

DETERMINACION DE LA CANTIDAD DE SANGRE INGERIDA POR LOS INSECTOS POR MEDIO DEL HIERRO RADIOACTIVO (^{59}Fe)*

JOSE RABELO DE FREITAS Y ARINO DA SILVEIRA GUEDES

Centro de Investigaciones, Instituto Nacional de las Enfermedades Endémicas Rurales; Facultad de Filosofía, Universidad de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

Muchos investigadores han utilizado el hierro radiactivo para marcar la sangre, sobre todo en estudios de la anemia, la infección malárica, longevidad de los eritrocitos y pérdida de sangre por anquilostomas. Khudakov (1) ha empleado varios radioisótopos para marcar moscas y cucarachas, entre ellos el ^{59}Fe , que no resultó eficaz en sus experimentos. Se han utilizado muchas especies de radioisótopos para marcar artrópodos, pero al tratar de hallar la cantidad de sangre ingerida por los insectos, el ^{59}Fe pareció ser el más apropiado.

Algunos autores opinan que el volumen de sangre por comida es un dato importante en el estudio de la epidemiología de ciertas enfermedades transmitidas por los artrópodos. En algunos trabajos se han referido a la relación entre la cantidad de sangre ingerida por los insectos y el número de huevos que ponen, la susceptibilidad de los insectos al *Plasmodium*, y otras características genéticas, ecológicas y fisiológicas (2, 3).

Hovanitz (4) ha observado que el número de huevos puestos por un mosquito es directamente proporcional a la cantidad de sangre que ingiere y absorbe. Al relacionar la cantidad de sangre ingerida por un mosquito con el número de quistes que produce, dedujo que hay un ligero aumento del número de quistes por cada mosquito a medida que éste ingiere más. Trager (5) se refirió a la mínima cantidad de sangre

necesaria para el desarrollo de cada grupo de huevos de mosquito, y da algunas referencias sobre el tema.

Woke, Ally y Rosemberg (6) suponiendo que los anofeles no producen huevos a menos que obtengan una ración de sangre, relacionaron el número de huevos desarrollados con la cantidad de sangre humana ingerida. Woke había determinado con anterioridad (7) la cantidad de sangre ingerida por el *Aedes aegypti* procedente de siete especies distintas de vertebrados.

Rachou *et al.* (8) determinaron el volumen de sangre ingerido por el *Culex pipiens fatigans*, y comentaron la importancia de su medición para los estudios epidemiológicos, fundándose en que esta especie es en el Brasil el vector principal de la filariasis.

La determinación del volumen de sangre ingerido por un insecto cada vez que se alimenta, debe ser simple y exacta. El método del peso, que se utiliza mucho, consiste, por descontado, en pesar los mosquitos antes y después de alimentarse. Es necesario anestesiar a cada mosquito antes de pesarlo. El método basado en el cálculo de la hemoglobina parece ser más laborioso y menos exacto que el anterior.

Convencidos de la importancia de estos cálculos y de sus inherentes dificultades, los autores de este trabajo decidieron elaborar un nuevo método mediante el empleo de radioisótopos. Utilizando el conocido procedimiento de la dilución de isótopos para medir el volumen de un líquido, han ideado un método de determinar la cantidad de sangre ingerida por los insectos hematófagos.

Se sabe que al inyectar a un vertebrado un compuesto de hierro que contenga ^{59}Fe , una porción de este último desaparece de la circulación a las pocas horas, porque la

* Trabajo presentado en la XII Reunión Anual de la Sociedad Brasileña para el Adelanto de la Ciencia, julio de 1960, Piracicaba, São Paulo, Brasil. Fue realizado en cooperación con el Laboratorio Radioquímico del Instituto de Investigaciones Radiactivas, Escuela de Ingeniería, Universidad de Minas Gerais. Publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 25, No. 2, 1961.

retiene el sistema hematopoyético, donde se utiliza para la síntesis de la hemoglobina. La hemoglobina marcada permanecerá durante varios meses en la sangre del vertebrado, aun teniendo en cuenta el período de semi-desintegración de este isótopo (45 días).

METODOS

Los autores inyectaron 44,5 µc. de citrato de hierro estéril (1,5 ml. en solución acuosa) en la corriente sanguínea de un pollo de 4 meses. Tres días después de la inyección, los eritrocitos estaban ya marcados por la incorporación del ⁵⁹Fe a la hemoglobina, y entonces comenzaron los experimentos de alimentación de los insectos. Precisamente antes de la ingestión de sangre por los insectos, se calculaba la actividad de 20 mm³. de sangre, extraída por medio de una pipeta hemométrica.

La radiactividad se midió con un contador (de pozo) de escintilación. El período de recuento era de 1 a 3 minutos, según el grado de actividad de la muestra. Los triatomídeos dieron de 28.000 a 35.000 emisiones por minuto, y los mosquitos, alrededor de 440 también por minuto. La razón de la radiactividad del ⁵⁹Fe contenido en el insecto después de su alimentación, a la de 1 mm³. de sangre, expresa la cantidad de sangre ingerida por aquél.

Después de varias semanas de ayuno, se permitió a los triatomídeos alimentarse durante una hora poco más o menos de pollo marcado, al cual se había despojado antes de las plumas de ciertas partes del cuerpo. Del mismo modo, se permitió a los *Culex* alimentarse a expensas del confinado pollo en la jaula de los mosquitos, durante la noche.

Con objeto de poder comparar los resultados obtenidos por este nuevo método, con los arrojados por el del peso de los mosquitos, se pesó a todos los insectos por grupos en una balanza analítica, antes y después de cada ingestión de sangre.

RESULTADOS

En el cuadro No. 1 se dan algunas de las mediciones preliminares.

Las cifras obtenidas en cuanto a los

CUADRO No. 1.—Promedio del volumen de sangre medido (mm³.) por los métodos gravimétrico e isotópico.

Especies y su fase vital	Promedio del volumen ingerido (mm ³ .)		
	No. de insectos	Método gravimétrico	Método isotópico
<i>Triatoma infestans</i> , adultos.....	20	320	350 ± 130
<i>T. infestans</i> , ninfas en la 5a. fase.....	24	440	440 ± 180
<i>Panstrongylus megistus</i> , ninfas en la 1a. fase..	100	4,5	4 ± 2
<i>Culex pipiens fatigans</i> .	32	3,3	10 ± 3

triatomídeos (cuadro No. 2 y gráfica) por el método de la dilución del isótopo concuerdan con las obtenidas por el método gravimétrico, cuando éste se aplicó inmediatamente después de la ingestión. Una parte (43 %) del líquido ingerido por las ninfas de la primera fase fue eliminada (libre de ⁵⁹Fe) unas horas después de cada ingestión de sangre. Sin embargo, se sabe que los artrópodos pierden del 50 al 75 % de líquido pocas horas después de la ingestión (9).

Se observó que la cantidad media de sangre ingerida por el *Culex* durante cada ingestión, era de 3,3 mg. según el método gravimétrico (3,2 mg. según Rachou *et al.*) (8), y de 10,2 mm³. por el nuevo método, lo que significa que esta especie elimina en menos de 12 horas alrededor del 70 % del líquido ingerido durante la alimentación. De Freitas, Mayrink y Mansur Neto (10) han hallado una pérdida parecida del *Phlebotomus longipalpis*, el cual había ingerido 0,60 ± 0,14 mm³. de sangre.

OBSERVACIONES

Las ventajas del método del isótopo ⁵⁹Fe son:

1) *En los vertebrados:*

a) El período de semidesintegración del isótopo es suficientemente largo.

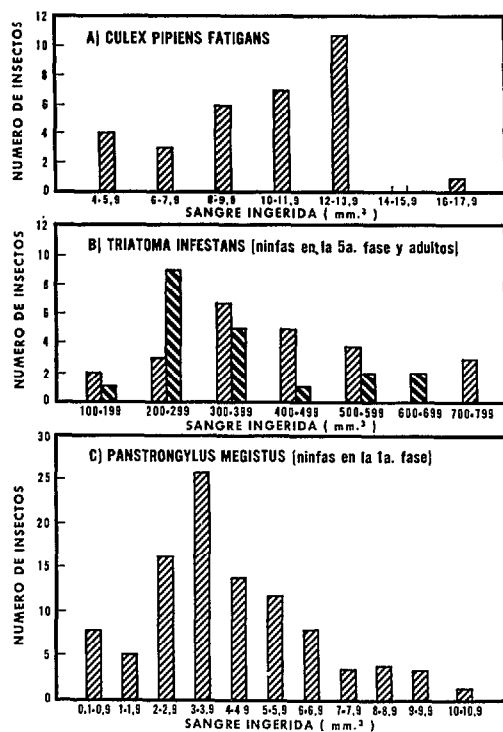
b) El hierro se convierte en grado elevado en hemoglobina marcada.

c) El isótopo permanece durante varios meses en la sangre del animal marcado.

CUADRO NO. 2.—Determinación de la cantidad de sangre ingerida por algunos insectos: comparación del método del ^{59}Fe y el método gravimétrico.

Especies	Número de insectos	Método de la dilución del isótopo (^{59}Fe)			Método gravimétrico		
		Promedio de recuentos por minuto en:		Sangre ingerida (mm. ³)	Peso (mg.)		Sangre ingerida (mg.)
		un insecto	1 mm. ³ de sangre (estándar)		Sin alimentar	Alimentados	
<i>Triatoma infestans</i> :							
adultos	20	28.130	81	350 ± 130	240	560	320
ninfas en la 5a. fase	24	35.590	81	440 ± 180	110	550	440
<i>Panstrongylus megistus</i> :							
ninfas en la 1a. fase	100	420	94	4 ± 2	1,5	6	4,5
<i>Culex pipiens fatigans</i>	32	440	42	19 ± 3	2,2	5,5	3,3

FIG. 1.—Distribución de la frecuencia del volumen de sangre en algunos insectos después de la ingestión, determinada mediante ^{59}Fe .



2) En los insectos:

a) El isótopo emite rayos gamma de gran energía, que pueden descubrirse fácilmente.

b) El isótopo administrado por este método puede observarse a través del organismo del insecto y ser de utilidad para el estudio del metabolismo del hierro durante las diversas fases de su ciclo vital.

c) Con un isótopo de radiactividad suficientemente intensa los insectos pueden quedar muy marcados, lo que permitirá encontrarlos en sus escondrijos naturales—por ejemplo, en las grietas de las paredes o en los techos de paja—durante la primera o las dos primeras semanas siguientes a su ingestión de sangre.

d) Este método permite hallar el volumen de sangre que pierden los mosquitos durante la alimentación.

RECONOCIMIENTO

Deseamos expresar aquí nuestro reconocimiento al Dr. E. Paulini, Jefe del Laboratorio Químico, por sus consejos, su crítica constructiva y sus numerosas y útiles sugerencias.

REFERENCIAS

- (1) Khudakov, G. D.: *Bull. mosk. Obsch. Ispyt. Prir.*, Otdel Biol., 64:35, 1959 (Tomado de: *Nucl. Sci. Abstr.*, 14:1711, 1960).
- (2) Bates, M.: *The natural history of mosquitoes*, Macmillan, Nueva York, 1949.
- (3) Wigglesworth, V. B.: *The principles of insect*

- physiology*, 5a. ed., Methuen, Londres, 1953.
- (4) Hovanitz, W.: *Am. Jour. Hyg.*, 45:67, 1947.
- (5) Trager, W.: *Nutrition*. En: Roeder, K. D., ed., *Insect Physiology*, Wiley, Nueva York, 1953, pág 350.
- (6) Woke, P. A.; Ally, M. S., y Rosemberg, C. R., Jr: *Ann. Ent. Soc. Am.*, 49:435, 1956.
- (7) Woke, P. A.: *Am. Jour. Trop. Med.*, 17:729, 1937.
- (8) Rachou, R. G.; Lima, M. M.; Memoria, J. M. P.; Ferreira Neto, J. A., y Azambuja, C. E. A.: *Rev. Bras. Malar.*, 9:505, 1957.
- (9) Buck, J. B.: *The internal environment in regulation and metamorphosis*. En: Roeder, K. D., ed., *Insect physiology*, Wiley, Nueva York, 1953, pág 191.
- (10) Freitas, J. R. de; Mayrink, W., y Mansur Neto, E.: Quantidade de sangue ingerida in natura per *Phlebotomus longipalpis* (Psicodidae), determinada pelo ferro radioativo (^{59}Fe). Trabajo presentado en la XII Reunión Anual de la Sociedad Brasileña para el Progreso de la Ciencia, Paracicaba, São Paulo, Brasil, julio de 1960.