

PRUEBAS DEL DESARROLLO DE RESISTENCIA AL DDT DEL ANOFELES SACHAROVI, EN EL LEVANTE*†

C. GARRETT-JONES, B.Sc.(Econ.), M.Sc.

Entomólogo de la Organización Mundial de la Salud

C. GRAMICCIA, M.D.

Asesor Jefe en Paludismo, Organización Mundial de la Salud

En 1952 se vió que ciertas cepas griegas de *Anopheles sacharovi* Faure, después de varios años de rociamiento residual, habían adquirido una marcada resistencia al DDT.⁶ Esta fué, probablemente, la primera vez que se registró el fenómeno en el género *Anopheles*. En el presente trabajo presentaremos los resultados de las investigaciones hechas sobre la misma especie en el Líbano. Nuestro trabajo nos ha llevado a la conclusión de que la reacción de algunas cepas al DDT se altera en los dos primeros años de su aplicación. De ser así, pronto dejará de ser efectivo el DDT contra el principal vector del paludismo en el Levante, y la eliminación, e incluso el control conseguido de la enfermedad se hará más difícil de lo que era.

Debe señalarse especialmente el hecho de que llegamos a sospechar e investigar la resistencia al DDT solamente hacia el final del período de dos años y medio empleado en actividades antipalúdicas en el Líbano. Es más, no podemos manifestar aún con certeza que el fenómeno existe y se extiende. Esto obedece en gran parte a que tuvimos que comenzar el rociamiento con DDT en marzo (1952), seis meses después de nuestra llegada al lugar. Así, pues, nuestro primer estudio se hizo en la peor estación y no fué posible incluir pruebas sobre el comportamiento de los insecticidas en las paredes locales, ni sobre la reacción de los anofeles locales a los insecticidas. La campaña pudo haberse planeado con mayor efectividad y de modo más seguro y económico, si hubiéramos podido dedicar un año entero a un estudio

preliminar, provistos de una variedad de insecticidas y con un equipo compuesto de cámaras de ensayo, trampas de ventana y barracas de experimentación.

ANTECEDENTES DEL TRABAJO

La frontera norte entre Líbano y Siria tiene más de 100 km de longitud y cruza varias regiones geográficas, cada una con sus peculiaridades climatológicas, agrícolas y sociales. El *A. sacharovi* no se reproduce en las colinas, pero prevalece: (1) en algunos puntos de la llanura costera (altitud 0-60 m); (2) en la llanura de El Bekaa (260 m), y, (3) en la meseta del Orontes (600-700 m) (véase Fig. 1). Sus criaderos son los campos de arroz (que se encuentran en número variable en los llanos) y las ciénagas, especialmente las cercanas al Lago de Homs en la meseta. Así, pues, la distribución local de la especie es notablemente discontinua.

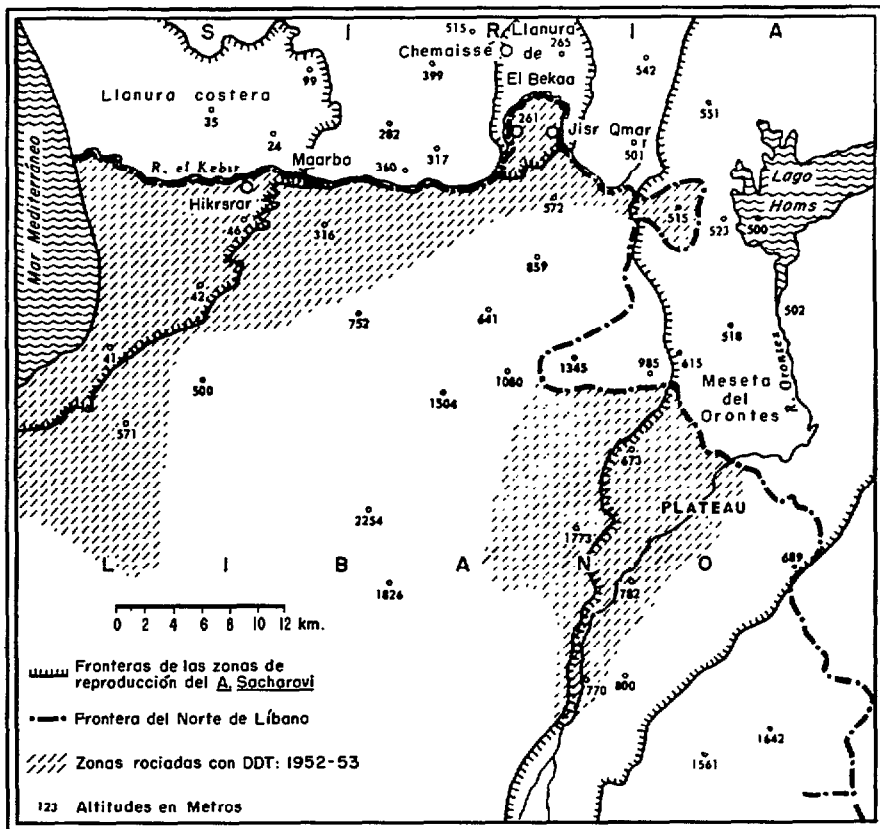
El clima de las llanuras es benigno y húmedo; la temperatura media mensual en las llanuras costeras varía de 12,5° a 26,2°C, y la humedad relativa, de 62,6% (enero) a 71,8% (julio). El clima de la meseta del Orontes es más crudo y seco; la temperatura varía de 8,5° a 27,8°C, y la humedad relativa de 43% (julio) a 76% (enero). Lluvea principalmente durante el invierno; en el verano son frecuentes los vientos fuertes. En la meseta, donde el abrigo natural es limitado, resultaría difícil que los mosquitos encontraran un albergue seguro si se trataran con DDT todas las viviendas y cuevas. Por otra parte, en las llanuras las condiciones de los refugios en el exterior y la general escasez de los anofeles posados en el interior indican que su endofilia diurna es sólo parcial.

El *A. sacharovi* se reproduce en las tres

* Publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 11, No. 4-5, 1954, p. 865.

† Los autores agradecen los valiosos comentarios del Dr. J. R. Busvine, de la Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres.

FIG. 1.—Líbano del Norte. Zonas de reproducción intermitente del *A. sacharovi* y relación entre esas zonas y las rociadas con DDT.



zonas mencionadas desde abril a noviembre. Los adultos abundan en el mes de junio y pueden abundar hasta el mes de marzo siguiente, en que termina su período invernal. Se han encontrado especímenes parcialmente nutridos en el invierno, al lado de otros a los que se les desarrollan las reservas de grasa del cuerpo. Antes del período hiemal las hembras emprenden un vuelo de dispersión de varios kilómetros, por lo cual pueden encontrarse especímenes invernado en aldeas y en colinas distantes de las localidades donde la reproducción se puede verificar con éxito.

Pudimos comprobar en cada zona la reproducción anual y estacional del *A. sacharovi* por medio de estaciones fijas de captura de larvas y de adultos. La tendencia en las llanuras guarda relación con el número y situación de los arrozales. Podemos

agregar que nuestras campañas de rociamiento de las viviendas en el Líbano no produjeron efecto apreciable sobre la reproducción, a diferencia de lo que sucedió en las campañas de Grecia.

Inspeccionamos, en muchos casos repetidamente, todas las aldeas de las tres zonas. Nuestros descubrimientos confirmaron los de investigadores anteriores según los cuales la alta proporción de niños esplénicos es generalmente correlativa de la presencia del *A. sacharovi* y de condiciones propicias a su reproducción. Así sucedía, por ejemplo, en las llanuras costeras en octubre de 1951, donde la proporción variaba entre 10% y 92%, a pesar del escaso número de anofeles posados en las casas. El análisis de la precipitina contenida en los alimentos de 213 hembras de todas las zonas, reveló la presencia de sangre humana en 42,2%,

siendo el índice de 51,0% en los dormitorios y de 20,4% en los establos.

La vivienda ordinaria de un campesino de El Bekaa y de las llanuras costeras, consta de una habitación solamente, que ocupan la familia y los animales. Las paredes son de cantos toscos de basalto, y el techo, plano y sostenido por postes y vigas de madera, se compone de ramas cubiertas de barro apisonado. Las paredes interiores están a veces recubiertas de barro o puede ocurrir que se emplee boñiga para tapar las grietas entre las piedras. En invierno se cocina en el interior de la vivienda, con carbón, y como la choza no tiene chimenea y muy rara vez ventana, se llena de humo que, año tras año va depositando una capa de hollín en todas las superficies. Estas condiciones favorecen considerablemente el número de mosquitos que hay en las casas y afectan la eficacia de los insecticidas.

En muchas aldeas existen, al lado de casas de piedra, "chozas" hechas de cañizo o de paja de maíz entretejida en forma de esteras. Estas viviendas están ocupadas también por la familia, con o sin su ganado. Las chozas, como las casas, se llenan de humo y hollín. Plantean también otro problema al rociamiento residual: no solamente se levantan nuevas chozas con frecuencia, y se derriban las antiguas, sino que en cualquier momento es necesario reemplazar los materiales de que están hechas. Es más, durante el verano se trasladan a sitios distantes de las aldeas grupos enteros de esas chozas, debido a la trashumancia o a la recolección de las cosechas. Finalmente, el *A. sacharovi* muestra gran predilección por las chozas como lugar de descanso, especialmente en ciertas épocas, por ejemplo, cuando se almacena forraje en ellas.

Las condiciones de vida son distintas en la meseta del Orontes, donde los establos están separados de la vivienda y ésta tiene chimenea. Las casas se construyen de piedra caliza y el interior se cubre con una mezcla de barro y paja y se blanquea todos los años con lechada. Los aldeanos, a lo largo del río Orontes, también hacen uso de

muchas de las cuevas que hay en las colinas como albergue estacional, como establo o almacén. Los anofeles muestran predilección por las cuevas como punto de reposo, debido sin duda a su temperatura uniforme. En la meseta del Orontes no se usan las chozas de paja, aunque es pronunciada la emigración estacional de los aldeanos a las colinas.

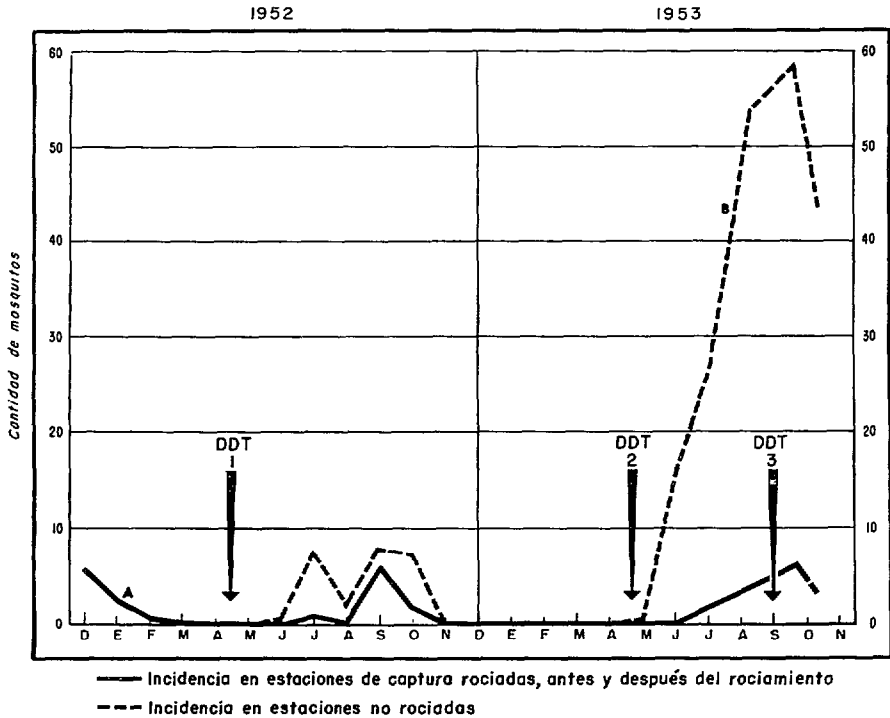
Los beduínos que habitan en tiendas de pelo de camello, visitan todas las zonas. A veces estas tiendas se instalan en las aldeas o cerca de ellas, y es lo cierto que el beduño constituye un importante factor de transmisión del paludismo, llevando la enfermedad a aldeas no afectadas. Las tiendas pueden calentarse demasiado durante el día para que los anofeles se posen en ellas.

CAMPAÑAS DE ROCIAMIENTO DE DDT Y PRIMERAS PRUEBAS SOBRE LOS ANOFELES SACHAROVI

Entre 1947 y 1951, las autoridades libanesas rociaron de DDT, de modo irregular, las habitaciones de las casas de algunas aldeas de las llanuras y de las colinas costeras. Los resultados no fueron satisfactorios, puesto que persistieron las altas tasas esplénicas. El descubrimiento en esta zona en 1952 y 1953 de *A. sacharovi* infectados indica que esta especie seguía transmitiendo la infección.

Durante estos dos años, el Grupo de Demostración del Control del Paludismo, de la OMS, se encargó de la lucha contra el paludismo en la zona norte del Líbano indicada en la Fig. 1. Las aldeas en que la tasa esplénica infantil excedía de 5%, así como aquellas en que se encontraron *A. sacharovi*, se rociaron en la primavera de 1952, y un año después se repitió la operación con polvo de DDT dispersable en suspensión acuosa al 75% y a razón de 2 g/m². En septiembre de 1953 se hizo un tratamiento adicional, a la misma dosis, en las llanuras de El Bekaa y de la costa, aplicando en algunas casas polvo de DDT en suspensión acuosa al 50% y en otras una emulsión de DDT al 25% en xileno. En

FIG. 2.—Número de *A. sacharovi* en reposo encontrados en un periodo de 30 minutos en Arida (Llanuras de El Bekaa).



ninguna de las tres zonas se tomaron medidas contra las larvas. En la meseta del Orontes el tratamiento se llevó a cabo por el método de rociamiento por franjas (Gramicicia y otros⁴).

En las estaciones de captura de la meseta, tratadas con DDT, (en algunas estaciones no tratadas se encontraron *A. sacharovi* durante todo el año, por lo general en gran cantidad) se capturó algún *A. sacharovi* al verano siguiente a la primera campaña, pero después las inspecciones dieron resultados constantemente negativos durante 14 meses. Puesto que no se capturó ningún anofeles con la trampa de ventana, llegamos a la conclusión de que el insecticida seguía siendo efectivo en aquella zona. Al parecer, y en contra de lo que sucede en otras partes, la lechada que usan en la meseta no destruye la eficacia del DDT.

La escasez general de *A. sacharovi* en las casas de las llanuras (especialmente en las costeras) de septiembre de 1951 a junio de

1953, contribuyó al principio a ocultar cualquier fracaso parcial de las campañas. Es cierto que la especie reapareció en julio de 1952 en las tres estaciones de captura tratadas en El Bekaa y que dos meses después, en una aldea, los índices tanto de las estaciones tratadas como de las no tratadas, diferían solamente en un 12% (véase Fig. 2), pero esos índices resultan tan bajos en relación con la intensa reproducción en los arrozales adyacentes, que, al principio, los atribuimos a mosquitos recién aparecidos tras de sobrevivir en las superficies que habían absorbido la mayor parte del insecticida. Estimaciones químicas de los residuos hechas en esa fecha arrojaron cifras inferiores a 0,1 g/m² en lo que atañe a algunas de las superficies.

Sin embargo, las pruebas efectuadas en las cámaras murales de ensayo que figuran en el Cuadro No. 1, se comenzaron en el otoño de 1952 en una habitación recién construída y que se roció con este fin, en

CUADRO No. 1.—Exposiciones de 10 minutos de hembras de *A. sacharovi* en cámaras murales de ensayo, septiembre, 1952, a febrero, 1953: Pruebas preliminares.

Estación	Procedencia de los mosquitos	Número de días desde el tratamiento a dosis de 2 g/m ²	Pruebas con DDT		Testigos		Mortalidad por DDT corregida según los resultados de control (%)
			Número sometido a prueba (en pequeños lotes)	Mortalidad no corregida (%)	Número sometido a prueba	Mortalidad (%)	
Septiembre 1952	El Bekaa: casa a un km de la localidad rociada, prueba	1-2	49	98	44	18	97,5
Octubre 1952	El Bekaa: casa a un km de la localidad rociada, prueba	29-31	44	95	38	29	93,5
Octubre 1952	Llano de la costa: Maarbo, a 2 km de la localidad rociada	49	17	100	13	8	100
Noviembre 1952	El Bekaa: Chemaisse 5,5 km de la localidad rociada	71	21	100	15	34	100
Enero 1953	El Bekaa: localidad en Siria	120-127	23	96	30	13	95
Febrero 1953	El Bekaa: localidad en Siria	154	12	83	10	0	83

Jesr Qmar, El Bekaa. Durante los primeros tres meses se obtuvo una mortalidad por cada 24 horas comprendida entre 100 % y 95 %, con 10 minutos de exposición; mientras que la de los testigos varió entre 34 % y 8 %. Estos resultados confirmaron nuestra impresión de que la especie *A. sacharovi* seguía siendo altamente susceptible al envenenamiento con DDT.

Sería arriesgado comparar esos resultados demasiado estrechamente con los de las pruebas realizadas en el verano y otoño del año siguiente, de que hablaremos más adelante. Muchos factores variaron de una serie a la otra. Los mosquitos hembras objeto de prueba en enero y febrero, por ejemplo, eran menos activos que los utilizados en septiembre y octubre. Esto puede haber mermado las posibilidades de supervivencia de los primeros al exponerlos al DDT, mientras que, por el contrario, pudo contribuir a aumentar las posibilidades de los especímenes en las pruebas de control.

En 1953, se reintrodujo, después de un intervalo de varios años, el cultivo del arroz en Hikr Srar (llanuras costeras), y se amplió en Arida (El Bekaa). En el verano, las

estaciones tratadas en esas localidades resultaron anofelopositivas (*A. sacharovi* especialmente). Con raras excepciones, los índices se mantuvieron bajos, a pesar de la intensa reproducción, pero se capturaron mosquitos, no solamente en los hogares ordinarios, sino en los edificios en que no había hollín (una mansión de un terrateniente en Arida y una nueva aduana en Hikr Srar). Estos edificios son de tipo urbano, con decoración interior de lechada de cal sobre yeso. Los cálculos relativos a los residuos de DDT demostraron que se mantenían en algunas superficies aproximadamente 2 g/m². Finalmente, cuando se rociaron de nuevo las aldeas en septiembre, con el objeto de controlar esos mosquitos, siguió encontrándose el *A. sacharovi* casi sin interrupción, aunque no se pudo encontrar ningún espécimen en otras aldeas de las llanuras costeras.

Sospechando resistencia al DDT, tratamos de averiguar la historia de esas dos aldeas con relación al insecticida. Resultó que ninguna había recibido tratamiento con anterioridad a nuestra campaña de 1952, aunque en una u otra época las autoridades

libanesas habían tratado aldeas que distaban de 2 a 5 kilómetros de Híkr Srar. Como ambas localidades se hallan en la frontera, quisimos conocer también la historia de sus vecinos sirios. Aunque hasta 1953 no se había efectuado rociamiento de las casas en aquella región, en 1951 se había introducido polvo de algodón que contenía DDT y BCH (hexacloruro de benzeno). Cuando las autoridades sirias hicieron obligatorio su uso en julio de 1952, habíamos registrado una acentuada baja del número de anofeles en nuestras estaciones de comprobación en territorio sirio. Esto no resultó una sorpresa, pues los aldeanos rociaron abundantemente sus casas con la substancia a fin de evitar las molestias causadas por los mosquitos y otros insectos. No se observó una baja concomitante en la meseta del Orontes, donde no se cultivaba el algodón.

Nuestras sospechas nos persuadieron a hacer, a fines de septiembre, que es cuando termina la época de reproducción, pruebas más completas sobre el terreno a propósito de la resistencia al DDT. Para ellas utilizamos todas las habitaciones que pusieron a nuestra disposición los habitantes del lugar.

TECNICA DE LA INVESTIGACION DE LA RESISTENCIA AL DDT

El trabajo se concentró en la aldea de Arida, en las llanuras de El Bekaa, debido a que allí abundaba el *A. sacharovi* y era donde se había observado el mayor número de especímenes "resistentes". Debido a que la aldea se encontraba a tres horas de viaje en automóvil de nuestro laboratorio, los posibles métodos de estudio se limitaron. El transporte de mosquitos a esa distancia había resultado ya fatal para muchos de ellos; no había tiempo para obtener un número suficiente de adultos de las larvas locales; los adultos atrapados no podían ser alimentados con sangre sin exponerlos a daños; no era posible recoger con regularidad los mosquitos caídos en las habitaciones, puesto que todas se utilizaban como viviendas, como gallineros, corral de vacas y a veces al mismo tiempo como graneros.

CUADRO No. 2.—*Muertes entre las hembras de A. sacharovi en habitaciones previamente tratadas con DDT**.

Técnica de prueba	<i>A. sacharovi</i> hembra					Número sometido a prueba (solos o en pequeños lotes)
	Número que muere en períodos de 12 horas después de la exposición				Número que sobrevivió 48 horas	
	0-12	12-24	24-36	36-48		
(a) Cámaras murales de ensayo (15 minutos)	73	7	7	6	13	106
Testigos	19	3	3	2	12	39
(b) Capturados en las paredes tratadas, sosteniendo el tubo de prueba en el lugar durante 5 minutos	18	3	3	4	16	44
Testigos	15	3	2	4	47	71
(c) Trampas de ventana (recogidas mañana y tarde)	13	3	4	6	27	53

* Estos especímenes fueron sometidos a prueba en octubre, 1953, en habitaciones tratadas previamente de 4 a 8 semanas y reteniendo en los sitios de prueba residuos medios de DDT, calculados a 0,86 g/m².

En Arida, la habitación en que se realizaba la mayor parte de las pruebas tenía el techo de cemento (ligeramente holliniento), paredes de yeso y dos ventanas. La puerta se mantenía cerrada durante la noche y la mayor parte del día. No tenía muebles, y en esa época se utilizaba solamente para cobijar una ternera durante la noche. La habitación se trató con emulsión de DDT en septiembre, de cuatro a ocho semanas antes de las pruebas.

Sólo se sometieron a prueba *A. sacharovi* hembras. Se emplearon los procedimientos siguientes:

(a) Se atrapaban los mosquitos en el tubo de ensayo en una estación no rociada de la misma aldea, se trasladaban a pequeñas jaulas y de éstas, utilizando con suavidad un tubo de aspiración de tipo italiano, se pasaban a la cámara de exposición, de

CUADRO No. 3.—*Comparación de la mortalidad por DDT del A. sacharovi en Líbano y en Grecia.**

Técnica de prueba	Número de mosquitos sometidos a prueba	Mortalidad corregida en series completas en períodos después de la exposición (%)		Mortalidad corregida de fracciones supervivientes, en períodos después de la exposición (%)	
		0-24 horas	0-48 horas	24-48 horas	48-72 horas
Líbano: (a) Cámara mural de ensayo, 15 minutos, 28-46 días después del rociamiento	106	43,7	60,1	29,2	—
Grecia: Jaula, 30 minutos, 23-29 días después del rociamiento	231	42,9	55,2	4,0	14,0
Líbano: (b) Captura en pared rociada, tubo sujeto al lugar 5 minutos, 24-55 días después del rociamiento	44	30,0	45,1	21,6	—
Grecia: Captura en habitación tratada, 31-40 días después del rociamiento	1.471	24,4	26,8	4,3	3,25

* Las cifras de Grecia las facilitaron Livadas y Georgopoulos⁶.

crystal, previamente fijada a la pared para el ensayo. Las cámaras se parecían a platillos Petri, pero medían 6 cm de profundidad y tenían un conducto de entrada en el ángulo. En cada prueba se utilizaban 10 mosquitos aproximadamente, los cuales tendían a congregarse en la pared, pero en caso necesario podía lograrse que lo hicieran dando ligeros golpes en la cámara. Cada espécimen se mantenía así en contacto con la pared entre 10 y 15 minutos. La cámara con los mosquitos se trasladaba deslizando una hoja de cartón por debajo y los especímenes se transferían cuidadosamente a una jaula limpia. Durante 48 horas los lotes de mosquitos enjaulados se depositaban en la aldea en una caja de madera chapeada que contenía follaje fresco para humedecerla. Los supervivientes se contaban a intervalos determinados.

Se observó poca diferencia en la tasa de supervivencia entre las hembras hartas y las no hartas, en un período de 48 horas—la temperatura, afortunadamente, era fresca en esta época. Posiblemente, por la misma razón, los resultados confirmaron que la muerte por DDT podía demorarse de 24 a 48 horas a contar de la exposición (véase Cuadro No. 3). Por lo tanto, nos pareció prudente, aun cuando la mortalidad en los testigos era alta, perseverar en nuestro criterio de 48 horas, corrigiendo nuestras cifras de conformidad, y concediéndole

menos importancia a la mortalidad que ocurría en períodos más cortos. Pampana⁸ señaló que en los climas más templados el período de 24 horas se consideraba como período suficiente de observación.

En el punto donde se realizaba la prueba de exposición se hacía inmediatamente un ligero raspado de la pared a fin de calcular, mediante el método de Alessandrini, la cantidad de DDT presente. Las raspaduras rindieron 1,0 a 1,5 cm³ de polvo en un área que medía 25 cm²; la profundidad media, por lo tanto, correspondía a 0,5 mm. No se averiguó el tamaño, forma y coherencia de los cristales de DDT. Se desechaba el resultado de la prueba si el cálculo subsiguiente de DDT era inferior a 0,1 g/m², pues en residuos tan pequeños (compuestos de cristales de tamaño y forma desconocidos), aun un mosquito altamente susceptible podía no recoger una dosis que le resultara mortal. Por el contrario, supusimos que cualquier residuo mayor, durante un contacto de 10 a 15 minutos, daría una mortalidad de 100 % en caso de no existir resistencia al DDT. Tuvimos que hacer una conjetura algo arbitraria sobre la "dosis mínima". Que esa dosis nos permitió distinguir dos grupos de especímenes que responden de manera diferente al DDT, creemos que queda demostrado por el hecho de que los especímenes que sobrevivieron a la prueba demostraron haber estado sujetos a una dosis

media más elevada que los que murieron (véase Cuadro No. 4).

(b) Los mosquitos que entraron en las habitaciones rociadas fueron atrapados por la mañana en tubos de ensayo. Irritados por el DDT, a veces emprendían el vuelo otra vez apenas se habían posado; por lo tanto, una vez colocado el tubo sobre el mosquito contra la pared, se retenía en el mismo punto hasta que se observaba el contacto del mosquito con la superficie rociada por lo menos durante 5 minutos. Se dejaba entonces al mosquito solo en el tubo durante 48 horas con una brizna de hierba y un tapón de algodón. Se tomaba una raspadura en el sitio de la captura, para analizarla por el método Alessandrini. Se hacían pruebas testigos con especímenes recogidos de la misma manera en estaciones no rociadas.

(c) En Arida y en Híkr Srar se instalaron en los cuartos rociados trampas de ventana con salida y con válvula de entrada (análogas a las empleadas por Garrett-Jones³). Se sacaban los mosquitos mañana y tarde por medio de los tubos de ensayo y se los mantenía en observación en los tubos durante 48 horas. Las puertas de las habitaciones se mantenían cerradas el mayor tiempo posible, excepto durante la hora de entrada máxima del *A. sacharovi* y se cerraban las vías de escape.

Los mosquitos caídos en las trampas se contaban y, cuando era posible se contaban también los caídos en los pisos del cuarto, con ayuda de sábanas. Se hacían observaciones sobre el comportamiento de los *A.*

sacharovi que penetraban en las habitaciones rociadas.

COMPORTAMIENTO LOCAL DEL ANOFELES SACHAROVÍ

La actividad diaria de los *A. sacharovi* en el mes de octubre varió considerablemente; el número de los que penetraban en una habitación determinada estaban en la proporción de 1 a 10 en días consecutivos. Esto, quizás, reflejara cierta influencia de las condiciones climatológicas sobre el número de insectos que salían de las ninfas.

Los especímenes de *A. sacharovi* (junto con el *A. sergenti*) se veían penetrar en las habitaciones en una procesión constante durante los 90 minutos siguientes a la salida del sol, a veces por las puertas y ventanas en que brillaba éste. En realidad, ésta parecía ser la hora principal de entrada en el otoño; después del éxodo de la noche, se veían pocos o ningunos especímenes en el interior de las viviendas—observación sorprendente en vista de la observación en contrario de uno de los autores cuatro meses antes, en que gran número de *A. sacharovi* descansaban durante la noche en una cabaña no rociada y la tasa máxima de picaduras de seres humanos fué de 80 por hora a las 4 de la mañana. Los hábitos de alimentación de la especie en octubre no quedaron esclarecidos, pues no se observaron picaduras del hombre ni del ganado, a pesar del interés en tomar nota de ellas. Sólo el 20% aproximadamente de los especímenes capturados

CUADRO No. 4.—Análisis de DDT residual, calculado por el método de Alessandrini, en los lugares de las pruebas de resistencia.*

Método	Datos sobre los especímenes que murieron dentro del término de 24 horas				Datos sobre especímenes que sobrevivieron más de 24 horas			
	No. de pruebas	No. de mosquitos	DDT residual (g/m ²)		No. de pruebas	No. de mosquitos	DDT residual (g/m ²)	
			Máximo	Promedio por mosquito			Máximo	Promedio por mosquito
(a) Cámara mural (15 minutos)	10	69	1,80	0,47	5	17	1,80	0,83
(b) Captura en pared rociada con DDT (5 minutos)	11	11	2,00	0,92	14	14	2,00	1,10

* Las pruebas unidas a lecturas inferiores a 0,1 g/m² fueron desechadas y se excluyen del cuadro.

durante el día en el interior de las habitaciones estaban hartos de sangre.

Los mosquitos que penetraron en las habitaciones rociadas se mostraron inquietos al cabo de una hora y tendían (como han observado otros investigadores) a volar constantemente, pero, por regla general, sin tratar de salir de la habitación. Acabaron por mostrar cierta tendencia a refugiarse bajo los muebles. Los especímenes posados en las paredes y techos rociados mostraban, con frecuencia, indicios de intoxicación (temblor de cuerpo o de patas).

En Arida, dos búsquedas en el piso del corral de vacas mencionado ya, hechas entre las 11 de la mañana y medio día, en días consecutivos, demostraron que el número de *A. sacharovi* caídos era notablemente menor que el de los especímenes vivos presentes entonces en la habitación. En las trampas de ventana se recogieron solamente 13 hembras muertas, en contraste con 71 hembras vivas, de las cuales 51 sobrevivieron durante 24 horas o más.

RESULTADO DE LA PRUEBAS DE RESISTENCIA AL DDT

Los resultados de las pruebas ahora descritas pueden verse en el Cuadro No. 2 y en la Fig. 3. La prueba se llevó a cabo con un total de 313 hembras de la especie *A. sacharovi*, exponiendo unas a los efectos del contacto con DDT de acción residual y actuando otras de término de comparación o grupo testigo. El DDT se aplicó en dosis estimadas entre 0,1 y 0,2 g/m². El Cuadro No. 2 da el número de hembras que murieron en cada período de 12 horas hasta las 48 horas después de la prueba, y la Fig. 3 muestra los mismos datos en forma que facilita la comparación de las tres técnicas.

En las pruebas y en los testigos, la mortalidad fué uniformemente más elevada durante las primeras 12 horas que en los períodos siguientes. Otros trabajadores observaron el mismo fenómeno; en nuestro propio trabajo lo atribuimos a la inevitable manipulación de los mosquitos antes y después de la exposición. Debe tenerse presente, sin embargo, la posibilidad de que

algunos especímenes usados en nuestros experimentos hubieran estado anteriormente en contacto con el DDT.

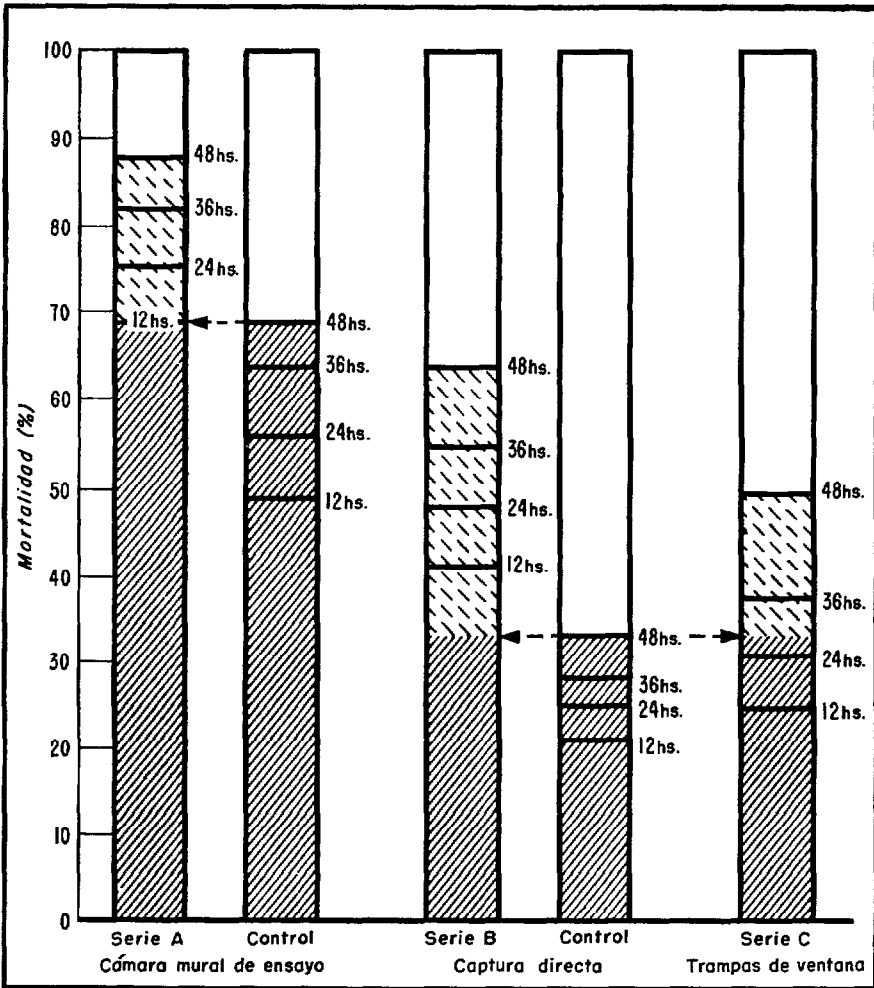
En vista de la mortalidad entre los testigos, es necesario hacer la corrección correspondiente en los resultados de la prueba a fin de tomar en consideración todas las muertes debidas a causa distintas del contacto con DDT. En el histograma (Fig. 3) las muertes supuestamente ajenas a esta causa, están representadas por las áreas sombreadas de línea continua, y la mortalidad atribuída al DDT, por los rectángulos de líneas de puntos o discontinuas.

El rasgo más notable de los resultados se pone de relieve en el Cuadro No. 3: las exposiciones efectuadas en octubre de 1953 mataron solamente un 43,7% y un 30,0% de los especímenes en 24 horas (según la técnica empleada). Por otra parte, el Cuadro No. 1 muestra que pruebas semejantes en las mismas cepas, realizadas de 12 a 7 meses antes, habían matado del 100% al 83% de los especímenes. Además, las bajas mortalidades, que ascienden sólo a 60,1% y 45,1% en el período de 48 horas, siguió a la exposición al DDT residual que dió un promedio, en cuarenta lecturas, de 0,86 g/m² en el medio milímetro superior de la capa de las paredes.

En el Cuadro No. 3 las mortalidades en el Líbano se comparan con cifras corregidas, de modo semejante, obtenidas por Livadas y Georgopoulos⁶ para el *A. sacharovi* resistente al DDT, en Grecia. Las cifras relativas a las primeras 24 horas se corresponden estrechamente—de hecho, demasiado estrechamente para aceptarlas sin recelo, habida cuenta de las diferencias entre las técnicas. Pero mientras en Grecia la exterminación por medio del contacto con DDT era casi completa después de 24 horas, en el Líbano el ritmo de muertes continuó disminuyendo por lo menos durante 48 horas. Esto pudiera obedecer a diferencias de clima y a la consiguiente tasa de metabolismo. De todos modos, en futuras investigaciones, debiera tenerse presente, la posibilidad de resistencia al insecticida.

Cabe suponer que la razón por la cual

FIG. 3.—Mortalidad entre las hembras de *A. sacharovi* observadas en las tres técnicas de prueba.



algunos mosquitos sobrevivieron al contacto con el DDT fuera que, por casualidad, se habían posado en superficies cuyo contenido de DDT residual era inferior al promedio. Tratamos de dilucidar esto calculando químicamente la cantidad de residuo en el día y en el sitio de cada exposición. Los resultados obtenidos por medio del método colorimétrico de Alessandrini se resumen en el Cuadro No. 4. Como se esperaba, los sobrevivientes de la serie *b* (la técnica que da el contacto más corto conocido) resistieron una dosis media más elevada que los de la serie *a*. Pero también se vió un resultado inesperado: en cada serie, la dosis media de DDT con que se ponían en contacto los

mosquitos que después sobrevivieron, fué mayor que la dosis media con que entraron en contacto los mosquitos exterminados. Así, pues, parece que el grado de susceptibilidad de la cepa o estirpe era discontinuo, o por lo menos que tenía dos “máximos” expresados por el número de especímenes que serían exterminados por igual contacto con diferentes dosis.

En la escala más alta, los cálculos de las dosis mostraron que ciertos especímenes podían sobrevivir, por lo menos, de 10 a 15 minutos de contacto con el DDT residual del orden de 1,80 g/m².

La diferencia entre las tasas de mortalidad de los mosquitos atrapados en superficies

rociadas y los atrapados al salir de la misma habitación, nos lleva a la conclusión de que aproximadamente la mitad de los especímenes no resistentes tuvieron contacto letal antes de tratar de abandonar la habitación. Esto puede confirmarse agregando el número de mosquitos encontrados muertos en las trampas de las ventanas al de los que murieron dentro de 48 horas de haber sido recogidos en las trampas. Se concluiría que muchos especímenes de una cepa no resistente, endoflica, de *A. sacharovi* podrían sobrevivir a su primera visita a una habitación rociada con DDT, si el residuo promedio fuera de 0,86 g/m² aproximadamente. Descartando el hecho de que su suerte ulterior dependería de todos los factores que limitan o promueven su tendencia a entrar de nuevo en los refugios rociados, resulta evidente, sin embargo, que toda campaña basada en una sola aplicación anual de DDT a 2 g/m², podría dar lugar fácilmente a la selección de cepas resistentes.

DISCUSION

Definición de términos.—A fin de poder discutir con provecho los resultados de nuestros estudios, parece necesario explicar lo que se entiende modernamente por resistencia al insecticida, así como definir algunos otros términos específicos empleados en este trabajo.

En primer lugar, parece que hay cepas de la misma especie de ciertos insectos no susceptibles desde el principio a los efectos del DDT en dosis ordinarias (y posiblemente, tampoco a los efectos de otros insecticidas por contacto). El criterio para este fenómeno, que puede denominarse resistencia natural al DDT, puede ser que ningún individuo de la cepa muere por efecto de un contacto varias veces mayor que el necesario para matar a todo espécimen de una cepa no resistente.

En segundo lugar, se ha postulado que la exposición de cualquier insecto a repetidos contactos subletales con un insecticida puede ser causa de que se "aclimate", es decir, que los contactos pueden aumentar su capacidad de resistencia. Un intento de confirmación

de este fenómeno en la mosca doméstica⁵ no tuvo éxito, y al parecer, no existen pruebas de que se produzca entre los mosquitos.

En tercer lugar, ciertos insectos, y entre ellos son notorias muchas cepas de moscas domésticas, no se han podido seguir destruyendo por medio de depósitos ordinarios de DDT al poco tiempo de la primera aplicación y como consecuencia de la misma. Esta resistencia adquirida y hereditaria luego, es diferente de la resistencia natural. No es necesario que todo espécimen posea un alto grado de resistencia al principio para que la selección sobrevenga, sino que basta que la cepa tenga un grado mayor o menor de susceptibilidad al DDT, de manera que si algunos especímenes sobreviven al ataque, su poder medio de resistencia es algo mayor que el promedio de toda la cepa. La progenie de los sobrevivientes mostrará un grado de resistencia a la vez mayor, por término medio, que el de la generación precedente y de mayor amplitud, y tenderá a la discontinuidad dentro de ella. Todas esas modificaciones aumentan la posibilidad de repetición del proceso de selección.

Refiriéndonos en este trabajo a los diferentes grados de resistencia al DDT observada en una cepa de insectos en un momento determinado, hemos usado el término "nivel crítico". Este término podemos definirlo como "el nivel de concentraciones de DDT residual, que cuando se hallan en forma fácilmente disponible y los insectos se posan en ellas hasta que la irritación o caída produce la interrupción del contacto, mata algunos, pero no todos los especímenes de la cepa."

Debido a la naturaleza irritante del DDT, su "nivel crítico" para una cepa de insectos puede o no poseer un límite superior. Por lo tanto, el hecho de que una dosis letal media mate a la mitad de los especímenes, no implica que a una concentración algo mayor todos recibirían una dosis letal antes de ser invitados a volar. Nuestra definición del "nivel crítico" es tal, que la selección puede surgir de todas las concentraciones de DDT comprendidas en

dicho nivel (tenga límite o no), pero no de concentraciones fuera del mismo.

Influencia del fenómeno en el control de insectos.—Un importante atributo de la resistencia por selección es que puede aparecer con mayor probabilidad en un insecto que completa varias veces su ciclo vital en el período de una aplicación de insecticida. Pues aun cuando el depósito inicial sea suficiente para matar a todos los especímenes, al aparecer la segunda generación (que surge de especímenes que escaparon a todo contacto), el residuo será menor; y sólo cabe esperar que, con el tiempo, se reduzca en muchas superficies por debajo del límite superior del “nivel crítico” del insecto. Esto ocurrirá antes en aquellos lugares donde hay causas para el rápido deterioro de los residuos de la superficie (como en las paredes hollinientas de las llanuras del Líbano).

Harrison⁶ ha definido la resistencia al insecticida como un “fenómeno anormal en el sentido de que cierta raza o cepa puede resistir una dosis que mataría a la generalidad de los individuos de la misma especie”. Esta definición que, en realidad, sólo se refiere a la resistencia por selección, presenta dificultades al trabajador de campo, que no puede saber cuál es “la generalidad de los individuos de una especie”, ni si los hay entre las cepas de que tiene que ocuparse. Lo que debe de buscar (si bien a veces no se le permite) son los “niveles críticos” principales de varios insecticidas en relación con cepas de insectos nocivos de área de operaciones; en otras palabras, la dosis (si de hecho existe) que “en la primera aplicación” mate a todo insecto peligroso que tenga contacto con ella. Con este conocimiento, que puede obtenerse solamente si se hacen las observaciones apropiadas antes del primer rociamiento, pueden hacerse los planes necesarios para aplicar y mantener los residuos por encima del límite mínimo peligroso; careciendo de este conocimiento, el plan de campaña puede producir en alguna parte una resistencia por

selección, quizás en alguna plaga que no era objeto de atención.

Si hemos expresado correctamente en qué consiste la resistencia por selección, es preferible que los especímenes que sobreviven a una campaña sean los que no han tenido contacto alguno con el DDT, más bien que los que han experimentado un contacto subletal. En términos prácticos, deben mantenerse grandes residuos en algunas superficies, en caso de que no puedan mantenerse con seguridad en todas, puesto que, a veces, una habitación no rociada es menos peligrosa que una habitación en la que el residuo ha disminuído hasta un nivel bajo. Por ejemplo, si en una aldea hay una pequeña proporción de habitaciones hollinientas, éstas deben rociarse a intervalos frecuentes, o (si esto resultara muy costoso) dejarlas sin tratar, a pesar de la presencia de anofeles.

Macdonald y Davidson⁷ calcularon la proporción de una cepa portadora de paludismo que debe ser destruída por un insecticida a fin de cortar la transmisión de la enfermedad: por ejemplo, una mortalidad diaria de 50 % de los mosquitos que penetran en un refugio tratado con dicho insecticida, resultaría satisfactoria a los fines de control de una transmisión moderada por medio de mosquitos endofílicos solamente. Citamos el resultado con el fin de hacer resaltar con la mayor claridad posible que, aun el cese inmediato de la transmisión del paludismo mediante una destrucción parcial de esta clase, pierde valor si los mosquitos sobrevivientes transmiten a sus descendientes una mayor capacidad de resistencia al insecticida.

Prueba de selección conducente a resistencia al DDT, del *A. sacharovi*.—El *Anopheles sacharovi* no está considerado como naturalmente resistente al DDT. La especie ha sido combatida eficazmente con este insecticida en la mayoría de los países en que suele encontrarse (Italia, Grecia, Turquía, Líbano, Irán). En la meseta del Orontes, donde nuestra campaña de DDT fué virtualmente la primera que se empen-

dió y donde las condiciones favorecían la persistencia de grandes residuos, no encontramos pruebas de que los especímenes sobrevivieran al contacto desde el cuarto al duodécimo mes siguientes al primer rociamiento (1952), ni, después del segundo rociamiento (1953), hasta el quinto mes, fecha en que terminaron nuestras inspecciones.

Creemos improbable que el nivel crítico del DDT relativo a las cepas de *A. sacharovi* que se encontraron en las dos llanuras, difiera del nivel normal relativo a esta especie. El empleo irregular del DDT en partes de dichas llanuras desde 1947 a 1951, y su uso en polvo de algodón en otras partes desde 1951 en adelante, pueden haber causado alguna selección a los efectos de resistencia, pero aun en el otoño e invierno de 1952—algunos meses después de nuestra primera campaña—nuestras pruebas (véase Cuadro No. 1) arrojaron mortalidades corregidas de 100% a 83% dentro de 24 horas.

La capacidad del *A. sacharovi* de ofrecer resistencia por selección ha quedado elocuentemente probada en Grecia⁶. Nuestra experiencia en 1953 constituye, a nuestro modo de ver, una prueba evidente de que la selección conducente a resistencia al DDT tiene lugar ahora en el Líbano; creemos que la prueba habría sido concluyente si hubiéramos podido someter a prueba mayor número de mosquitos durante un período más largo. Nuestra creencia se basa en tres factores: (1) A veces se encontró durante la mayor parte del día gran número de especímenes vivientes, por lo general mayor que la suma de especímenes muertos y moribundos, en habitaciones rociadas; (2) Una considerable proporción de especímenes sobrevivieron a pruebas de contacto relativamente fuertes; y, (3) La amplitud y desigualdad (posiblemente la discontinuidad) del nivel crítico fué evidente.

Consideramos, además, que el predominio de habitaciones hollinientas (ayudado quizás por los factores climatológicos) puede haber favorecido el proceso de selección a los efectos de resistencia al DDT, al reducir rápidamente los residuos por debajo del

nivel crítico correspondiente al *A. sacharovi*.

Durante los meses del invierno 1953-54, no pudimos encontrar mosquitos en un refugio que había sido tratado. Esto nos induce a hacer conjeturas sobre el estado de la primera generación de la nueva estación de reproducción, la de 1954. Si esta generación proviene especialmente de las hembras producidas localmente, que encontraron un refugio libre de insecticida durante el invierno, su grado de resistencia sería igual al de aquéllas. Pero el *A. sacharovi* es conocido en Levante por sus vuelos prehiemales de varios kilómetros (confirmación de lo cual se obtuvo en todas las zonas) y la primera cría de la nueva estación debiera ser menos resistente que la última cría de la estación anterior, si, en efecto, aquélla descende en gran parte de hembras que emigraron de las zonas no rociadas. Debido a la naturaleza de la frontera sirio-libanesa dichas zonas existían, en 1953, dentro del radio de vuelo de este mosquito. Así, pues, cabría esperar que una buena aplicación de DDT en el otoño contribuiría a la eficacia de la aplicación en la primavera siguiente eliminando las hembras invernantes.

Trapido llegó a la conclusión de que el *A. albimanus* en Panamá manifestó una tendencia hereditaria a evitar la clase de superficies que generalmente reciben la mayor cantidad del insecticida rociado (es decir, las paredes y techos)^a. Nosotros encontramos que el *A. sacharovi* tendía siempre a posarse bajo los muebles, etc., pero no pudimos observar que este hábito se intensificara después de nuestras campañas de rociamiento, salvo en los especímenes repetidamente irritados por el contacto con el DDT, que finalmente acertaban a posarse en una superficie no rociada.

Resistencia de otros anofeles al DDT.—

La resistencia del *A. sacharovi* al DDT plantea la cuestión de si hay pruebas de que el mismo fenómeno se presenta en otros anofeles. La respuesta es dudosa. Varios trabajadores de campo mostraron que el

^a Véase Trapido, *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 11:885, 1954.

DDT no extermina a todos los anofeles atacados, pero no se ha podido determinar si esta es la causa o el resultado de la resistencia por selección. Rara vez se hacen pruebas concienzudas en el campo antes de rociar un área por primera vez, de modo que generalmente se carece de los datos fundamentales para estudios ulteriores. Con frecuencia las técnicas empleadas no indican, ni siquiera aproximadamente, la cantidad de DDT que recogen los mosquitos sometidos a la prueba. De nueve informes publicados de pruebas de campo mencionadas por Macdonald y Davidson⁷, siete no contienen indicación de la evaluación química de la dosis, y ninguno hace referencia al tiempo y sitio de exposición, ni a la duración del contacto. Lo que es más, pocos autores dicen si las localidades en que trabajan han tenido o no que ver anteriormente con el DDT.

Davidson^{1, 2} obtuvo resultados significativos en Kenya, con el *A. gambiae* y el *A. funestus*. Expuso mosquitos hembras a varias fórmulas de DDT y de otros insecticidas, primero durante cinco minutos y después aumentando el tiempo gradualmente hasta una hora. Con DDT no obtuvo, dentro de las 24 horas, la muerte de todos los especímenes expuestos durante menos de una hora; y aun así las fórmulas dieron mortalidades (incluyendo las muertes por otras causas) que oscilaron de 100% a sólo 38%. Esto ocurrió más de nueve semanas después del tratamiento, y no sabemos la cantidad de residuo que quedaba entonces en la superficie. Durante los dos meses siguientes al tratamiento, las exposiciones de 30 minutos dieron (sin corregir) mortalidades de 98% a 13%.

Davidson midió también, por medio de su "prueba de dos jaulas" el tiempo que un mosquito permanecía en contacto con una superficie rociada de DDT, antes de que la irritación produjera una reacción de huida y la mortalidad consiguiente. En el caso del *A. gambiae*, el contacto medio fué de 8 minutos y la mortalidad resultante de 32%; en el del *A. funestus*, el contacto duró 10

minutos y la mortalidad fué de 51%. Una vez hecha la corrección de conformidad con los resultados testigos, esas mortalidades fueron sólo de 16% y 39%, respectivamente. El cálculo de la cantidad de DDT depositada en las paredes de las jaulas dos semanas antes de las pruebas, demostró que variaba entre 207 y 67 miligramos por pie cuadrado.

Estos interesantísimos resultados muestran una reacción de los principales vectores africanos del paludismo, comparable a la del *A. sacharovi* en los llanos de El Bekaa, Líbano, en 1953.

La prevención de la resistencia al DDT por selección.—Puesto que la resistencia de los anofeles a los insecticidas (DDT y otros) puede ocurrir en cualquier lugar y momento, cabe preguntar qué puede hacer un servicio nacional de lucha contra el paludismo para impedir que se inicie la selección, o, en caso de que se inicie, descubrirla y combatirla antes de que anule los beneficios de costosas campañas. Una cosa que vale la pena ensayar sería instruir al grupo científico asignado a la lucha contra el paludismo que de ninguna manera trate la zona con insecticida residual en los doce primeros meses. Ese período debe emplearse en estudiar la situación local del paludismo, el resultado de los insecticidas aplicados experimentalmente a superficies locales, y la reacción a los mismos de los anofeles locales y de otros insectos (véanse las recomendaciones de Macdonald y Davidson⁷). Desde el principio se debe instalar un laboratorio en la zona palúdica, destinar un fondo a la construcción de cabañas, de trampas de ventana, etc., y nombrar un funcionario de relaciones públicas para que explique al público los motivos de la demora del rociamiento. Las dificultades presupuestarias o de carácter político de este sistema son pequeñas comparadas con las que causaría el fracaso de un programa nacional de lucha contra el paludismo. Sólo mediante un plan de esta clase se puede asegurar el control continuo del paludismo y hacer posible la desaparición de la enfermedad.

REFERENCIAS

- (1) Davidson, G.: *Nature* (Lond.), 170:702, 1952.
- (2) Davidson, G.: *Bull. Ent. Res.*, 44:231, 1953.
- (3) Garrett-Jones, C.: *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 4:547, 1951.
- (4) Gramiccia, G., Garrett-Jones, C. y Sultan, G. El Din: *Riv. parassit.*, 14:123, 1953.
- (5) Harrison, C. Mary: *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 46:236, 1952.
- (6) Livadas, G. A. y Georgopoulos, G.: *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 8:497, 1953.
- (7) Macdonald, G. y Davidson, G.: *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 9:785, 1953.
- (8) Pampana, E. J.: *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 1:253, 1948.

EVIDENCE OF THE DEVELOPMENT OF RESISTANCE TO DDT BY ANOPHELES
SACHAROVI IN THE LEVANT (*Summary*)

Resting *A. sacharovi* reappeared in the autumn of 1953 on some walls in certain localities of north Lebanon which had been treated with DDT during the preceding 18 months. Tests were made on the spot with female mosquitos having a known minimum contact of 5 to 15 minutes with DDT residues, chemically estimated at 0.1–2.0 g/m². The resulting mortality within 48 hours (corrected to allow for deaths observed in the control runs) was 60.1% and 45.1% according to the technique used, compared with 100% to 83% within 24 hours in similar tests on the same strains some months earlier. The specimens which died had contacted a lower average residue than those which survived, and the latter included some exposed for 15 minutes to 1.8 g/m².

The theory is put forward that selection for DDT resistance (a phenomenon already known in *A. sacharovi* elsewhere) is probably occurring in these Lebanese strains after only two seasons of regular spraying. The prevalence of sooty surfaces, which absorb DDT, is considered to be a factor contributing to selection by reducing residues to a level within the "critical range" for the non-resistant mosquitos. Attention is drawn to work which indicates a similar response to DDT in strains of *A. gambiae* and *A. funestus* in Africa.

The importance is stressed of planning anti-malaria campaigns in a way that will either prevent selection for resistance or will permit counteraction of it before it can lead to large wastage of public money.