

LA DENSIDAD DE *Lutzomyia townsendi*  
(Dipt. Phlebotominae) ADULTOS ESTIMADA  
FOTOTACTICAMENTE MEDIANTE EL MARCADO  
CON FLUOROCROMOS\*

José V. Scorza<sup>1</sup>  
Julio César Márquez<sup>2</sup>  
Margarita Márquez<sup>3</sup>

RESUMEN

Se describe una técnica para la estimación de la densidad, por metro cuadrado, de hembras de *Lutzomyia townsendi*, transmisor de leishmaniasis tegumentaria en la región de Los Andes venezolanos, mediante el marcado con polvos fluorescentes.

Se emplean dos trampas de Shannon con cebo luminoso a base de tubos fluorescentes, separadas entre sí por cincuenta metros y además una lámpara ultravioleta portátil. Con una trampa se capturan, entre las 19 y 20 horas, las hembras que

\*Esta investigación recibió financiamiento del CONICIT, Proyecto SI-1295 y además del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

1 Ph. D., Profesor Titular.

2 Técnico de Laboratorio.

3 Asistente e Ing. Agrónomo.

1 El autor agradece al Dr. R. Killick-Kendrick por el obsequio de muestras de polvos fluorescentes.

acuden y se marcan con colores diferentes. Se liberan las marcadas con un color a nivel del suelo y alrededor de una segunda trampa en un área de 6 u 8 metros de radio, y las marcadas con otro color inmediatamente por fuera del área de las primeras, a lo largo de la circunferencia. Se inicia la recaptura en la segunda trampa ahora encendida y se registra el número de flebótomos que llegan, anotándose el color de las marcadas y hasta que se capture una de las marcadas con el otro colorante. El cálculo se hace a base del índice de Lincoln, tomando en cuenta el área de trabajo.

## SUMMARY

*Lutzomyia townsendi* is a sandfly vector for cutaneous leishmaniasis in the Venezuelan Andes region. We describe a Method for estimating its population density by means of marking-release technique using a Shannon trap baited with light, fluorescent powders and an ultraviolet lamp for recognizing marked mosquitoes.

This method allows duplicated estimations of sandflies for square meter.

La leishmaniasis cutánea en la región Neotrópica es un riesgo ocasional que depende fundamentalmente del tiempo de permanencia del hombre en el área zoonótica. La infección suele ser contraída por sujetos foráneos cuando pernoctan a la intemperie en el área endémica. Recientemente WARD (1977) ha revisado tres situaciones epidemiológicas de la leishmaniasis mucoso-cutánea en Sur América y Panamá mencionando brotes epidémicos en asentamientos recientes de poblaciones agrícolas en territorios selváticos, situaciones de transmisión suburbana e infecciones ocasionales padecidas por obreros que trabajan en ambientes selváticos.

La modalidad de la transmisión en la leishmaniasis corresponde al tipo I descrito por BRADLEY (1974) en donde la alta densidad del transmisor, la rápida tasa de multiplicación del parásito en él y la larga supervivencia del parásito en el hospedador mamífero, hacen de la transmisión un fenómeno parcialmente denso-independiente y más condicionado por factores extrínsecos como las condiciones climáticas (NICKOL, 1977). En el caso de la leishmaniasis, inclusive en los extraordinarios casos de brotes epidémicos, el nivel de la transmisión no pasa de ser desde baja hasta moderada.

Aparte de saber que la leishmaniasis dérmica constituye un riesgo de baja probabilidad y que la transmisión es de tipo bajo o moderado, casi poco o nada sabemos sobre los factores que la condicionan; KILLICK-KENDRICK (1978) ha reseñado los problemas relevantes de la biología de los flebótomos y puesto énfasis en la escasez de información sobre dinámica poblacional y ecología de las especies incriminadas como transmisoras.

Uno de los problemas por resolver para iniciar estudios epidemiológicos sobre leishmaniasis tegumentaria en áreas endémicas, es elaborar un método cuantitativo

de muestreo de las poblaciones vectoras o incriminadas como transmisoras. En la región neotropical, a diferencia de las regiones Paleártica y Etiópica, donde la focalidad de las especies de *Phlebotomus* es un carácter bien marcado, las técnicas de muestreo deben responder a situaciones particulares de la cadena epidemiológica. Contrasta, por ejemplo, la situación de los desiertos de la URSS (DUBROSKY, 1976) donde existe coevolución entre reservorios, parásitos y vectores, con la otra situación reseñada por WILLIAMS (1970-a) en Belize, en cuyas regiones endémicas existen 22 especies de *Lutzomyia* y 3 de *Brumptomyia*; cinco de las primeras se hallaron infectadas con promastigotos. En Venezuela, en una localidad endémica relativamente pequeña, (PIFANO, ORTIZ y ALVAREZ, 1962) encontraron cinco especies antropofílicas de *Lutzomyia*, todas potenciales transmisoras.

En modo similar THATCHER y HERTIG (1966) capturaron ocho especies antropofílicas de *Lutzomyia*, en 17 noches de trampeo con cebo humano y mamíferos silvestres, en un pequeño valle cercano a Colón, Panamá.

En las zonas altas de la región andina venezolana, por encima de los 800 m.s.n.m., la especie de *Lutzomyia* antropofílica más común es la *Lu. townsendi*, sin duda alguna, el transmisor de leishmaniasis en la región (MOGOLLON, MANZANILLA y SCORZA, 1977). Se trata de una especie con intensa respuesta fototóxica (SCORZA, 1972) que en una localidad del centro de Venezuela, entre 7.600 flebotomos capturados, integra el 50% de los especímenes que se capturan en los abrigos naturales y el 95% de los ejemplares que fueron atraídos por la trampa de Shannon cebada con luz.

El comportamiento fototóxico de *Lu. townsendi* nos ha permitido ensayar una metodología para calcular su densidad en una localidad situada a una distancia de unos doce kilómetros de un área endémica para leishmaniasis cutánea.

#### LOCALIDAD DE TRABAJO Y RECURSOS

*Localidad del estudio.*- El caserío Calderas, situado a 1.360 m.s.n.m., dista 12 km. al este de la ciudad de Trujillo, Venezuela (70° 23' 15" L.O. de G. y 9° 22' 30" L.N.); es una población cafetalera dedicada también al cultivo de hortalizas y cítricos. En la localidad no han habido casos de leishmaniasis y ninguno de sus 126 habitantes es reactivo a la prueba de la leishmanina. Todos conocen la "angoleta", nombre con el cual identifican a la *Lutzomyia townsendi*. Los flebotomos son abundantes en el área y atacan principalmente cuando por la noche se transitan los senderos de los cafetales. El cafeto, como cultivo, cubre más del 80% del área de las laderas y hondonadas; árboles (*Cytrus*, *Persea* y *Erythrina*) cubren el área en un 25% aproximadamente, de este modo, la región es de densa vegetación con plantas de café a razón de una por cada 1,5 m<sup>2</sup> (fig. 1).



Figura 1. Aspecto del cafetal en la zona de trabajo. Nótese la densidad de los arbolitos.

*Recursos.*- Dos días por semana nos trasladamos a la localidad de Calderas. Utilizamos dos trampas de Shannon de 1,80 x 1,40 y 1,80 de alto (Fig. 2) provistas de sendos soportes de hierro para colgar en el centro e inmediatamente por debajo del techo de cada trampa, tubos de luz fluorescente de 50 watos; próxima a cada trampa, a 2,0 mts., una lámpara ultravioleta de 0,14 Amp. para emisión de onda corta. Un generador de corriente alterna, de 300 watos a base de gasolina, colocado



Figura 2. Trampa de Shannon colgada en el medio del cafetal.

a 40 mts. del sitio de trabajo, produjo la electricidad necesaria para el encendido de las lámparas.

El resto del equipo estuvo conformado por envases de vidrio (Fig. 3) de 120 mm. de longitud, 50 mm. de diámetro, recubiertos interiormente por una lámina de corcho de 2,0 mm. de espesor y cerrados por un extremo por malla de nylon a prueba de flebótomos y por el otro un orificio de 20 mm. de diámetro tapado por un corcho; lateralmente, una tubuladura de 18 mm.  $\phi$  también cerrada por corcho;



Figura 3. Envases para el mantenimiento de flebótomos; nótese el revestimiento interno de corcho.

capturadores de tubulares de 15 mm. de diámetro por 35 cm. de largo, provistos de un tubo de látex adaptado a un extremo del tubo con un filtro de la misma malla de nylon. Cuatro frascos insufladores conteniendo polvos fluorescentes (Industrial Colours London) de color anaranjado, azul, amarillo y rojo (BRAILEY, ELIASON e ILTIS, 1962; DOW, REEVES y BELLAMY, 1965).

#### EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

*Efectos del marcado sobre la sobrevivida de Lutzomyia townsendi.*- Precisamos la acción del marcado con los polvos fluorescentes sobre *Lu. townsendi*. Usamos diez (10) lotes de veinticinco (25) flebótomos cada uno, en envases acondicionados con corcho. A cinco lotes los hicimos ingurgitar sobre la piel del autor. Por pares, un frasco con flebótomos ingurgitados con sangre y otro vacío, fueron insuflados con

uno de los polvos fluorescentes de color verde, azul, amarillo y rojo, introduciendo en el frasco la punta del tubo insuflador por la tubuladura lateral, mientras los insectos eran atraídos hacia la malla de nylon por la acción de la luz de un bombillo de 50 wátios; el quinto par se dejó como control. Todos los insectos fueron mantenidos con solución de sacarosa comercial al 50% (P/V) en un trocito de esponja plástica colocada sobre el nylon. La solución de sacarosa fue renovada cada dos días. Los frascos se conservaron al abrigo de la luz dentro de una caja-cava de espuma plástica de 20 mm. de espesor, sobre una esponja humedecida para saturar con humedad el ambiente confinado y a temperatura de 21,0°C.

Cada dos días, hasta los dieciséis, los frascos fueron examinados y se contaron los insectos caídos en el fondo del envase o sobre el corcho que taponaba su fondo. En el Cuadro I presentamos los recuentos acumulativos de los insectos caídos. No se registran diferencias entre la mortalidad de los insectos marcados con fluorocromos y los no marcados; al sexto día ésta alcanza al 35% de los mosquitos y a los 16 días ya han caído más del 80% ; tampoco se observaron diferencias entre los ingeridos originalmente con sangre y los que no habían ingerido sangre.

#### CUADRO I

##### MORTALIDAD ACUMULADA COMPARADA ENTRE VEINTICINCO HEMBRAS DE *Lu. townsendi* ALIMENTADAS CON SANGRE O SIN ELLA, CONSERVADAS CON SACAROSA E IMPREGNADAS CON POLVOS FLUORESCENTES.

Días	Marcados con fluorocromos									
	Anaranjado		Azul		Amarillo		Rojo		Controles	
	CS	SS	CS	SS	CS	SS	CS	SS	CS	SS
2	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—
4	—	—	1	1	1	—	—	2	—	—
6	—	—	2	2	1	2	—	2	1	1
8	3	1	6	4	5	6	3	2	3	3
10	6	6	8	9	7	9	6	5	7	8
12	10	8	9	13	7	9	10	8	15	12
14	12	10	14	13	11	13	12	11	16	16
16	16	14	16	17	15	16	16	18	18	17

CS: con sangre

SS: sin sangre

*Eficiencia del marcado.*- Habiéndose observado que el fluorocromo que más intensamente brillaba el ser excitado por la luz ultravioleta fue el rojo, capturamos sobre la misma trampa de Shannon 800 flebótomos en lotes de 100, por frasco, y en la misma noche de la captura ingurgitamos a la mayoría sobre la piel del autor, los marcamos con polvo rojo y los liberamos inmediatamente en el mismo sitio de captura. En la noche siguiente reinstalamos una trampa en el mismo sitio y observamos bajo luz ultravioleta a todos los flebótomos que fueron llegando; se capturaron 187 hembras, tres de las cuales florecían intensamente, ninguna había ingerido sangre. Siete días después del marcado se hizo otra recaptura en el mismo lugar y entre 718 hembras capturadas, aparecieron tres marcadas, todas paridas.

*La eficiencia de la trampa de Shannon para los flebótomos marcados.* Con la finalidad de medir el tiempo que tardarían los flebótomos marcados en llegar a la trampa cuando eran liberados a distintas distancias de ésta, en cuatro noches sucesivas montamos cuatro experimentos idénticos, variando el número de insectos a marcar y la distancia a una trampa de Shannon apagada alrededor de la cual serían liberados. Los insectos a marcar fueron, para una misma y cada noche, 50 con amarillo, 250 con azul y 400 con rojo. Los primeros se liberarían, en circunferencia y en la misma noche, a 6 m. de la trampa de recaptura; los segundos a 8 m. y los terceros a 10 m. Los insectos a marcar fueron capturados en un sitio entre las 19 y 20 horas y se liberaron para recapturarlos, a las 20:30', 21:00 y 22:00 horas respectivamente. Una vez liberado el lote marcado, se encendía la trampa de recaptura y rápidamente se iban atrapando los flebótomos en lotes de diez, anotándose con precisión de segundos la hora en que se capturaba cada décimo insecto. Cada lote se examinaba inmediatamente bajo la lámpara ultravioleta y se proseguía la recaptura hasta atrapar tres flebótomos marcados. Inmediatamente se apagaba la trampa de recaptura y se liberaba al lote marcado siguiente y a la distancia establecida; se reencendía la trampa y se procedía como antes hasta atrapar al tercer flebótomo con la segunda marca, apagándose nuevamente la trampa para proceder con los marcados en rojo. En el Cuadro II presentamos el tiempo, en minutos, que tardaron en arribar los flebótomos marcados recapturados. Con excepción de dos casos, marcados con asteriscos en el Cuadro, el lapso medio de tiempo recorrido por los flebótomos fue proporcional a la distancia y la fórmula de la regresión, para 36 pares de valores, fue:  $Y = -48,67 + 8,96 X$  con un  $r = 0,84$ . Es importante destacar la relativa lentitud de vuelo o de saltos de estos insectos que toman, desde uno hasta cuatro minutos aproximadamente para recorrer un metro de distancia, tardando más tiempo en la medida en que a mayor distancia se hallan de la fuente luminosa que los atrae. No intentamos explorar distancias mayores por la imposibilidad de contar con una mayor población de flebótomos, ya que los "marcados" se diluyen entre los no marcados que se encuentran en el sitio de recaptura. No nos pareció conveniente montar este experimento en un sitio despejado y sin vegetación, como la carretera

CUADRO II

TIEMPO EN MINUTOS QUE TARDARON EN ARRIBAR A LA TRAMPA  
DE SHANNON FLEBOTOMOS MARCADOS CON TRES DISTINTOS  
FLUOROCROMOS Y LIBERADOS A DISTINTAS DISTANCIAS

*Marcado y distancias*

Trampeo Nº	amarillo 6 m.	azul 8 m.	rojo 10 m.
1	4	22	40
	5	24	57
	9	27	68
2	2	14	48
	8	15	52
	9	19	53
3	4	2*	32
	5	14	34
	16	26	36
4	3	4*	29
	8	19	35
	19	28	38

$\bar{x} \pm s$                       7,7  $\pm$  5,2                      17,8  $\pm$  8,5                      43,5  $\pm$  12,0

$$Y = -48,67 + 8,96 X$$

$$r : 0,84$$

misma que pasa junto al lugar donde trabajamos, porque en tal lugar los insectos tendrían que competir contra el viento, si les fuera desfavorable, o llegarían más aleatoriamente si éste les fuera propicio. Dentro del follaje del cafetal la acción del viento era mucho menor, a juzgar por la información de dos anemómetros que poseíamos.

*Estimación de densidad poblacional por la técnica de captura, marcado y recaptura.*- La técnica de captura, marcado-liberación y recaptura es, sin duda, la más precisa para hacer estimados poblacionales de insectos (SOUTHWOOD, 1964; SERVICE, 1976). Los experimentos preliminares señalaron la posibilidad de usar polvos fluorescentes para el marcado de flebotomos y emplear esta técnica para

intentar estimaciones poblacionales. El marcado con estos fluorocromos, según nuestra experiencia, no afecta la sobrevivencia de los flebotomos, ingurgitados o no; la marca es retenida por los mismos durante una semana, por lo menos, sin que aparentemente pierda su intensidad; los insectos marcados no parecen alterar su comportamiento ante el estímulo luminoso desde que el esfuerzo que realizan por alcanzar a la luz, medido por el tiempo, es directamente proporcional a la distancia que recorren. El corto tiempo que transcurre entre el momento de la liberación de los flebotomos marcados y su recaptura, descarta la posibilidad de modificaciones substanciales en la población a estimar, bien sea por efecto del nacimiento de nuevos individuos o por la pérdida de parte de la población producida por eventuales depredadores.

La naturaleza del experimento, estimar la población de un insecto fototáctico, deja siempre la duda de que no todos individuos capturables lo sean porque exhiben desigual umbral de sensibilidad ante el estímulo luminoso. En efecto, como lo veremos, una proporción de los insectos marcados llega solamente a la trampa y esto hace pensar que ocurra con los demás insectos no marcados.

Al liberar una alícuota de flebotomos marcados en un área de tamaño proporcional al tiempo de captura que llamaremos área "marcada" y conociéndose que estos pequeños dípteros tardan desde uno hasta cuatro minutos por metro de distancia para arribar a una trampa que se instale en el centro del área, tan pronto se encienda la misma, llegarán a la trampa *Insectos marcados y no marcados* que se hallan en el área de trabajo como lo harán también flebotomos que se encuentran en la periferia del área "marcada"; la llegada de estos últimos constituiría error de sobrestimación de la población. Tomando en cuenta esta dificultad, diseñamos experimentos con doble, triple y cuádruple marcado, que nos permitiría duplicar o triplicar los resultados en un mismo tiempo y área de trabajo, corrigiendo el eventual error de sobrestimación.

Limitamos con una cuerda, aprovechando los tallos de las plantas de café, cuatro circunferencias concéntricas de 3,5, 5,5, 7,5 y 9,5 mts. de radio que limitaron círculos de 38,5, 95, 177 y 283  $\text{m}^2$  respectivamente. Descontando el área misma que ocupa la trampa, el círculo interno (a) mide 36  $\text{m}^2$ ; el que le sigue (b) con 2,0 mts. adicionales de radio, mide una superficie de 59  $\text{m}^2$  descontando al área del círculo interno; el círculo de 7,5 mts. de radio (c) con 177  $\text{m}^2$  mediría 82  $\text{m}^2$  descontando el inscrito de 5,5 mts de radio; el círculo de 9,5 mts (d) de radio tendría un área de 283  $\text{m}^2$  a la cual habría que restar el área del círculo inscrito de 7,5  $\text{m}^2$ . de radio, para un área 106  $\text{m}^2$ . Tendríamos así un círculo (a) de 3,5 mts. de radio con la trampa como centro, para un área de 36  $\text{m}^2$  un primer corredor circular exterior (b) de 2 mts. de ancho con 59  $\text{m}^2$ ; un segundo corredor (c) de dos metros de ancho con 82  $\text{m}^2$  y por último otro corredor (d) también de dos metros de ancho con 106  $\text{m}^2$  (Fig. 4).

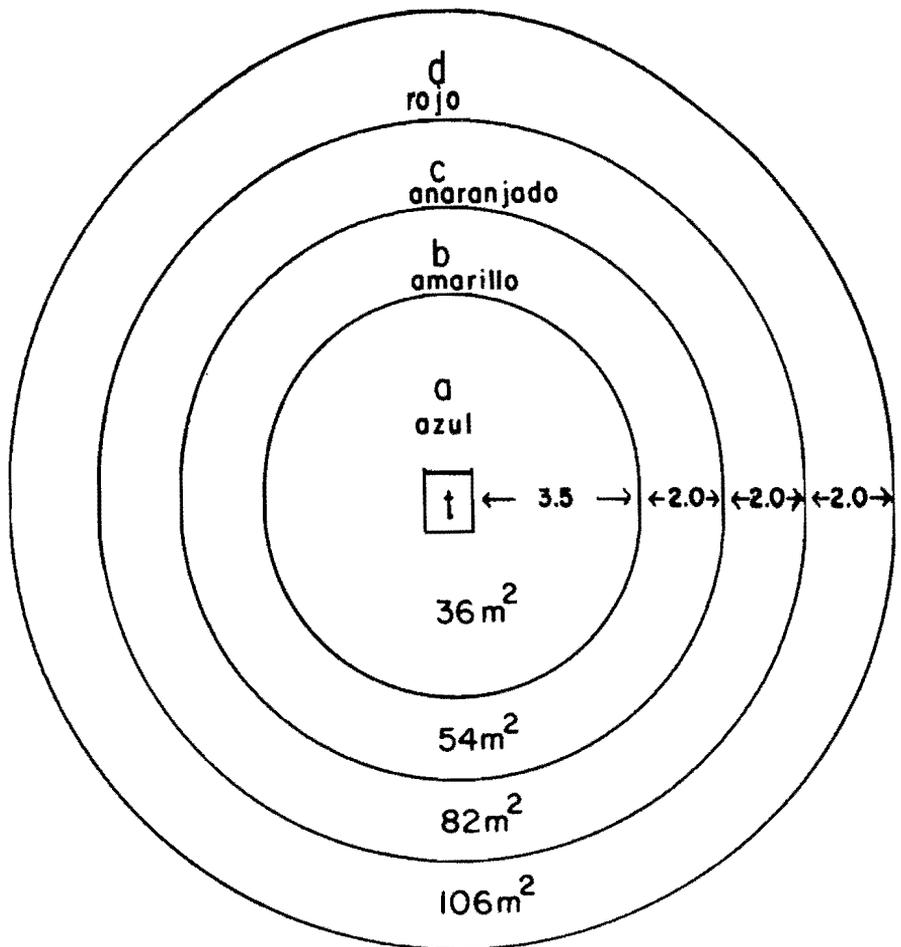


Figura 4. Dibujo de los cuatro círculos concéntricos, de las áreas del círculo central y de los tres "corredores" externos, de la superficie del círculo central y de los corredores y, finalmente, los colores de los polvos fluorescentes utilizados para marcar los flebótomos a dispersar en las áreas respectivas.

Con una trampa de Shannon situada fuera y lejos del área donde se va a estimar la densidad poblacional de flebótomos, se capturaron 566 flebótomos hembras entre las 19 a 20 horas, confinándoselas en cuatro envases con 72, 118, 164 y 212 flebótomos respectivamente para marcarlos con fluorocromos, según el Cuadro III; seguidamente se liberó cada lote en el área respectiva demarcada por las cuerdas. La liberación se hizo a oscuras dentro del círculo con la trampa y en los corredores respectivos, soltándoselos a ras del suelo, a lo largo de la línea media de cada corredor, procurando no remover estrepitosamente la hojarasca del suelo.

Después de quince minutos de "homogeneización", se encendió el tubo fluorescente de la trampa y se inició la captura de los insectos; a medida que llegaban se

### CUADRO III

#### NUMERO DE FLEBOTOMOS A MARCAR CON FLUOROCROMOS DIFERENTES DE ACUERDO CON EL AREA DE TRABAJO

Radios de las áreas en m.	a	b	c	d	Totales
Area total m <sup>2</sup> .	3,5	5,5	7,5	9,5	
Area de los corredores m <sup>2</sup> .	38,5	95	177	283,5	
Color del mercado	azul	amarillo	anaranjado	rojo	
N <sup>o</sup> de flebótomos por m <sup>2</sup> .	72	118	164	212	566

capturaron en lotes de diez o de veinte y se examinaron a la luz ultravioleta, anotándose el número de flebótomos no marcados y el de los marcados, y sus colores respectivos.

Es importante reinsistir en que a partir de las 20:30 horas y en la medida en que van acudiendo a la trampa, se capturaron los flebótomos y se anotó su número y el número y color de los marcados recapturados. En el curso de la recaptura van acudiendo insectos marcados con azul, amarillo y anaranjado, generalmente en ese orden.

Se prolonga la captura hasta que llega el primer insecto marcado con rojo lo cual señala que están arribando insectos del último corredor.

Se sumó el número de flebótomos capturados hasta la llegada del último azul, luego el número de todos los atraídos hasta que llegó el último amarillo y seguidamente los mismos, pero hasta la captura del último anaranjado. Se tienen así tres datos de capturas totales y para cada uno, un número de flebótomos marcados en azul, amarillo o anaranjado. En los Cuadros IV, V y VI damos los números de los flebótomos marcados y no marcados en cada una de las tres jornadas de trapeo triple.

CUADRO IV  
TRAMPEO DEL 21 DE MARZO 1980

Fluorocromo :	azul	amarillo	anaranjado	rojo
N <sup>o</sup> de marcado y liberados	72	118	164	212
N <sup>o</sup> de flebótomos capturados	427	582	1082	1296
N <sup>o</sup> de marcados recapturados	8	11	17	1
Area marcado m <sup>2</sup> .	38,5	59	82	106
Estimado por m <sup>2</sup> .	$\left( \frac{72 \times 427}{8} \right)$	$\left( \frac{118 \times 582}{11} \right)$	$\left( \frac{164 \times 1082}{17} \right)$	
	= 100 fleb.	= 105 fleb.	= 127 fleb.	

CUADRO V

TRAMPEO DEL 9 DE ABRIL 1980

Fluorocromo :	azul	amarillo	anaranjado	rojo
N <sup>o</sup> de marcados y liberados	72	118	164	212
N <sup>o</sup> de flebótomos capturados	728	1215	1804	2012
N <sup>o</sup> de marcados recapturados	7	13	17	1
Area marcada m <sup>2</sup> .	38,5	59	82	106
Estimado por m <sup>2</sup> .	$\left( \frac{72 \times 728}{7} \right)$	$\left( \frac{118 \times 1215}{13} \right)$	$\left( \frac{164 \times 1804}{17} \right)$	
	= 194 fleb.	= 187 fleb.	= 212 fleb.	

## CUADRO VI

### TRAMPEO DEL 14 DE MAYO 1980

Fluorocromo	azul	amarillo	anaranjado	rojo
N° de marcados y liberados	72	118	164	212
N° de flebótomos capturados	182	226	489	561
N° de marcados recapturados	9	11	18	1
Area marcada en m <sup>2</sup>	38,5	59	82	106
Estimado por m <sup>2</sup> .	$\left( \frac{72 \times 182}{9} \right) / 38,5$	$\left( \frac{118 \times 226}{11} \right) / 59$	$\left( \frac{164 \times 489}{18} \right) / 82$	
Estimado por m <sup>2</sup> .	38 fleb.	41 fleb.	54 fleb.	

El estimado de las poblaciones (P) en cada una de las tres capturas y de la desviación típica de cada estimado, siendo  $r < 20$  ( $r =$  al número de los flebótomos marcados y recapturados) se ha hecho según SERVICE (1976) aplicando el índice de Lincoln; en el Cuadro VII presentamos los resultados tomando en cuenta el área del muestreo.

El examen de las densidades de flebótomos por metro cuadrado de área marcada muestra que entre las densidades calculadas para el círculo de 38,5 m<sup>2</sup> y el primer corredor de 59 m<sup>2</sup>., hay menores diferencias que entre este corredor y el externo de 82 m<sup>2</sup>; así las diferencias respectivas son de 8,4 y 4 flebótomos por metro cuadrado para las primeras y de 23, 27 y 14 para las segundas. Es explicable que el tercer estimado de densidad, en el área de 82 m<sup>2</sup>. exhiba valores más altos por cuando ésta recibe flebótomos no marcados del corredor más externo en donde se liberaron los insectos marcados con fluorocromo rojo.

Las diferencias anotadas hacen más confiables los valores de los círculos internos (a-b). La circunstancia de que existen pequeñas diferencias entre ellos y que por otra parte, sean pareados y similares los valores para cada trampeado hecho en distintas fechas, señala que el doble o triple marcado constituye un método apropiado

## CUADRO VII

ESTIMADO DE LAS POBLACIONES (P) Y DE SUS DESVIACIONES TIPICAS (DT), SEGUN EL INDICE DE LINCOLN, PARA *Lutzomyia townsendi*. A CADA ESTIMADO SE LE HA CALCULADO LA DENSIDAD POR METRO CUADRADO (D).

TRAMPEADO N°						
Area en m <sup>2</sup>	1		2		3	
P/DT	D	P/DT	D	P/DT	D	D
38,5	3424	89	6561	170	1317	34
	/1071		/2175		/386	
59	5733		10249		2232	
	/1572	97	/2631	174	/604	38
82	9867	120	16440	201	4229	52
	/2245		/1948		/927	

para determinar densidades de poblaciones de un flebótomo fototáctico como *Lutzomyia townsendi*. Desde luego, como técnica de campo, es relativamente laboriosa porque requiere el concurso de por lo menos cuatro trabajadores: tres capturando y otro llevando el registro de la información. Por este motivo ensayamos entonces una técnica más simple con doble marcado.

### *Estimación de la densidad de flebótomos por la técnica de doble marcado.*

Este procedimiento introdujo las siguientes modificaciones:

1. Estandarizar el trabajo de captura reduciéndolo a 120 minutos de esfuerzo; los primeros 30 minutos entre 19:00 y 19:30 para capturar los flebótomos que arriben a una trampa N° 1 distante del lugar donde se va estimar la población.

2. Marcado inmediato de todos estos flebótomos con un fluorocromo para liberarlos homogéneamente en un área de 315 m<sup>2</sup>. (diámetro de 10 mts.) alrededor de la otra trampa N° 2 donde se va a hacer el estimado poblacional y la cual debe estar colocada a no menos de 40 m. de distancia.

3. Continuar la captura de flebótomos en la trampa N° 1 durante treinta minutos adicionales, para recoger otra muestra a marcar con *otro* fluorocromo y que va a ser liberada, a ras del suelo, sobre la línea de circunferencia de 10 mts. de diámetro de la trampa N° 2.

4. Encendida la trampa N° 2 se inicia la captura durante una hora adicional hasta que arriben a la trampa uno o dos de los flebótomos marcados con el segundo

fluorocromo. En esta etapa se examinará, bajo luz ultravioleta, a los mosquitos que arriben a la trampa y se anotará el número de los capturados no marcados y marcados.

Siguiendo este procedimiento y tomando en cuenta las bajas precipitaciones durante el trimestre diciembre-marzo, hicimos tres veces, dos trampeados en días seguidos así, 6 y 7 de diciembre, 28 y 29 de febrero y 7, 10 de marzo, que circunstancialmente ofrecieron noches comparables, sin lluvias y sin excesivas brisas.

En el Cuadro VIII presentamos los resultados de los tres pares de capturas, estimando las densidades de flebótomos por metro cuadrado mediante el índice de Lincoln. Las densidades calculadas para trampeados en noches seguidas, 3,38 y 4,22 flebótomos por  $m^2$ , 39,0 y 36,4 y 9,24 con 5,47 respectivamente, señalan la escasa variación de la técnica y la similitud entre valores de densidades de flebótomos para una idéntica localidad entre noches siguientes.

Finalmente, parece existir una cierta relación entre la cantidad de flebótomos que arriben tempranamente a la trampa, en los primeros treinta minutos de colección, y la densidad de flebótomos calculadas para el área con la técnica del marcado. Un análisis de regresión entre las cantidades de flebótomos capturados en los primeros treinta minutos y la densidad de flebótomos por metro cuadrado, estimada por la técnica del marcado, sugiere la existencia de una cierta correlación lineal positiva. Nuestro cálculo, con la muestra de seis pares de valores, es  $Y: 65,10 + 4,95 X$  con  $r = 0.62$ . Este parámetro, que parece ser de alguna utilidad, obviamente está sujeto a condiciones óptimas y uniformes. Hemos hecho algunas capturas don-

#### CUADRO VIII

##### ESTIMACION DE LA DENSIDAD DE *L. townsendi* POR $m^2$ PARA $315m^2$ ., CON DOBLE MARCADO EN TRES PARES DE TRAMPEADOS

Fecha	Nº capturados en 30' (trampa Nº 1) y marcados	Nº de recapturados en la trampa Nº 2	Nº de marcados recapturados en trampa Nº 2	Densidad P/315 $m^2$
06 XII	77	123	8	3,38
07 XII	52	178	6	4,22
28 II	213	1688	31	39,00
29 II	289	714	17	36,44
07 III	138	658	30	9,24
10 III	105	196	11	5,47

de tal correlación no existe, sobre todo cuando ha llovido o la precipitación ha sido lo suficientemente mínima como para no ser registrada por el pluviómetro o bien cuando el viento es intenso; todo esto sugiere que la ecuación podría ser poco útil durante la época de lluvias.

#### COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Hemos señalado que las técnicas de muestreo y de estimación de densidad de flebótomos dependen de situaciones particulares en el complejo conjunto de los factores epidemiológicos de la leishmaniasis de las cuales son vectores y también de las situaciones en que ocurre la incidencia de la infección.

En la región Neotrópica, la infección por *L. mexicana*, o por *L. braziliensis* es un riesgo ocupacional que se da en las áreas donde existe la zoonosis y donde algunas especies de flebótomos actúan como vectores. La transmisión, por lo tanto podría depender, entre otros factores, de la densidad de los flebótomos.

Los estudios que en algún modo se han relacionado con la dinámica poblacional de los flebótomos incluyen este asunto dentro del área de la distribución espacial o ecológica (WILLIAMS, 1970 a-b; CASTRO-GOMES, 1978). La frecuencia de la enzootia estaría relacionada, como en la asociación *Oryzomys* sp. - *L. mexicana amazonensis* y *L. flaviscutellata*, con la abundancia del vector (SHAW y LAINSON, 1972); en Centro América, apenas sabemos que *L. panamensis* y *L. olmeca* aumentan su densidad durante la época húmeda del año (FAIRCHILD y HERTIG, 1951; BIAGI y BIAGI, 1953), en tanto que *L. permira* y *L. flaviscutellata* son más abundantes en la época seca del año (DISNEY, 1968; SHAW y LAINSON, 1972).

Las técnicas de muestreo de flebótomos más eficientes en uso han sido la búsqueda en los abrigos naturales que no siempre da buenos resultados, porque especies como *L. panamensis* escapan a la búsqueda a nivel del suelo cuando, en cambio, ataca violentamente al hombre o es atraída por trampas luminosas; *L. Ovallesi* y *L. cruciata* exhiben intenso antropofílismo y poca atracción fototáctica con escasa presencia en los abrigos naturales y, en cambio, *L. shannoni* ataca al hombre y se la halla fácilmente en los abrigos naturales (WILLIAMS, 1970-a). Se han marcado flebótomos con polvos fluorescentes para estudiar su capacidad de dispersión o para conocer su fisiología gonadotrófica (KILLICK-KENDRICK y cols., 1977).

De las nueve especies de flebótomos antropofílicos de Venezuela, siete de ellas exhiben fototactismo (*L. gomezi*, *L. lichyi*, *L. migonei*, *L. ovallesi*, *L. panamensis*, *L. shannoni* y *L. townsendi*), las otras dos *L. evansi* y *L. longipalpis* no son atraídas por la luz y circunstancialmente están más relacionadas con la epidemiología de la leishmaniasis visceral que con la leishmaniasis cutánea (DEANE y DEANE, 1955; PIFANO y ROMERO, 1964).

La técnica de estimación poblacional que hemos desarrollado puede, por lo tanto, aplicarse al estudio de las variaciones densitarias de cualquiera de esas especies fototáticas. Existen, empero y por lo menos, dos reservas.

La estimación poblacional con la técnica de marcado y recaptura solamente será posible cuando en una localidad exista una única especie dominante; en presencia de una flebotomofauna mixta, los estimados deberían asignarse a la especie más abundante; esto ocurre circunstancialmente con *L. panamensis* por debajo de los 800 m.s.n.m. (MOGOLLON, MANZANILLA y SCORZA, 1977) y con *L. townsendi*, en la región de Los Andes, por encima de esa misma altitud. Rara vez las otras especies se presentan abundantemente.

La otra reserva se refiere al hecho de que la trampa se Shannon solamente atrae a hembras vacías, nulíparas o paridas; pocas veces hemos capturado especímenes llenos de sangre fresca a no ser que nos hayan picado mientras los estamos capturando. Asumiendo que el ciclo gonadotrófico de esta especie tarda entre cuatro y cinco días (SCORZA, ORTIZ y GOMEZ, 1968; CASTRO y SCORZA, 1977), sería posible estimar la alícuota de la población que estaría en reposo posthematofágico a partir del conocimiento de la relación entre nulíparas y paridas.

En conclusión, presentamos una técnica para la estimación cuantitativa de la densidad poblacional de *Lutzomyia townsendi* que podría ser utilizada para otros flebótomos con fototactismo; se basa en el tradicional método de captura, marcado y recaptura que utiliza al índice de Lincoln.

Nuestra técnica emplea un doble marcado con polvos fluorescentes de distinto color; un marcado lo es para el homogeneizado de una alícuota, con la población cuyo tamaño se desea medir; el otro marcado es para circunscribir al área y reducir el error de sobrestimación por inmigración de individuos desde el área adyacente no marcada. Los resultados de la técnica son altamente reproducibles. Presentamos al mismo tiempo otra técnica de cuádruple marcado que permite hacer simultáneamente y en el mismo sitio, una réplica triplicada de la determinación.

## REFERENCIAS CITADAS

- BAILEY, S.F., ELIASON, D.A. e ILTIS, W.G. (1962).- Some marking and recovery techniques in *Culex tarsalis*. Coq. flight studies. Mosq. News, 22: 1-10.
- BIAGI, F. y BIAGI, A.M. (1953).- Algunos flebótomos del área endémica de leishmaniasis tegumentaria del Estado Campeche (México), *Medicina, México*, 23: 315-319.
- BRADLEY, D.J. (1974).- Stability in host-parasite systems. En Usher, M.B. y Williamson, M. H., editores de *Ecological Stability* Halsted Press, N.Y., 71-87 pp.
- CASTRO-GOMES, A. (1978).- Transmissão de leishmaniose tegumentar americana. Trab. Multigrafiado 65 pp. Tese de la Univ. Belo Horizonte. Brasil.
- CASTRO, T. y SCORZA, J. V. (1977).- Cultivo de *Lutzomyia townsendi* (Ortíz, 1950), (Diptera, Psychodidae) a partir de una población alopátrica del estado Mérida, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. y Saneam. Amb.*, 17: 224-229.
- DEANÉ, L.M. y DEANE, M.P. (1955).- Observacoes sobre a transmissão da leishmaniose visceral no Ceará. *Hospital, Rfo.* 48: 347-364.
- DOW, R. P., REEVES, W. C. y BELLAMY, R. E. (1965).- Dispersal of female *Culex tarsalis* into a larvicided area. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14: 656-670.
- DISNEY, R. H. (1968).- Observations on a zoonosis: Leishmanias in British Honduras. *J. Appl. Ecol.*, 5: 1-59.
- DOBROSCY, Y. A. (1976).- Observaciones sobre la focalidad de la leishmaniasis dérmica en la subzona de norte de los desiertos de la URSS. *Med. Parasit. y Parazit.*, Bol., 45: 274-284 (en ruso).
- KILLICK-KENDRICK, R. (1978).- Recent advances and outstanding problems in the biology of Phlebotominae sandflies. *Acta Trop.*, 35: 297-313.
- KILLICK-KENDRICK, R., LEANEY, A. J., RIOUX, J. A., TURNER, D. P., YOUNG, C. J. y LANOTTE, G. (1977).- Marking sandflies with fluorescent powders. *Medical Entomol. Centenary 23<sup>rd</sup> to 25<sup>th</sup> November. Symp. Proceed. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg.*
- MOGOLLON, J., MANZANILLA, P. y SCORZA, J. V. (1977).- Distribución altitudinal de nueve especies de *Lutzomyia* (Diptera, Psychodidae) en el Estado Trujillo, Venezuela. *Bol. Dir. Malar. y San.Amb.*, 17: 206-223.
- NICKOL, B.B. (1977).- Introductory remarks, En Esch, G.W. editor de *Regulation of Parasite Populations*. Acad. Press, N. Y., 1-8 pp.
- PIFANO, F.C., ORTIZ, I. y ALVAREZ, A. (1962).- Bases taxonómicas para el conocimiento de los Phlebotomus de la región de Guatopo, Venezuela. *Arch. Venez. Med. Trop. y Parasit. Med.*, 4: 369-428.
- PIFANO, F.C. y ROMERO, M.J. (1964).- Investigaciones epidemiológicas sobre la leishmaniasis visceral en la Isla de Margarita, Edo. Nueva Esparta, Venezuela. *Gac. Méd. Caracas*. 72: 425-430.
- SCORZA, J. V. (1972).- The phototactic rhythms of some sandflies from Venezuela (Diptera: Phlebotominae). *Rev. Inst. Trop. Med. S. Paulo*, 14: 147-153.

SCORZA, J. V., ORTIZ, I. y GOMEZ, I. (1968).- Observaciones biológicas sobre algunos flebótomos de "Rancho Grande" (Venezuela). 5.- Modalidades gonadotróficas de *Phlebotomus townsendi* Ortiz, 1959. Acta Biol. Venez., 6: 52-65.

SERVICE, M.W. (1976).- *Mosquito ecology. Field Sampling Methods*. Appl. Sci. Publ. Lts., London 583 pp.

SHAW, J.J. y LAINSON, R. (1972).- Leishmaniasis in Brasil: VI. Observations on the seasonal variations of *Lutzomyia flaviscutellata* in different types of forest and its relationship to enzootic rodent leishmaniasis (*Leishmania mexicana amazonensis*). Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 66: 709-717.

SOUTHWOOD, T.R.E. (1966).- *Ecological methods with particular reference of the study of insect populations*. Methuen & Co. London, 391 pp.

THATCHER, V. E. y HERTIG, M. (1966).- Field studies on the feeding habits and diurnal shelters of some *Phlebotomus* sandflies (Diptera: Psychodidae) in Panama. Ann. Emt. Soc. Amer., 59: 46-52.