en 27 países en África, y el resto en 6 países en Latinoamérica y el Yémen (Fig. 31). La oncocercosis es importante debido a su capacidad de causar la ceguera del río. Se estima que unas 340 000 personas son ciegas debido a esta enfermedad, y un número similar sufren de severa deficiencia visual.

Los vectores en África son las subespecies de los complejos *Simulium damnosum* y *S. neavei*. Suelen vivir en ríos largos donde haya una velocidad adecuada del agua (60 a 250 cm/seg), con un suministro adecuado de comida, y con lugares adecuados para fijarse (profundidades no mayores de los 15 cm abajo de la superficie del agua). *S. damnosum* puede volar hasta 300 km para alimentarse, invadir nuevas áreas durante el tiempo de lluvias, y para establecer nuevas colonias.

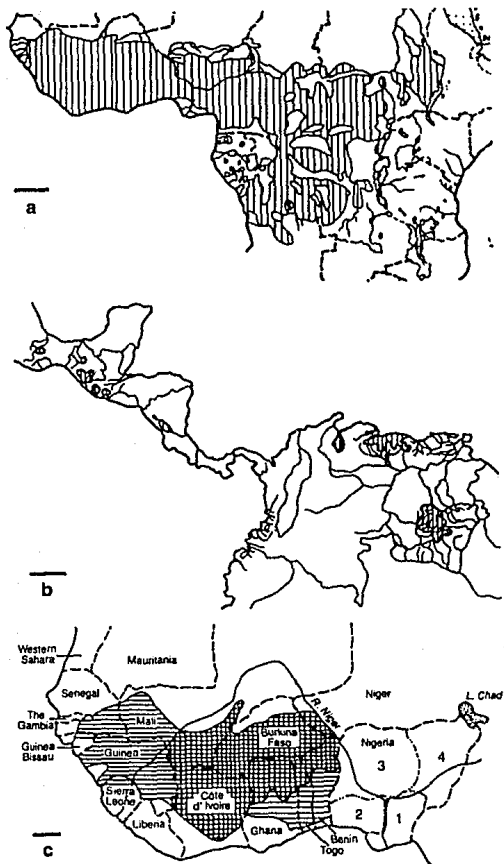


Fig. 31. Distribución geográfica de la *Oncocercosis* en Africa y la Península arábiga (a), y América Central y Sudamérica (b). Las zonas de cobertura de los planes OCP y NOCP se muestran (c) con 1, 2, 3 y 4 representando las 4 zonas principales. *Oncocercosis* endémica = rayas verticales; extensión hacia el sur y hacia el oeste = rayas horizontales; área principal de proyección = rayas cruzadas. Escala de 400 km (a y b) y 200 km (c) (Tomado de Edungbola, 1991).

De todos los países del Mundo, Nigeria tiene el mayor número de personas con oncocercosis, siendo ahora cerca de un tercio de los 18 millones estimados de personas infectadas a nivel mundial. Entre los factores causantes de esto están: el gran tamaño del país y la gran población; las condiciones de vida en muchas partes del país las cuales favorecen la transmisión y dificultan las operaciones de control a gran escala; la ausencia, hasta recientemente, de algún tipo de esfuerzo mundial de control y el hecho de que Nigeria no fue incluida en el exitoso Programa de Control de la Oncocercosis (OCP) en Africa Occidental.

En Nigeria se encuentran actualmente unos 7 millones de personas infectadas, 40 millones viviendo en áreas con riesgo de infección, unos 120 000 casos de ceguera y muchos miles con otras complicaciones de la enfermedad. Así, la oncocercosis es una enfermedad pública de gran importancia y un problema socioeconómico de gran nivel. Por estos motivos, el Programa de Control de la Oncocercosis en Nigeria (NOCP) se inició en 1986 (Edungbola, 1991).

La oncocercosis en México:

En México y Guatemala el vector principal de la Oncocercosis es *S. ochraceum*, el cual se alimenta en pequeños flujos de agua entre altitudes de 500 y 1500 m. La principal zona de transmisión ocurre a altitudes entre los 750 y los 1500 m, cerca de las plantaciones de café (Manson-Bahr, *et al.*, 1983). Existen tres áreas principales de contagio en México: dos en Chiapas y una en Oaxaca. Para 1977 se habían reportado 15,500 casos en estos lugares. Desde esa fecha los casos han disminuido considerablemente (Lamothe, 1988).

LA FIEBRE AMARILLA

La fiebre amarilla se ha presentado en epidemias desde hace centenares de años, sobre todo en Africa Ecuatorial y América del Sur, aunque ha habido epidemias en América del Norte y América Central. La enfermedad se considera que ha sido causa de la decadencia de las primeras civilizaciones en Centroamérica y, en tiempos más recientes, interrumpió la construcción del Canal de Panamá hasta que pudieron controlarse los mosquitos vectores. Se han presentado enormes epidemias, como la de Sudán en 1940 (con 17.000 casos reportados y un índice de fatalidad del

10%) y la de Etiopia en 1960-62 (con 15,000 y posiblemente 30,000 muertes). En estos dos últimos casos el virus fue encontrado en *Ae. simpsoni*, *Ae. africanus* y *Ae. dentatus*, y en el mono *Colobus abyssinicus*. Se cree que África Oriental fue la cuna de este virus, el cual fue transportado a América. No se han presentado casos en Europa debido a la ausencia de mosquitos relevantes. Tampoco se han reportado casos en Asia (debido al estricto control de inmigrantes) ni en Australia (Manson-Bahr, *et al.*, 1983; Bowman, *et al.*, 1985).

A pesar de la disponibilidad de vacunas efectivas contra esta enfermedad en los últimos 50 años, sigue siendo una causa importante de mortalidad en varias regiones tropicales. Últimamente ha resurgido *Ae. aegypti* en regiones donde ya había sido eliminado, lo cual ha provocado la urbanización de la fiebre amarilla en ciudades bastante pobladas. Un ejemplo concreto es la reciente epidemia en Nigeria, la más grande en África en las últimas cuatro décadas. Esto indica la presencia de una gran cantidad de individuos no vacunados y una carencia de fuentes de agua entubada (la gente almacena el agua en sus hogares, lo que provoca un aumento de hábitats para las larvas de los mosquitos) (Miller, *et al.*, 1991).

La enfermedad se caracteriza por fiebre, necrosis en hígado y riñón, con hemorragia en formas diversas. Hay dos tipos epidemiológicos, la "fiebre amarilla urbana" tiene el hombre como hospedero y se transmite por *Ae. aegypti*, relativamente fácil de erradicar en zonas urbanas. La "fiebre amarilla de la jungla" se transmite entre los monos y al hombre por especies de *Haemagogus*, mosquito de América del Sur, y por especies de *Aedes* (que no son *Ae. aegypti*) en África. Es imposible controlar estos mosquitos y la enfermedad sigue siendo una amenaza para individuos no inmunizados que penetran en los bosques húmedos (Bowman, *et al.*, 1985).

EL DENGUE

Después de la fiebre amarilla, el dengue es el que ha causado el mayor número de muertes causadas por un arbovirus. Se le asocia con condiciones urbanas en trópicos y zonas subtropicales, y con la abundancia de *Ae. aegypti* alimentándose en contenedores domésticos de agua. Se presentó una epidemia en Manila (1953), extendiéndose a Tailandia (150,000 a 200,000 casos) y a Vietnam del Sur (1963). Es una enfermedad de caracterizada por fiebre y dolor difuso. A veces se denomina "fiebre quebrantahuesos", otras veces "síndrome del shock", el cual fue reportado por

primera vez en Jamaica en 1978. La enfermedad no es conocida en su totalidad. Se habla de varios mecanismos de daño celular dentro del hombre, y también de una posible patología, en la que se dan dos infecciones consecutivas, siendo la primera infección un proceso de sensibilización del paciente a la segunda infección. Se cree que es necesario un periodo de 6 meses entre estas dos infecciones. Los mecanismos que provocan el daño celular son desconocidos, pero parece ser que el inicio del shock es definitivamente causado por el arbovirus (Manson-Bahr, *et al.*, 1983). La incidencia del dengue se ha incrementado dramáticamente en los últimos años con la urbanización. Se han reportado 2.5 millones de casos entre 1956 y 1989. En la última década el 70% de estos casos fue reportado en Asia, aunque con un incremento en América (Leake, 1992).

El Dengue en México:

Los primeros casos de dengue en México se reportaron en Tapachula en 1978. Para 1980 y 1982 se reportaron más casos en León y en el norte de la República. Felizmente, para 1988, la cantidad de casos en México fue de 0 (Kumate, 1984; IMSS, 1988).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alger, N.E., Harant, J.A., Willis, L.C., Jorgensen, G.M. 1972. Sporozoite and normal salivary gland induced immunity in Malaria. *Nature*. 238: 341.
- 2.- Alvarenga, N.J., Leite, M.A.B. 1982. Injection of *Trypanosoma cruzi* into the gut of triatomine bugs: number required to infect the vector. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76: 708-709.
- 3.- Arnot, D.E. 1990. Polymorphism in the Circumsporozoite Protein and Anti-sporozoite Malaria Vaccines. *Parasitol. Today*. 6 (3): 64-65.
- 4.- Ash, C. 1991. Memorable Responses. *Parasitol. Today*. 7 (1): 1-2.
- 5.- Ashida, M., Yamazaki, H. 1990. in Moulting and Metamorphosis. Ohnishi, E., Ishizaki, A., eds. Japan Sci. Soc. Press. pp. 239-265.
- 6.- Bacz, M.M. 1979. Manual de Parasitología Médica. 2a ed. México. 451 pag.
- 7.- Barnes, R.D. 1986. Zoología de los Invertebrados. Ed. Interamericana. México, D.F. 1157 pag.
- 8.- Beaty, B.J., Miller, B.R., Shope, R.E., Rozhon, E.J., Bishop, D.H.L. 1982. Molecular basis of bunyavirus per os infection of mosquitoes: role of the middle-sized RNA segment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 79: 1295-1297.
- 9.- Besansky, N.J., Collins, F.H. 1992a. The mosquito genome: organization, evolution and manipulation. *Parasitol. Today*. 8 (6): 186-192.
- 10.- Besansky, N.J., Finnerty, V., Collins, F.H. 1992b. Molecular perspectives on the genetics of mosquitoes. In: *Advances in Genetics*. Vol. 30. Academic Press. pp. 123-184.
- 11.- Bishop, D.H.L., Shope, R.E. 1979. in *Comprehensive Virology*. (Vol. 14). Fraenkel-Conrat, H., Wagner, R.R., eds. Plenum Press. pp. 1-156.
- 12.- Blacklock, D.B. 1978. The insect transmission of *Onchocerca volvulus*. In: *Tropical Medicine and Parasitology. Classic Investigations*. Vol. II. Cornell Univ. Press. USA. pp. 451-457.

- 13.- Bogdan, C., Rollinghoff, M., Solbach, W. 1990. Evasion Strategies of *Leishmania* Parasites. *Parasitol. Today*. 6(6): 183.
- 14.- Böker, C.A., Schaub, G.A. 1984. Scanning electron microscopic studies of *Trypanosoma cruzi* in the rectum of its vector *Triatoma infestans*. *Z. Parasitenkd.* 70: 459-469.
- 15.- Bonaldo, M.C., Souto-Padron, T., de Souza, W., Goldenberg, S. 1988. Cell-substrate adhesion during *Trypanosoma cruzi* differentiation. *J. Cell Biol.* 106: 1349-1358.
- 16.- Bowman, W.C., Rand, M.J. 1985. Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Ed. Interamericana. 2a ed., México, D.F.
- 17.- Bowman, H.G., Hultmark, D. 1987. Cell-free immunity in insects. *Annu. Rev. Microbiol.* 41: 103-126.
- 18.- Brinton, M.A. 1986. in *The Togaviridae and Flaviviridae*. Schlessinger, S., Schlessinger, M.J., eds. Plenum Press. pp. 327-374.
- 19.- Carter, R., Miller, L.H., Rener, J., Kaushal, D.C., Kumar, N., Graves, P.M., Grotendorst, C.A., Gwadz, R.W., French, C., Wirth, D. 1984. Target antigens in malaria transmission blocking immunity. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* 307: 201-213.
- 20.- Casals, J. 1967. Classification of Arboviruses and delineation of clinically important types. *Proc. 1st. Int'l. Conf. on Vaccines against viral and rickettsial diseases of man.* pp. 243-251.
- 21.- Castrejón, O.V. 1991. La Enfermedad de Chagas. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. México, D.F. pp. 15-25.
- 22.- Castrejón, O.V. 1991. Las Leishmaniasis. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. México, D.F. pp. 12-18.
- 23.- Cerón, L.G. 1992. *Plasmodium vivax*: identificación de proteínas compartidas entre el esporozoito y la fase hepática, diferentes de la proteína circunsporozoítica. CINVESTAV. México, D.F. pp. 1-4.
- 24.- Cheng, T.C. 1973. *General Parasitology*. Academic Press. 1st ed. USA. 965 pag.
- 25.- Christensen, B.M., Forton, K.F. 1986. Hemocyte - mediated melanization of microfilariae in *Aedes aegypti*. *J. Parasitol.* 72: 220-225.

- 26.- Collins, F.H., Sakai, R.K., Vernick, K.D., Paskewitz, S., Seeley, D.C., Miller, L.H., Collins, W.E., Campbell, C.C., Gwadz, R.W. 1986. Genetic selection of a *Plasmodium* - refractory strain of the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Science*. 234: 607-610.
- 27.- Coluzzi, M. 1992. Malaria vector analysis and control. *Parasitol. Today*. 8: 113-118.
- 28.- Cox, F.E.G. 1982. *Modern Parasitology*. Blackwell Scientific Publications. Oxford London. 346 pag.
- 29.- Daniel, T.L., Kingsolver, J.G. 1983. Feeding strategy and the mechanics of blood sucking in insects. *J. Theor. Biol.* 105: 661-672.
- 30.- Davies, C.R. 1990. Interrupted feeding of blood-sucking insects: causes and effects. *Parasitol. Today*. 6 (1): 19-22.
- 31.- DeFoliart, G.R., Grimstad, P.R., Watts, D.M. 1987. Advances in mosquito-borne arbovirus / vector research. *Annu. Rev. Entomol.* 32: 479-505.
- 32.- Duke, B.O.L. 1990. Onchocerciasis (River Blindness) - Can it be Eradicated? *Parasitol. Today*. 6 (3): 82-84.
- 33.- Dye, C. 1990. Epidemiological significance of vector-parasite interactions. *Parasitology*. 101: 409-415.
- 34.- Edungbola, L.D. 1991. Onchocerciasis Control in Nigeria. *Parasitol. Today*. 7 (5): 97-99.
- 35.- Enzmann, P.J. 1987. in *Arboviruses in Arthropod cells in vitro*. (Vol. II). Yunker, C.E., ed. CRC Press. pp. 53-76.
- 36.- Faust, E.C. 1978. *Parasitología Clínica*. Salvat Ed. Barcelona, España. 888 pag.
- 37.- Feldmann, A.M., Billingsley, P.F., Savelkoul, E. 1990. Bloodmeal digestion by strains of *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) of differing susceptibility to *Plasmodium falciparum*. *Parasitology*. 101: 193-200.
- 38.- Garcia, E.S., Dvorak, J.A. 1982. Growth and development of two *Trypanosoma cruzi* clones in the arthropod *Dipetalogaster maximus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31 (2): 259-262.
- 39.- Garcia, E.S., Azambuja, P. 1991. Development and interactions of *Trypanosoma cruzi* within the insect vector. *Parasitol. Today* 7 (9): 240-244.

- 40.- Georghiou, G.P. 1991. New developments in biochemistry and genetics of vector resistance to pesticides and their relevance to solving control problems. In: World Health Organization. Geneva, 5-12 March 1991.
- 41.- Gillett, J.D. 1967. Natural selection and feeding speed in a blood-sucking insect. Proc. R. Soc. London Ser. B. 167: 316-329.
- 42.- Gooding, R.H. 1992. Genetic variation in tsetse flies and implications for trypanosomiasis. Parasitol. Today. 8 (3): 92-95.
- 43.- Gotz, P., Vey, A. 1974. Humoral encapsulation in Diptera (Insecta): defense reactions of *Chironomus* larvae against fungi. Parasitology. 68: 193-205.
- 44.- Greenwood, J., Willis, A.E., Perham, R.N. 1991. Multiple display of foreign peptides on a filamentous bacteriophage - peptides from *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein as antigens. J. Mol. Biol. 220 (4): 821-827.
- 45.- Gubler, D.J., Rosen, L. 1976. A simple technique for demonstrating transmission of dengue virus by mosquitoes without the use of vertebrate hosts. Am. J. Trop. Med. Hyg. 25 (1): 146-150.
- 46.- Gubler, D.J., Novak, R., Mitchell, C.J. 1982. Arthropod vector competence: epidemiological, genetic and biological considerations. Steiner, W.W.M., Tabachnick, W.J., Rai, K.S., eds. Recent developments in the genetics of insect disease vectors. Champaign, IL. Stipes, 326-335.
- 47.- Hadley, T.J., Klotz, W.F., Miller, L.H. 1986. Invasion of erythrocytes by malaria parasites: a cellular and molecular overview. Annu. Rev. Microbiol. 40: 451-477.
- 48.- Hardy, J.L., Houk, E.J., Kramer, L.D., Reeves, W.C. 1983. Intrinsic factors affecting vector competence of mosquitoes for arboviruses. Annu. Rev. Entomol. 28: 229-262.
- 49.- Hardy, J.L. 1988. in The Arboviruses: Ecology and Epidemiology (Vol. I). Monath, T.P., ed. CRC Press. pp. 87-126.
- 50.- Hollingdale, M.R. 1987. in Host-parasite cellular and molecular interactions in Protozoal infections. Chang, K.P., Snary, D., eds. Springer-Verlag. pp. 321-327.
- 51.- Houk, E.J., Kramer, L.D., Hardy, J.L., Chiles, R.E. 1985. Western equine encephalomyelitis virus: in vivo infection and morphogenesis in mosquito mesenteron epithelial cells. Virus Res. 2: 123-138.

- 52.- Huber, M., Cabib, E., Miller, L.H. 1991. Malaria parasite chitinase and penetration of the mosquito peritrophic membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 88: 2807-2810.
- 53.- IMSS. 1988. Boletín estadístico anual de mortalidad, año 1988. México, D.F.
- 54.- James, A.A., Blackmer, K., Racioppi, J.V. 1989. A salivary gland-specific, maltase-like gene of the vector mosquito, *Aedes aegypti*. Gene. 75: 73-83.
- 55.- James, A.A., Rossignol, P.A. 1991a. Mosquito salivary glands: Parasitological and molecular aspects. Parasitol. Today. 7 (10): 267-271.
- 56.- James, A.A., Blackmer, K., Marinotti, O., Ghosn, C.R., Racioppi, J.V. 1991b. Isolation and characterization of the gene expressing the major salivary gland protein of the female mosquito, *Aedes aegypti*. Mol. Biochem. Parasitol. 44: 245-254.
- 57.- Jenni, L., Molyneux, D.H., Livesey, J.L., Galun, R. 1980. Feeding behaviour of tsetse flies infected with salivarian trypanosomes. Nature. 283: 383-385.
- 58.- Jenni, L., Marti, S., Schweizer, J., Betschart, B., Le Page, R.W.F., Wells, J.M., Tait, A., Paindavoiné, P., Pays, E., Steinert, M. 1986. Hybrid formation between African trypanosomes during cyclical transmission. Nature. 322: 173-175.
- 59.- Karabatsos, N., ed. 1985. International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates. Am. Soc. Trop. Med. Hyg.
- 60.- Killick-Kendrick, R., Molyneux, D.H. 1990. Interrupted feeding of vectors. Parasitol. Today. 6 (6): 188-189.
- 61.- Kirk, M.L., Schofield, C.J. 1987. Density-dependent timing of defaecation by *Rhodnius prolixus* and its implication for the transmission of *Trypanosoma cruzi*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 81: 348-349.
- 62.- Knell, A.J. 1991. Malaria. A publication of the Tropical Programme of the wellcome trust. Oxford Univ. Press. pp. 12-24.
- 63.- Kudo, R. 1982. Protozoología. Ed. Continental. 1a ed., México. 830 pag.
- 64.- Kumate, J., Gutiérrez, G. 1984. Manual de Infectología. Ed. Méndez Cervantes. 10a ed. México. 498 pag.

- 65.- Lamothe, A.R., García, P.L. 1988. Helminthiasis del hombre en México. AGT Ed. 1a ed. México. 139 pag.
- 66.- Leake, C.J. 1984. in Vectors in Virus Biology. Mayo, M.A., Harrap, K.A., eds. Academic Press. pp. 63-91.
- 67.- Leake, C.J. 1987a. in Arboviruses in Arthropod cells *in vitro* (Vol. II). Yunker, C.E., ed. CRC Press. pp. 25-42.
- 68.- Leake, C.J., Johnson, R.T. 1987b. The pathogenesis of Japanese encephalitis virus in *Culex tritaeniorhynchus* mosquitoes. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 81: 681-685.
- 69.- Leake, C.J. 1992. Arbovirus-Mosquito interactions and Vector specificity. Parasitol. Today. 8(4): 123-128.
- 70.- Levinc, N.D. 1982. Nueva clasificación de los Protozoarios. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp. 38.
- 71.- Lighthall, G.K., Giannini, S.H. 1992. The chromosomes of *Leishmania*. Parasitol. Today. 8 (6): 192-199.
- 72.- Manson-Bahr, P.E.C., Apted, F.I.C. 1983. Tropical diseases. 18th ed. Bailliere Tindall. London. 843 pag.
- 73.- Marinotti, O., James, A.A., Ribeiro, J.M.C. 1990a. Diet and salivation in female *Aedes aegypti* mosquitoes. J. Insect Physiol. 36 (8): 545-548.
- 74.- Marinotti, O., James, A.A. 1990b. An α -glucosidase in the salivary glands of the vector mosquito, *Aedes aegypti*. Insect Biochem. 20 (6): 619-623.
- 75.- Marsh, M., Helenius, A. 1989. Virus entry into animal cells. Adv. Virus Res. 36: 107-151.
- 76.- Marshall, A.J., Williams, W.D. 1980. Zoología Invertebrados. Ed. Reverte. 7a ed. España. 979 pag.
- 77.- Meade, J.C., Hudson, K.M., Stringer, S.L., Stringer, J.R. 1989. A tandem pair of *Leishmania donovani* cation transporting ATPase genes encode isoforms that are differentially expressed. Mol. Biochem. Parasitol. 33: 81-92. Brief note in: Parasitol. Today. 1990. 6 (1): 1.

- 78.- Meis, J.F.G.M., Pool, G., van Gemert, G.J., Lensen, A.H.W., Ponnudurai, T., Meuwissen, J.H.E.T. 1989. *Plasmodium falciparum* ookinetes migrate intercellularly through *Anopheles stephensi* midgut epithelium. Parasitol. Res. 76 (1): 13-19.
- 79.- Miller, B.R., Mitchell, C.J. 1991. Genetic selection of a flavivirus - refractory strain of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 45 (4): 399-407.
- 80.- Miller, N., Lehane, M.J. 1993. Peritrophic membranes, cell surface molecules and parasite tropisms within arthropod vectors. Parasitol. Today. 9 (2): 45-50.
- 81.- Mims, C.A., Day, M.F., Marshall, I.D. 1966. Cytopathic effect of Semliki Forest virus in the mosquito *Aedes aegypti*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 15: 775-784.
- 82.- Molyneux, D.H., Wallbanks, K.R., Ingram, G.A. 1987., in Host - Parasite cellular and molecular interactions in Protozoal infections. Chang, K.P., Snary, D., eds. Springer-Verlag. pp. 387-396.
- 83.- Monath, T.P., ed. 1988. The Arboviruses: Ecology and Epidemiology (Vols. I-IV). CRC Press.
- 84.- Munstermann, L.E. 1990. Gene map of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*, in Genetic Maps: Locus maps of Complex Genomes. 5th ed. O'Brien, S.J., ed., pp III179-III188, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- 85.- Nijhout, M.M. 1979. *Plasmodium gallinaceum*: exflagellation stimulated by a mosquito factor. Exp. Parasitol. 48: 75-80.
- 86.- Olsen, O.W. 1974. Animal Parasites. Their life cycle and ecology. Univ. Park Press. 3rd ed. 562 pag.
- 87.- Paskewitz, S.M., Brown, M.R., Lea, A.O., Collins, F.H. 1988. Ultrastructure of the encapsulation of *Plasmodium cynomolgi* (B Strain) on the midgut of a refractory strain of *Anopheles gambiae*. J. Parasitol. 74: 432-439.
- 88.- Paskewitz, S.M., Brown, M.R., Collins, F.H., Lea, A.O. 1989. Ultrastructural localization of phenoloxidase in the midgut of refractory *Anopheles gambiae* and association of the enzyme with encapsulated *Plasmodium cynomolgi*. J. Parasitol. 75 (4): 594-600.
- 89.- Pereira, M.E.A., Andrade, A.F.B., Ribeiro, J.M.C. 1981. Lectins of distinct specificity in *Rhodnius prolixus* interact selectively with *Trypanosoma cruzi*. Science. 211: 597-600.

- 90.- Pimenta, P.F.P., Turco, S.J., McConville, M.J., Lawyer, P.G., Perkins, P.V., Sacks, D.L. 1992. Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to the sandfly midgut. *Science*. 256: 1812-1815.
- 91.- Pochling, H.M., Meyer, W. 1980. Esterases and glycoproteins in the salivary glands of *Anopheles stephensi*. *Insect Biochem.* 10: 189-198.
- 92.- Rao, P.N., Rai, K.S. 1990. Genome evolution in the mosquitoes and other closely related members of the superfamily Culicoidea. *Hereditas*. 113: 139-144.
- 93.- Raymond, M., Pasteur, N. 1991. The mechanisms and significance of gene amplification in mosquito resistance. In: World Health Organization. Geneva, 5-12 March 1991.
- 94.- Ribeiro, J.M.C., Sarkis, J.J.F. 1982. Anti-thromboxane activity in *Rhodnius prolixus* salivary secretion. *J. Insect Physiol.* 28: 655-660.
- 95.- Ribeiro, J.M.C., Rossignol, P.A., Spielman, A. 1984. Role of mosquito saliva in blood vessel location. *J. Exp. Biol.* 108: 1-7.
- 96.- Ribeiro, J.M.C., Makoul, G.T., Levine, J., Robinson, D.R., Spielman, A. 1985a. Antihemostatic, antiinflammatory and immunosuppressive properties of the saliva of a tick, *Ixodes dammini*. *J. Exp. Med.* 161: 332-344.
- 97.- Ribeiro, J.M.C., Rossignol, P.A., Spielman, A. 1985b. *Aedes aegypti*: model for blood finding strategy and prediction of parasite manipulation. *Exp. Parasitol.* 60: 118-132.
- 98.- Ribeiro, J.M.C., Rossignol, P.A., Spielman, A. 1985c. Salivary gland apyrase determines probing time in anophelinac mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 31: 689-692.
- 99.- Ribeiro, J.M.C., Vachereau, A., Modi, G.B., Tesh, R.B. 1989. A novel vasodilator peptide from the salivary glands of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *Science*. 243: 212-214.
- 100.- Romoser, W.S., Faran, M.E., Bailey, C.L. 1987. Newly recognized route of arbovirus dissemination from the mosquito (Diptera: Culicidae) midgut. *J. Med. Entomol.* 24: 431-432.
- 101.- Rosen, L. 1988. Further observations on the mechanism of vertical transmission of flaviviruses by *Aedes* mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 39 (1): 123-126.
- 102.- Rosenberg, R. 1985. Inability of *Plasmodium knowlesi* sporozoites to invade *Anopheles freeborni* salivary glands. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34 (4): 687-691.

- 103.- Rossignol, P.A., Ribeiro, J.M.C., Spielman, A. 1984. Increased intradermal probing time in sporozoite-infected mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 33 (1): 17-20.
- 104.- Rossignol, P.A., Ribeiro, J.M.C., Jungery, M., Turell, M.J., Spielman, A., Bailey, C.L. 1985. Enhanced mosquito blood-finding success on parasitemic hosts: evidence for vector-parasite mutualism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 7725-7727.
- 105.- Rossignol, P.A., Lucders, A.M. 1986. Bacteriolytic factor in the salivary glands of *Aedes aegypti*. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 83: 819-822.
- 106.- Schlein, Y., Jacobson, R.L., Shlomal, J. 1991. Chitinase secreted by *Leishmania* functions in the sandfly vector. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 245: 121-126.
- 107.- Shih, C.M., Chen, C.C. 1991. Haemolymph monophenol oxidase activity in *Armigeres subalbatus* infected with *Brugia pahangi*. *Int. J. Parasitol.* 21 (3): 357-359.
- 108.- Sieber, K.P., Huber, M., Kaslow, D., Banks, S.M., Torii, M., Aikawa, M., Miller, L.H. 1991. The peritrophic membrane as a barrier: its penetration by *Plasmodium gallinaceum* and the effect of a monoclonal antibody to ookinetes. *Exp. Parasitol.* 72: 145-156.
- 109.- Sinden, R.E. 1984. The biology of *Plasmodium* in the mosquito. *Experientia.* 40: 1330-1343.
- 110.- Sinigaglia, F., Pink, J.R.L. 1990. A way round the "real difficulties" of malaria sporozoite vaccine development? *Parasitol. Today* 6 (1): 17-19.
- 111.- Sluiter, J.F., Visser, P.E., van der Kaay, H.J. 1986. The establishment of *Plasmodium berghei* in mosquitoes of a refractory and a susceptible line of *Anopheles atroparvus*. *Z. Parasitenkd.* 72: 313-322.
- 112.- Steiner, W.W.M., Tabachnick, W.J., Rai, K.S., Narang, S. 1982. Recent developments in the Genetics of Insect disease vectors. Stipes Publishing Company, Champaign, IL.
- 113.- Stiles, J.K., Ingram, G.A., Wallbanks, K.R., Molyneux, D.H., Maudlin, I., Welburn, S. 1990. Identification of midgut trypanolysin and trypanoagglutinin in *Glossina palpalis* ssp. (Diptera: Glossinidae). *Parasitology.* 101: 369-376.
- 114.- Stollar, V. 1987. Approaches to the study of vector specificity for arboviruses - model systems using cultured mosquito cells. *Adv. Virus Res.* 33: 327-365.

- 115.- Storer, T.I., Usinger, R.L., Stebbins, R.C., Nybakken, J.W. 1982. *Zoología General*. Ed. Omega. 6a ed. España. 954 pag.
- 116.- Swcency, A.W., Becnel, J.J. 1991. Potential of microsporidia for the biological control of mosquitoes. *Parasitol. Today* 7 (8): 217-220.
- 117.- Tait, A., Turner, C.M.R. 1990. Genetic Exchange in *Trypanosoma brucei*. *Parasitol. Today*. 6 (3): 70-75.
- 118.- Tardieu, M., Epstein, R.L., Weiner, H.L. 1982. Interaction of viruses with cell surface receptors. *Int. Rev. Cytol.* 80: 27-61.
- 119.- Titus, R.G., Ribeiro, J.M.C. 1988. Salivary gland lysates from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* enhance *Leishmania* infectivity. *Science*. 239: 1306-1308.
- 120.- Titus, R.G., Ribeiro, J.M.C. 1990. The Role of Vector Saliva in Transmission of Arthropod-Borne Disease. *Parasitol. Today*. 6 (5): 157-160.
- 121.- Touray, M.G., Warburg, A., Laughinghouse, A., Krettli, A.U., Miller, L.H. 1992. Developmentally regulated infectivity of malaria sporozoites for mosquito salivary glands and the vertebrate host. *J. Exp. Med.* 175: 1607-1612.
- 122.- Trager, W. 1986. *Living together. The biology of animal parasitism*. Plenum Press. New York. 467 pag.
- 123.- Turell, M.J. 1988. in *The Arboviruses: Ecology and Epidemiology* (Vol. I). Monath, T.P., ed. CRC Press. pp. 127-152.
- 124.- van Eys, G. 1991. Euroleish II Workshop. *Parasitol. Today*. 7 (6): 130-131.
- 125.- Vásquez, L.G. 1987. *Zoología del Phylum Arthropoda*. Ed. Interamericana. 6a ed. Mexico. 381 pag.
- 126.- Vernick, K.D., Collins, F.H., Gwadz, R.W. 1989. A general system of resistance to malaria infection in *Anopheles gambiae* controlled by two main genetic loci. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 40 (6): 585-592.
- 127.- Walliker, D. 1983. Genetics of parasites. In: *Molecular biology of parasites*. Guardiola, J., Luzzatto, L., Trager, W., eds. Raven Press. New York. pp. 53-61.

- 128.- Walliker, D., Quakyi, I.A., Wellem, T.E., McCutchan, T.F., Szarfman, A., London, W.T., Corcoran, L.M., Burkot, T.R., Carter, R. 1987. Genetic analysis of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Science*. 236: 1661-1666.
- 129.- Warburg, A., Miller, L.H. 1991. Critical stages in the development of *Plasmodium* in Mosquitoes. *Parasitol. Today*. 7 (7): 179-181.
- 130.- Waters, A.P., Mc Cutchan, T.F. 1990. Ribosomal RNA: nature's own polymerase - amplified target for diagnosis. *Parasitol. Today* 6(2): 56-59.
- 131.- Waters, A.P., Higgins, D.G., McCutchan, T.F. 1991. *Plasmodium falciparum* appears to have arisen as a result of lateral transfer between avian and human hosts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 88: 3140-3144.
- 132.- Weathersby, A.B. 1975. in *Invertebrate Immunity*. Maramorosch, K., Shope, R.E., eds. Academic Press. pp. 273-288.
- 133.- Weathersby, A.B., McCroddan, D.M. 1982. The effects of parabiotic twinning of susceptible and refractory mosquitoes on the development of *Plasmodium gallinaceum*. *J. Parasitol.* 68 (6): 1081-1084.
- 134.- Weaver, S.C. 1986. Electron microscopic analysis of infection patterns for venezuelan equine encephalomyelitis virus in the vector mosquito, *Culex (Melanoconion) taenitopus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35 (3): 624-631.
- 135.- Weaver, S.C., Scott, T.W., Lorenz, L.H., Lerdthusnee, K., Romoser, W.S. 1988. Togavirus - associated pathologic changes in the midgut of a natural mosquito vector. *J. Virol.* 62 (6): 2083-2090.
- 136.- Weaver, S.C., Scott, T.W., Lorenz, L.H., Repik, P.M. 1991. Detection of eastern equine encephalomyelitis virus deposition in *Culiseta melanura* following ingestion of radiolabeled virus in blood meals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 44 (3): 250-259.
- 137.- Woodward, T.M., Miller, B.R., Beaty, B.J., Trent, D.W., Roehrig, J.T. 1991. A single amino acid change in the E2 glycoprotein of Venezuelan equine encephalitis virus affects replication and dissemination in *Aedes aegypti* mosquitoes. *J. Gen. Virol.* 72: 2431-2435.
- 138.- Zheng, L., Collins, F.H., Kumar, V., Kafatos, F.C. 1993. A detailed genetic map for the X chromosome of the malaria vector, *Anopheles gambiae*. *Science*. 261: 605-608.