



Efecto atrayente del ácido láctico sobre poblaciones naturales de *Anopheles albimanus* de Laredo (Trujillo, Perú)

Attractive effect of lactic acid on *Anopheles albimanus* natural populations from Laredo (Trujillo, Peru)

Cecilia Aguilar¹, Vanessa Amaranto¹, Norma Córdova¹, Melissa Esparza¹,
Claudia Gordillo¹ y Judith Roldan²

¹Alumnas de la Escuela AP de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú. ²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar cuál de las concentraciones de ácido láctico: de 0.1 ó 1%, produce mayor atracción sobre una población de *Anopheles albimanus* hembra, obtenidos a partir de larvas colectadas en criaderos naturales, del sector Conache-Laredo (Trujillo, Perú). Para determinar la concentración atrayente, se escogieron 60 hembras que fueron sometidas al ácido láctico a 0.1% y 1% en un olfatómetro de acrílico en forma de "Y". El análisis estadístico de los datos se realizó mediante la prueba T de student. Se demostró que el ácido láctico al 1% tuvo el mayor efecto atrayente sobre la población utilizada de *An. albimanus*.

Palabras clave: *Anopheles*, ácido láctico, concentración, olfatómetro.

ABSTRACT

The aim of this research was to determine which one of the lactic acid concentrations: 0.1 or 1.0% has a major attraction on a female *Anopheles albimanus* population, obtained from larvae collected in natural breeding grounds in the Conache-Laredo (Trujillo, Perú) sector. To determine the attracting concentration, 60 females were selected, which were subjected to 0.1% lactic acid and 1% in a "Y" acrylic olfactometer. Statistical analysis of the data was performed using the student T test. It was shown that 1% lactic acid had the greatest attractive effect on the population of female *An. albimanus*.

Keywords: *Anopheles*, lactic acid, concentration, olfactometer.

INTRODUCCIÓN

Anopheles, género de la familia Culicidae, está conformado por aproximadamente 400 especies, de las cuales solo 40 están involucradas en la transmisión de *Plasmodium* spp., agente etiológico de la malaria¹. De ellas, en el departamento de La Libertad-Perú se han identificado a *An. pseudopunctipennis*, *An. calderoni* y *An. albimanus*^{2,3}.

Las formas adultas de *Anopheles* se alimentan de sustancias azucaradas que usan para el vuelo y sus necesidades metabólicas basales, sin embargo, en las hembras es obligatorio la ingestión de sangre para conseguir las proteínas necesarias para el desarrollo y la puesta de huevos, la cual es obtenida de animales de sangre caliente^{4, 5}.

Las señales de alimentación, reproducción y sitios de oviposición llegan a los zancudos a través de las corrientes de aire en forma de compuestos volátiles⁷. Para percibir estas señales utilizan el olfato, requiriendo la actividad de cascadas de transducción. A nivel celular, en los insectos este proceso se centra en un grupo de neuronas receptoras olfativas (ORNs) que son encerradas en pequeñas estructuras llamadas sensilias⁸.

Ciertos compuestos volátiles generan atracción en un zancudo, es decir, provocan cambios conductuales, de tal manera que estos vuelan en dirección de la fuente que emite tales compuestos. Sin embargo, la respuesta frente estos atrayentes varía de acuerdo al comportamiento de las especies de zancudos⁹ debido a la variabilidad genética entre especies¹⁰. Existen preferencias por diferentes zonas del cuerpo del huésped, debido a que la gran mayoría de kairomonas diferentes del CO₂ son producidas por las glándulas sudoríparas localizándose especialmente en la cabeza, las axilas, región púbica, las palmas de las manos y de los pies¹¹.

La importancia de la atracción por ciertos compuestos volátiles es más evidente cuando se establece la relación huésped-vector.⁷ Un zancudo hembra, en búsqueda de sangre, utiliza una mezcla compleja de compuestos volátiles entre los que sobresalen CO₂, 1-octen-3-ol, ácido butírico, ácido láctico, acetona, 4-metilfenol, amonio, estradiol y lisina¹³.

El ácido láctico es un ácido orgánico producido en la piel de los humanos durante el metabolismo anaeróbico de las células mioepiteliales de las glándulas sudoríparas ecrinas¹⁴. Asimismo, dicho compuesto puede ser producido artificialmente a partir de la fermentación de la celulosa, lignocelulosa y sacarosa.¹⁵ El ácido láctico producido artificialmente ha sido evaluado como atrayente para *An. gambiae* a concentraciones de 10%, 1%, 0,1%, 0,01%, 0,001% y 0,0001% solo y en asociación con otros compuestos, encontrándose que por sí solo no resulta significativamente más atractivo que en combinación con otros componentes del sudor humano¹⁶.

Teniendo en cuenta que no se han registrado trabajos sobre la atracción del ácido láctico con *An. albimanus* en el Perú, el objetivo del presente estudio fue determinar cuál de las dos concentraciones de ácido láctico, 0.1% o 1 % tiene mayor atracción sobre una población natural de *An. albimanus* hembra procedentes del sector Conache-Laredo (Perú).

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección e identificación de *An. Albimanus*:

La colecta de larvas se realizó de acuerdo al Manual de Campo para vigilancia entomológica del Ministerio de Salud³, a partir de cuerpos de agua ubicados en el sector Conache, distrito de Laredo, provincia de Trujillo, Región La Libertad, Perú (8° 06' 59.23" LS y 78° 59' 07.01" LO). Se hizo la identificación de la especie *Anopheles albimanus* mediante la clave taxonómica propuesta por la OMS¹. Posteriormente, fueron ubicados en recipientes de plástico de 1L de capacidad los cuales se cubrieron con tul tupido blanco y se aseguraron con doble liga, hasta que emerjan los adultos.

Determinación de la capacidad atrayente

Para determinar la concentración atrayente de ácido láctico se escogieron 60 hembras de 5-8 días de eclosión que se encontraban ávidas, estas se dividieron en 2 grupos experimentales (A y B) de 30 hembras cada uno, los cuales se expusieron a una concentración de ácido láctico al 0.1% y 1%, respectivamente. A su vez estos fueron separados en 3 subgrupos de 10 hembras para cada repetición (A₁, A₂ y A₃) y (B₁, B₂ y B₃). En el puerto N°01 del olfatómetro de acrílico en forma de "Y" se colocó un papel filtro Whatman N°01 (1 x 5 cm²) impregnado con 100uL de ácido láctico a 0.1% y en el

puerto n°02 un papel filtro de las mismas medidas con agua estéril para inyección usado como control. Se colocaron 10 hembras colectadas al azar en el puerto de liberación durante 15 minutos para su aclimatación antes de ubicar las sustancias en los puertos correspondientes. El tiempo del experimento fue de 15 minutos y se contabilizó el número de hembras que se mantuvieron durante este período en cada puerto.

Tratamiento estadístico

Se realizó un análisis estadístico con la prueba T-student para establecer la diferencia significativa de atracción entre las diferentes concentraciones de ácido láctico.

RESULTADOS

En la Fig. 1 se muestra que la concentración de Ácido Láctico al 1% presentó un mayor porcentaje de atracción (33.3%) que la concentración de 0.1% (6.7%) sobre *An. albimanus* hembra.

DISCUSIÓN

Los resultados que se obtuvieron mediante la prueba T-student muestran que hay una diferencia significativa de atracción entre las concentraciones 0.1% y 1% de Ácido Láctico utilizadas, obteniéndose un mayor efecto atrayente de *An. albimanus* hembra con la concentración al 1%. Estos resultados difieren de una investigación en donde se determinó que la concentración de Ácido Láctico al 0.001% tuvo mayor efecto atrayente que la concentración de 1% para *An. gambiae*¹¹; esto indicaría que la respuesta de atracción frente al ácido láctico para esta especie es distinta que para *An. albimanus*.

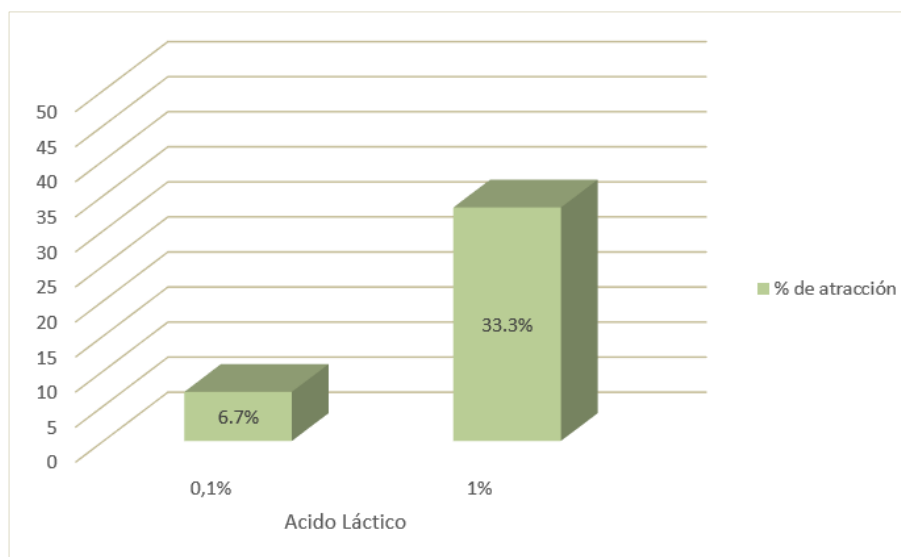


Fig 1. Porcentajes de atracción de hembras de *Anopheles albimanus* frente a concentraciones al 0.1% y 1 % de Ácido Láctico en condiciones de laboratorio (N° hembras de *Anopheles albimanus* por ensayo: 10; Control negativo: Agua estéril -100µL-; Volumen de Ácido Láctico: 100µL; HR: 50% ±5%, T°24,5°C ±0.1; Tiempo de evaluación: 2h; p<0.05 entre el número de zancudos atraídos por la concentración de 0.1% y 1% -T Student).

En investigaciones previas se ha descrito que la efectiva atracción del ácido láctico en *Anopheles* sp. se debe a la presencia de receptores ORNs presentes en los apéndices olfativos de la antena, probóscide y palpo maxilar de este modo cada receptor tiene un perfil de olor-respuesta. Por ejemplo, algunos receptores AgORNs de *An. gambiae* responden a un pequeño grupo de sustancias odoríferas

(específicos), mientras que otros están más ampliamente generalizados y la respuesta de estos receptores varía en una amplia gama de clases químicas¹⁹, ello explicaría la atracción en *An. albimanus* por el ácido láctico.

Según lo expuesto por otros autores, las hembras de *An. gambiae* se ven altamente atraídas por una mezcla de compuestos volátiles de origen humano como el amoníaco, ácido láctico y varios ácidos carboxílicos debido a que estos ejercen un efecto sinérgico en comparación a un solo compuesto volátil como el ácido láctico¹⁵. En el presente estudio se probó al ácido láctico como único atrayente, determinándose que la concentración al 1 %, funciona como atrayente en hembras de *An. albimanus*, sin embargo, adicionándole otros compuestos podríamos tener mejores resultados en la generación de un olor que tenga mayor poder de atracción hacia este zancudo.

La muestra no probabilística de *An. albimanus* empleada fue 10 zancudos hembra por ensayo, esto resultaría ser un factor en desventaja, ya que según otros estudios utilizan una cantidad de 20-30 zancudos hembra por ensayo^{21, 22}. Pese a esto la investigación realizada prueba el efecto atrayente que presenta el ácido láctico a 1% para una población de 60 zancudos hembra de *An. albimanus* que no pueden ser generalizados a todos los zancudos que pertenecen a esta especie.

Finalmente los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que el Ácido Láctico al 1% tiene mayor efecto atrayente que al 0.1% sobre 60 hembras de *An. albimanus*. Además se evidencio que ambas concentraciones de ácido láctico generan diferente efecto atrayente sobre las 60 hembras de *An. albimanus* procedentes de Conache.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization (WHO). Malaria entomology and vector control. Training module on malaria control. Geneva: World Health Organization; 2013.
2. Marquino W, Ylquimiche L, Hermenegildo Y. Efficacy and tolerability of artesunate plus sulfadoxine-pyrimethamine and sulfadoxine-pyrimethamine alone for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 2005 May; 72(5):568-72.
3. Dirección General De Salud Ambiental. Ministerio De Salud. Manual de Campo para vigilancia entomológica. Perú. 2002.
4. Khattab A, Barroso M, Miettinen T, Meri S. *Anopheles* Midgut Epithelium Evades Human Complement Activity by Capturing Factor H from the Blood Meal. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9(2):e0003513.
5. Ribeiro JMC, Mans BJ, Arcà B. An insight into the sialome of blood feeding Nematocera. *Insect Biochem & Mol Biol.* 2010; 40(11):767-784.
6. Massebo F, Balkew M, Gebre-Michael T, Lindtjorn B. Zoophagic behaviour of anopheline mosquitoes in southwest Ethiopia: opportunity for malaria vector control. *Parasites & Vectors.* 2015; 8:645.
7. Sanford MR, Tomberlin JK. Conditioning Individual Mosquitoes to an Odor: Sex, Source, and Time. *PLoS ONE.* 2011; 6(8):e24218.
8. Schmidt JO, Attractant or pheromone: the case of Nasonov Secretion and Honeybee swarms. *J Chem Ecol* 1999; 25 (9): 1-10.
9. Vezenegho SB, Adde A, Gaborit P, et al. Mosquito magnet® liberty plus trap baited with octenol confirmed best candidate for *Anopheles* surveillance and proved promising in predicting risk of malaria transmission in French Guiana. *Malaria Journal.* 2014; 13:384.
10. Mweresa CK, Omusula P, Otieno B, van Loon JJ, Takken W, Mukabana WR. Molasses as a source of carbon dioxide for attracting the malaria mosquitoes *Anopheles gambiae* and *Anopheles funestus*. *Malaria Journal.* 2014; 13:160.
11. Dekker T, Geiger M, Carde RT. Carbon dioxide instantly sensitizes female yellow fever mosquitoes to human skin odours. *J Exp Biol.* 2005; 208: 2963-2972.
12. Sutcliffe JF, Yin S. Behavioural responses of females of two anopheline mosquito species to human-occupied, insecticide-treated and untreated bed nets. *Malaria Journal.* 2014; 13:294.
13. Njiru BN, Mukabana WR, Takken W, Knols BG. Trapping of the malaria vector *Anopheles gambiae* with odour-baited MM-X traps in semi-field conditions in western Kenya. *Malaria Journal.* 2006; 5:39.
14. Torres JL, Rodríguez MH. Physico-chemical signals involved in host localization and in the induction of mosquito bites. *Salud Pública Mex.* 2003; 45 (6): 497-505.
15. Smallegange RC, Qiu YT, Van Loon JJ, Takken W. Synergism between ammonia, lactic acid and carboxylic acids as kairomons in the host-seeking behaviour of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae). *Chemical senses.* 2016; 30: 145-152.

16. Vezenegho SB, Adde A, Gaborit P, et al. Mosquito magnet[®] liberty plus trap baited with octenol confirmed best candidate for *Anopheles* surveillance and proved promising in predicting risk of malaria transmission in French Guiana. *Malaria Journal*. 2014; 13:384.
17. Omayda Pérez, y col. Manual de Indicaciones Técnicas para Insectarios. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas. 2004.
18. Omrani SM, Vatandoost H, Oshaghi MA, Shokri F, Guerin PM, Yaghoobi Ershadi MR, et al. Fabrication of an olfactometer for mosquito behavioural studies. *JVBD*. 2010; 47(1):17-25
19. Carey A, Wang G, Su C.-Y, Zwiebel LJ, Carlson JR. Odourant reception in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Nature*. 2010; 464(7285): 66-71.
20. Jiménez P, Conn JE, Wirtz R, Brochero H. *Anopheles* (Diptera: Culicidae) malaria vectors in the municipality of Puerto Carreno, Vichada, Colombia. *Biomedica* 2012; 32(1): 13–21.
21. Fernández-Grandon GM, Gezan SA, Armour JAL, Pickett JA, Logan JG. Heritability of Attractiveness to Mosquitoes. *PLoS ONE*, 2015; 10(4): e0122716.
22. Verhulst NO, Weldegergis BT, Menger D, Takken W. Attractiveness of volatiles from different body parts to the malaria mosquito *Anopheles coluzzii* is affected by deodorant compounds. *Scientific Reports* 2016; 6: 27141