

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA



DINÁMICA DE TRANSMISIÓN DE LA
MALARIA EN LA LOCALIDAD DE CAIZA,
DEPARTAMENTO DE TARIJA

2005–2006

Tesis para optar al grado de Licenciatura en Biología

ROSARIO ROCÍO COLQUE GARCÍA

Asesor científico: **Dr. Frédéric Lardeux** (I.R.D. La Paz, Bolivia)
Tutora administrativa: **Dra. Adriana Rico** (UMSA-Carrera de Biología)

LA PAZ–BOLIVIA

2014

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA

DINÁMICA DE TRANSMISIÓN DE LA
MALARIA EN LA LOCALIDAD DE CAIZA,
DEPARTAMENTO DE TARIJA

2005–2006

ROSARIO ROCÍO COLQUE GARCÍA

Asesor científico:

Dr. Frédéric Lardeux -----

Tutora administrativa:

Dra. Adriana Rico -----

Tribunal:

Dra. Stéphanie Depickère -----

M.Sc. Guíllermína Miranda -----

Jefe Carrera de Biología:

Lic. Esther Valenzuela -----

Dedicado a mis padres

Enrique Omar Colque Choque y Felipa García por su comprensión, apoyo y confianza, permitiéndome alcanzar una meta más que me he trazado, para ellos mi amor y gratitud.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente al Instituto Nacional de Laboratorios de Salud ‘Néstor Morales Villazón’– INLASA, por la oportunidad que me brindó para mi superación profesional y el apoyo durante mis estudios.

Al Institut de Recherche pour le Développement (IRD) que financió la tesis y me permitió desarrollar la investigación en óptimas condiciones.

A Dr. Frédéric Lardeux, entomólogo médico, investigador del Institut de Recherche pour le Développement (IRD), asesor científico, un profundo agradecimiento por su apoyo incondicional y su valiosa asesoría aportadas en la realización de este trabajo, así como por el estímulo que me brindó para poder alcanzar esta meta, y por su actitud de liderazgo que impulsa el progreso del grupo de investigación.

A Dra. Stéphanie Depickère y la M. Sc. Guillermina Miranda agradeciendo sus consejos, su apoyo y por formar parte del tribunal de la tesis.

A Dra. Tamara Chávez Espada, Jefe del Laboratorio de Entomología Médica de INLASA agradeciendo su asesoría, consejos y su participación en la revisión de este trabajo.

A Lic. Libia Tórrez por las identificaciones taxonómicas de los mosquitos capturados.

A Lic. R. Tejerina, y Lic. C. Aliaga por las identificaciones en PCR–*Plasmodium* de *An. pseudopunctipennis*.

A Dra. Adriana Rico, tutora administrativa por su orientación en este trabajo.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Entomología Médica del INLASA/IRD que realizaron la planificación para la captura de los mosquitos en Caiza: Dr. F. Lardeux, Dra. T. Chávez, Dr. G. LeGoff, Dr. B. Bouchité, Lic. R. Tejerina, Lic. C. Aliaga, Tec. E. Siñani, Tec. V. Quispe, Tec. M. Villarroel y Tec. M. Gallardo en Yacuiba–Tarija.

A todas las personas de la localidad de Caiza que colaboraron con las capturas de mosquitos y permitieron la entrada a sus viviendas.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
RESUMEN.....	IX
1. INTRODUCCIÓN	1
Marco teórico.....	2
2. HIPÓTESIS	6
3. OBJETIVOS	6
3.1. Objetivo general.....	6
3.2. Objetivos específicos	6
4. MÉTODOS.....	7
4.1. Área de estudio	7
4.2. Captura de mosquitos.....	8
4.3. Estimación de los parámetros entomo–parasitológicos	10
4.3.1. <i>Capacidad vectorial</i>	10
4.3.1.1. Estimación del número de picaduras por hombre por noche.....	10
4.3.1.2. Número de comidas sobre humanos por noche	10
4.3.1.3. Estimación de la tasa mensual de sobrevivencia de los mosquitos	11
4.3.1.4. Duración del ciclo extrínseco del parásito.....	13
4.3.2. <i>Proporción de mosquitos infectantes</i>	14
4.4. Parámetros bio-ecológicos	15
4.4.1. <i>Actividad de endo/exofagia</i>	15
4.4.2. <i>Actividad horaria de picadura</i>	15
4.4.3. <i>Variables ambientales</i>	16
4.5. Casos de malaria	16
5. RESULTADOS.....	17
5.1. Especies de Culicidae capturadas	17
5.1.1. <i>Géneros</i>	17
5.1.2. <i>Género Anopheles</i>	18
5.1.3. <i>Especies de Anopheles</i>	19
5.2. Estimación de los parámetros entomo–parasitológicos	21

5.2.1. Número de picaduras por hombre por noche (<i>m.a</i>)	21
5.2.1.1. Análisis descriptivo	21
5.2.1.2. Relaciones del <i>m.a</i> con variables climáticas	24
5.2.2. Duración del ciclo gonotrófico y número de comidas sobre humanos por noche	26
5.2.3. Tasa diaria de sobrevivencia de los mosquitos (<i>p</i>).....	27
5.2.4. Duración del ciclo extrínseco de <i>P. vivax</i> (<i>n</i>) y la esperanza de vida infectante de los mosquitos (<i>EVI</i>).....	28
5.2.5. Capacidad vectorial.....	30
5.3. Tasa de inoculación entomológica (<i>EIR</i>).....	32
5.4. Influencia de otros parámetros bio-ecológicos	34
5.4.1. Actividad de endofagia y exofagia.....	34
5.4.2. Comportamiento horario de picadura.....	35
5.4.2.1. <i>An. pseudopunctipennis</i>	35
5.4.2.2. <i>An. benarrochi</i>	36
5.4.2.3. <i>An. triannulatus</i>	37
5.4.2.4. <i>An. argyritarsis</i>	38
5.5. Casos de malaria	39
6. DISCUSIÓN	42
7. CONCLUSIÓN.....	46
8. RECOMENDACIONES.....	47
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de localización de la comunidad de Caiza–Tarija.....	7
Figura 2. Captura de mosquitos con el método cebo–humano.....	8
Figura 3. Ovarios de <i>An. pseudopunctipennis</i>	9
Figura 4. Duración del ciclo extrínseco de los <i>Plasmodium</i>	14
Figura 5. Ciclo reproductivo de <i>Anopheles</i>	19
Figura 6. Variación mensual del número de picaduras por hombre por noche (<i>m.a</i>) de los <i>Anopheles</i>	23
Figura 7. Relación entre la variación mensual del número de picaduras por hombre por noche (<i>m.a</i>) y las variables ambientales.....	24
Figura 8. Análisis de correspondencia múltiple (ACM) del <i>m.a</i> de cada especie de <i>Anopheles</i> y las variables ambientales de 30 días antes de las capturas.....	25
Figura 9. Variación mensual de la esperanza de vida infectante (<i>EVI</i>) de los <i>Anopheles</i>	30
Figura 10. Variación mensual de la capacidad vectorial (<i>CV</i>) de los <i>Anopheles</i>	32
Figura 11. Patrón de endo/exofagia de los <i>Anopheles</i>	35
Figura 12. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de <i>An. pseudopunctipennis</i>	36
Figura 13. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de <i>An. benarrochi</i>	37
Figura 14. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de <i>An. triannulatus</i>	38
Figura 15. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de <i>An. argyritarsis</i>	39
Figura 16. Variación mensual de los casos de malaria y su relación con la capacidad vectorial de <i>An. pseudopunctipennis</i>	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ciclo gonotrófico de <i>An. pseudopunctipennis</i>	13
Tabla 2. Composición faunística de la familia Culicidae	17
Tabla 3. Número de mosquitos capturados para cada especie de <i>Anopheles</i>	20
Tabla 4. Número de picaduras por hombre por noche (<i>m.a</i>) de los <i>Anopheles</i>	22
Tabla 5. Variables ambientales mensuales promedio y especies de <i>Anopheles</i>	24
Tabla 6. Estimación del número de comidas sobre humanos por noche.	26
Tabla 7. Tasa de sobrevivencia de los <i>Anopheles</i>	27
Tabla 8. Duración del ciclo extrínseco de <i>P. vivax</i> en días y la esperanza de vida infectante (<i>EVI</i>) de los <i>Anopheles</i>	29
Tabla 9. Variación mensual de las <i>CV's</i> de los <i>Anopheles</i>	31
Tabla 10. Número de mosquitos procesados por PCR, estimación de la proporción de mosquitos infectantes por <i>P. vivax</i> (<i>s</i>) y la tasa de inoculación entomológica (<i>EIR</i>) para los <i>Anopheles</i>	33
Tabla 11. Variación mensual de la proporción de mosquitos endófagos y exófagos.....	34
Tabla 12. Variación mensual del número de casos de malaria y la capacidad vectorial (<i>CV</i>) de los <i>Anopheles</i>	40

LISTA DE ABREVIATURAS

INLASA. Instituto Nacional de Laboratorios de Salud (La Paz).

IRD. Institut de Recherche pour le Développement.

OMS. Organización Mundial de la Salud.

PNM. Programa Nacional de Malaria.

SENAMHI. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología.

RESUMEN

La localidad de Caiza (departamento de Tarija) al sur de Bolivia, es conocida como zona endémica de transmisión de la malaria. Entre abril 2005 y junio 2006 se realizó un estudio de la dinámica de transmisión de la malaria en esta localidad. Cada mes, durante cuatro noches consecutivas y en cuatro casas seleccionadas de la localidad, se registró: el número de picaduras por hombre por noche dentro y fuera de las casas, la dinámica horaria de picadura y la paridad de los mosquitos capturados. En laboratorio, se identificó los *Plasmodium* en los mosquitos. Estos datos permitieron estimar la capacidad vectorial y la tasa entomológica de inoculación, para cada especie capturada. También se obtuvieron datos climatológicos (precipitación (mm), temperatura (°C), y humedad relativa (%)) y el registro de los casos de malaria durante el periodo de estudio, los cuales fueron correlacionados con dicha capacidad vectorial. Cuatro especies de *Anopheles* fueron identificadas como posibles vectores, por su presencia casi continua en la zona y sus abundancias elevadas: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis*. Sin embargo, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* no fueron encontrados portadores de *Plasmodium* y, debido a sus índices entomológicos muy bajos, fueron descartados como vectores de malaria. En cambio, *An. benarrochi* fue identificado como portador de *P. vivax*. Es la primera vez que se obtuvo este resultado para esta especie en Bolivia. Sin embargo durante el estudio, *An. benarrochi* solamente representó una especie transmisora accidental, sin cumplir un rol importante en la transmisión. El vector principal que explica la dinámica de la transmisión de la malaria es *An. pseudopunctipennis* por la correlación estrecha entre su capacidad vectorial y los casos de malaria. La capacidad vectorial de *An. pseudopunctipennis* fue también correlacionada con los datos climáticos, en particular con las precipitaciones que influyen sobre la abundancia de los criaderos larvarios del mosquito. Dependiendo de estas condiciones, las épocas más favorables de transmisión pueden ser: la época caliente/húmeda (diciembre 2005 – febrero 2006 en el estudio) y también al final de esta época (abril 2005 – mayo 2005 en el estudio), cuando los criaderos larvarios son ecológicamente muy estables. *An. pseudopunctipennis* es un vector exofágico, muy activo antes de la media noche. Las medidas de control actuales deberían tomar en cuenta también este comportamiento, cuando se realiza los rociados con insecticidas intra–domiciliarios.

1. INTRODUCCIÓN

La malaria o paludismo es una enfermedad causada por protozoarios del género *Plasmodium*, transmitidos al ser humano a través de la picadura de mosquitos hembra del género *Anopheles*. A nivel mundial esta enfermedad continúa siendo una de las causas de morbilidad y mortalidad en países tropicales y subtropicales del mundo, más que todo en África. Según las últimas estimaciones, en 109 países endémicos se produjeron 207 millones de casos de paludismo que ocasionaron la muerte de más de 627000 personas (OMS 2012).

En Latinoamérica, Bolivia presenta zonas endémicas con malaria, donde existe un continuo riesgo de transmisión de la enfermedad. Según datos del Programa Nacional de Malaria (PNM), en los años 2005–2006, se registró entre 15000 y 20000 casos de enfermos con malaria, considerándose así un problema de salud pública.

En Bolivia, los agentes causantes de la enfermedad son: *P. falciparum*, responsable del 20 % de los casos y *P. vivax*, responsable del 80 % de los casos. Los vectores principales son: *An. darlingi* en la zona de los llanos y *An. pseudopunctipennis* en la zona de los Valles interandinos (Mollinedo & Mollinedo 2000).

En Bolivia, a pesar de algunos estudios puntuales y generales sobre los *Anopheles* (Prosen, *et al.* 1962, Peyton, *et al.* 1983, Lien 1985, Ordoñez-Gonzales & Aviña 1999, Girona 2002, Moore, *et al.* 2002), existen pocos estudios sobre la transmisión vectorial. Dentro de las 43 especies registradas para Bolivia, no se conoce el rol vector de cada una, aparte de *An. pseudopunctipennis* y *An. darlingi*. Esta lista menciona especies que son conocidas como vectores primarios y/o secundarios en países vecinos, tales como: *An. marajoara*, *An. nuneztovari*, *An. braziliensis*, entre otras (Lardeux, *et al.* 2009).

Una “Estrategia mundial de lucha contra el paludismo” ha sido formulada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual está basada en el desarrollo de medidas preventivas, selectivas y sostenibles para su control, principalmente en localidades sujetas a intervención. La aplicación de esta estrategia implica el conocimiento de varios factores, como por ejemplo la competencia vectorial, es decir la capacidad del vector para permitir el

desarrollo completo del parásito en su interior, hasta las formas infectantes (para los *Plasmodium*, es desarrollarse desde los gametocitos succionados por el mosquito de la sangre del huésped, hasta la forma esporozoito en sus glándulas salivales) (Najera & Zaim 2004); además de los factores ambientales, dentro los cuales: la precipitación, la temperatura, y la humedad relativa del lugar, han sido identificados como importantes. Estos factores ambientales tienen efectos sobre la dinámica de población de los *Anopheles*, modificando las densidades de los insectos, sus tasas de sobrevivencia y la duración del ciclo extrínseco del parásito que es el tiempo necesario para que este se desarrolle dentro el organismo del mosquito, y al final influyen de manera preponderante sobre la dinámica de transmisión (Pampana 1966).

La localidad de Caiza (departamento de Tarija) es conocida como foco de transmisión de *P. vivax*. En este lugar, se conoce la presencia de *An. pseudopunctipennis* como el vector principal (Lardeux, *et al.* 2013). Sin embargo, se han registrado otras especies, conocidas como vectores secundarios en países vecinos como por ejemplo: *An. benarrochi* y *An. triannulatus*, cuyo rol en la transmisión en esta zona es aún desconocido (Lardeux, *et al.* 2009). Entonces, la dinámica de transmisión de la malaria en Caiza podría ser dependiente, no solamente de *An. pseudopunctipennis*, sino también de estas otras especies mencionadas.

Así, el presente trabajo de tesis pretende identificar los vectores potenciales de malaria en la localidad de Caiza, y estudiar la dinámica de la transmisión según factores ambientales como: las precipitaciones, la temperatura y la humedad relativa que condicionen la dinámica de los *Anopheles*.

Marco teórico

Para la comprensión de la transmisión de la malaria, Ross (1911) y MacDonald (1957) realizaron modelos matemáticos, que toman en cuenta la tasa de reproducción de base (R_0) del parásito. En epidemiología, el R_0 de un agente infeccioso se define como el número de casos secundarios que aparecen dentro una población susceptible a partir de un caso primario, durante el periodo de infección de este caso primario. Así, un valor de $R_0 > 1$ indica que más de un caso secundario aparece; entonces, la enfermedad crece dentro de la

población y puede desarrollarse una epidemia. Al contrario, un $R_0 < 1$ significa que aparece un caso secundario y entonces, la enfermedad tiende a desaparecer. Así, $R_0=1$ define un umbral epidemiológico, lo cual es un indicador de una posibilidad o no de una epidemia.

Una fórmula básica del R_0 del *Plasmodium* ha sido definida por MacDonald (1957), como:

$$R_0 = \frac{m \cdot a^2 \cdot b_1 \cdot b_2 \cdot p^n}{-\text{Ln } p \cdot r} \quad (1)$$

Dónde:

- m es la densidad de mosquitos en relación al hombre,
- a es la probabilidad que un mosquito pique a una persona por día,
- b_1 es la probabilidad que una picadura origine una infección en el humano,
- b_2 es la probabilidad que el vector se infecte cuando pica a una persona parasitada,
- p es la tasa diaria de sobrevivencia de los mosquitos,
- n es la duración del ciclo extrínseco del parásito (tiempo necesario para que el parásito se desarrolle en el mosquito hasta su estadio infectante),
- r es la tasa de curación del hombre,
- Ln representa el logaritmo neperiano.

La fórmula (1) indica que el R_0 del *Plasmodium* se define por parte, con parámetros dependientes del insecto vector. Así, se puede aislar estos parámetros entomológicos y combinarlos en una fórmula llamada capacidad vectorial (CV). La CV , se define como el potencial de transmisión de un patógeno de una población de mosquitos, y se expresa de la siguiente manera (Garrett-Jones 1964):

$$CV = \frac{m \cdot a^2 \cdot p^n}{-\text{Ln}(p)} \quad (2)$$

La CV se puede reformular en:

$$CV = \frac{m \cdot a \cdot a \cdot p^n}{-\text{Ln}(p)} \quad (3)$$

Así, el cálculo de la CV necesita la estimación de cuatro parámetros que pueden ser estimados con datos obtenidos en terreno: (1) el número de picaduras por hombre por noche ($m \cdot a$), el cual representa la densidad de mosquitos en relación al hombre; (2) la probabilidad que un mosquito pique a una persona por día (a); (3) la duración del ciclo

extrínseco del parásito (n) y (4) la tasa de sobrevivencia diaria del mosquito (p). Por ello, la capacidad vectorial está restringida a la interacción vector–parásito. Reformulando el R_0 con la CV se tiene:

$$R_0 = CV * \frac{b_1 * b_2}{r} \quad (4)$$

De esta fórmula (4) se puede inferir que más elevada la CV de un *Anopheles*, más elevado es su potencial vector. Si la CV es elevada, el R_0 puede sobrepasar el umbral de 1 e iniciar la transmisión o epidemia.

Se debe tomar en cuenta que la CV es una cifra que varía con las épocas del año, debido a que la mayoría de los parámetros son dependientes de factores ambientales. Por ejemplo, la tasa de sobrevivencia de los mosquitos (p), la duración del ciclo extrínseco del parásito (n) y las densidades de los mosquitos que pican al hombre por noche ($m.a$) dependen de las precipitaciones, temperatura y humedad del lugar de transmisión. También, en un momento dado, y en un lugar determinado, las especies de *Anopheles* presentes no tienen la misma CV ; porque cada especie presenta su propia tasa de sobrevivencia (p), su tasa de antropofilia (a) que se refleja en su número de picaduras por hombre por noche ($m.a$).

Finalmente, analizando y comparando las CV 's de cada especie de *Anopheles* de un lugar a lo largo de un ciclo anual, se puede conocer cuáles son las especies epidemiológicamente peligrosas y en qué momento lo son (es decir cuando la CV tiene un valor máximo).

Además, algunos parámetros de la capacidad vectorial se pueden combinar en otras fórmulas para poder entender mejor la transmisión de la enfermedad, como por ejemplo la esperanza de vida infectante de los vectores, el cual indica el tiempo que puede sobrevivir un mosquito con esporozoitos de *Plasmodium* en sus glándulas salivares, fórmula que ha sido definida por Garret-Jones & Shidrawi 1970), y se expresa como:

$$EVI = \frac{p^n}{-\ln(p)} \quad (5)$$

Dónde los parámetros de p y n tienen el mismo significado que en la fórmula de la CV (fórmula 3).

Otra fórmula que puede obtenerse a partir de los parámetros de la CV , es la tasa de inoculación (EIR) que nos permite tener conocimiento del riesgo de la transmisión en una zona determinada (OMS 1975). Esta fórmula ha sido definida como:

$$EIR = m \cdot a * s \quad (6)$$

Dónde s es la proporción de mosquitos infectantes (es decir portadores de esporozoitos en glándulas salivares) y los parámetros m y a tienen el mismo significado que en la fórmula de la CV (fórmula 3). Este índice es más fácil de calcular que la capacidad vectorial porque no se necesita estimar parámetros como la tasa de sobrevivencia de los mosquitos (p) o la duración del ciclo extrínseco del parásito (n). Sin embargo, en este índice se necesita conocer la proporción de mosquitos portadores de esporozoitos (s), lo que no se necesitaba en la estimación de la CV .

Por otro lado, existen también otros parámetros bioecológicos que nos ayudan a entender la dinámica de transmisión de los vectores en la zona de estudio, como por ejemplo: (1) la actividad endo–exofágica, es decir la preferencia de alimentación dentro o fuera de las viviendas, (2) el comportamiento horario de picadura, es decir las horas en que los mosquitos pican más, para cada época del año y (3) la relación de los casos de malaria de la zona con la capacidad vectorial de los mosquitos, que nos permite determinar las especies de mosquitos que estarían involucrados en el aumento del número de casos de enfermos.

De lo precedente, para la localidad de Caiza, las preguntas de investigación que se realizaron son:

- ¿Cuáles son las especies de *Anopheles* vectores de *Plasmodium* en la localidad de Caiza–Tarija?
- ¿Cómo se clasifican las especies de *Anopheles* según su capacidad vectorial?
- ¿Cómo varía la capacidad vectorial de cada especie durante el periodo de estudio y en relación a los casos de malaria?
- ¿Cómo varía el comportamiento horario mensual de las especies de *Anopheles*?

2. HIPÓTESIS

H0: La transmisión de la malaria en la localidad de Caiza–Tarija se debe a la presencia de *An. pseudopunctipennis*, considerado como el único vector de la enfermedad y la dinámica de transmisión del parásito está en función a la dinámica de población de esta especie solamente.

H1: La transmisión de la malaria en la localidad de Caiza–Tarija se debe no solamente a la presencia de *An. pseudopunctipennis* sino también a otras especies; razón por la cual, la dinámica de transmisión del parásito está en función a la dinámica de poblaciones combinadas de todas las especies vectores potenciales.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Determinar la dinámica de transmisión de la malaria en Caiza–Tarija durante el periodo 2005–2006.

3.2. Objetivos específicos

O1. Identificar las especies de *Anopheles* portadores de esporozoitos de *Plasmodium*.

O2. Clasificar las especies de *Anopheles* según su capacidad vectorial.

O3. Analizar las variaciones mensuales de la capacidad vectorial de cada especie vector y relacionar con los casos mensuales de malaria en Caiza–Tarija.

O4. Analizar el comportamiento horario mensual de las especies de *Anopheles*.

4. MÉTODOS

4.1. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la localidad de Caiza–Tarija (Latitud 21.8015° Sur, Longitud 63.5560° Oeste, Altitud 580 m.s.n.m), ubicada en la provincia Gran Chaco a 15 km al norte de Yacuiba (departamento de Tarija) (Figura 1).

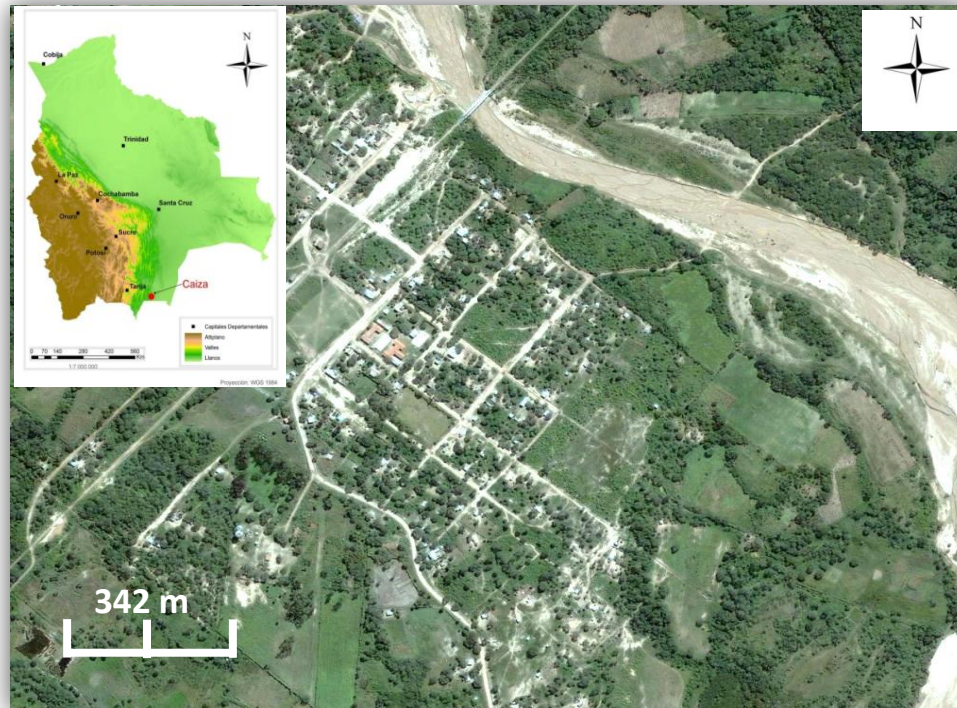


Figura 1. Ubicación de la comunidad de Caiza–Tarija.

Caiza es una comunidad considerada como una de las zonas que a menudo presenta epidemias de malaria. En este lugar se conoce por “costumbre”, pero más que todo por falta de información la presencia de *An. pseudopunctipennis* como el único vector de la enfermedad. En este lugar, alrededor de 1000 habitantes viven en 80 viviendas agrupadas. Se trata de agricultores de subsistencia y la mayoría de sus animales (principalmente cabras y ovejas) se encuentran en pequeños corrales cerca de las casas (Lardeux, *et al.* 2013). Próximo a esta localidad se encuentra un río que lleva el mismo nombre (Figura 1) y algunas zonas pantanosas donde se encuentran los hábitats de larvas de diferentes géneros de culícidos entre ellos los *Anopheles*.

El clima es subtropical con precipitación media anual de 1188 mm, una temperatura media anual de 21 °C, con máxima de 27 °C durante la época húmeda (diciembre–marzo) y mínima de 15 °C durante la época seca (julio–agosto) y la humedad relativa promedio anual es de 70 % (Montes de Oca 2005).

También se presentan fenómenos meteorológicos de tipo “surazo”, frente frío, ascendente en la parte continental de América del Sur, que genera vientos fríos y húmedos. (Lardeux, *et al.* 2013).

4.2. Captura de mosquitos

La captura de los mosquitos fue realizada por el personal capacitado del INLASA, utilizando el método del cebo humano (OMS 1975) bajo consentimiento informado. Este método consiste en capturar mosquitos de manera individual en tubos de vidrio justo antes de la picadura sobre las piernas del capturador (Figura 2).



Figura 2. Captura de mosquitos con el método cebo–humano.

En Caiza, se eligieron 25 casas de muestreo (31%) (ANEXO 1), que fueron visitadas entre abril 2005 y junio 2006 (14 meses), excepto en julio 2005 porque no se realizó la captura de mosquitos. Cada mes, se capturaron mosquitos durante cuatro noches consecutivas. Cada noche, cuatro casas de Caiza fueron muestreadas, y en cada casa, se capturaron mosquitos dentro y fuera de las casas (ANEXO 2, ANEXO 3). Cada captura fue realizada por un equipo de dos personas dentro de una casa y otro equipo de dos personas

fuera de la misma, comenzando a las 18:00 hrs y finalizando a las 7:00 hrs del día siguiente.

En un laboratorio de terreno, los mosquitos fueron identificados según su morfología utilizando claves dicotómicas (Gorham, *et al.* 1973). Luego se disecciono el abdomen de cada mosquito para observar en un microscopio la morfología de los ovarios y así determinar su paridad, el cual nos indica si una hembra ha dado vida por lo menos a una descendencia, o a ninguna, es decir, cuando un mosquito hembra presenta las traqueolas de los ovarios estiradas significa que ha puesto huevos por lo menos una vez en su vida y se la denomina ‘para’, en cambio cuando un mosquito hembra presenta las traqueolas de los ovarios enrolladas significa que aún no han puesto huevos y se la denomina ‘nulípara’. Este criterio fue utilizado por Detinova (1962), (Figura 3). Finalmente los mosquitos fueron enumerados y guardados individualmente en tubos eppendorf con sílica gel, preservados a -20 °C para así evitar su deterioro, hasta su proceso posterior (identificación de *Plasmodium* por PCR). Cada mosquito presentó también su información de captura (fecha, hora, número de la casa, interior/externo). Los datos completos (identificación de especie, información de captura y estado de paridad) fueron registrados en planillas excel para su análisis estadístico posterior.

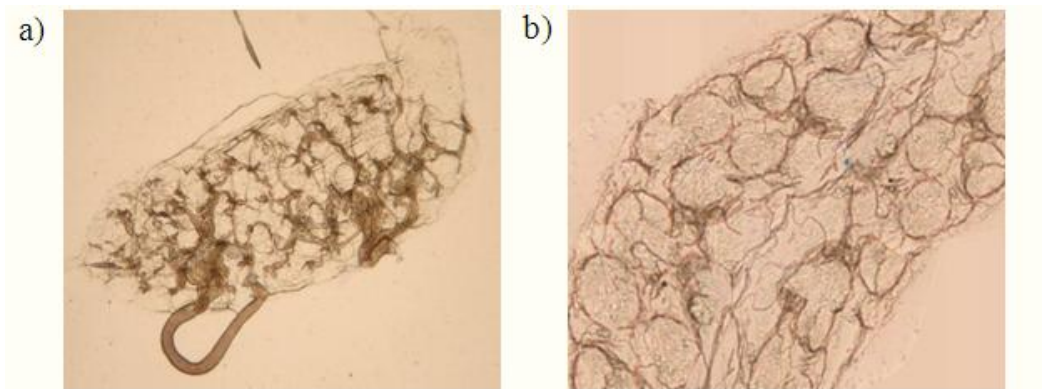


Figura 3. Ovarios de *An. pseudopunctipennis* (a) Ovario de una hembra ‘nulípara’ con las traqueolas enrolladas; (b) Ovario de una hembra ‘para’ con las traqueolas estiradas por efecto del crecimiento de los huevos (Fuente: Elaboración propia).

4.3. Estimación de los parámetros entomo–parasitológicos

4.3.1. Capacidad vectorial

4.3.1.1. Estimación del número de picaduras por hombre por noche

El número de picaduras por hombre por noche, es uno de los parámetros que en la fórmula de la capacidad vectorial se expresa como $m.a$ (ecuación 3). Este parámetro fue calculado para cada especie de *Anopheles* en cada mes de muestreo de la siguiente manera: para una especie de *Anopheles*, se realizó el conteo total de los individuos capturados dentro y fuera de las casas, durante las cuatro noches de muestreo mensual, y se dividió este total entre el número total de capturas realizadas dentro y fuera de las casas.

Por ejemplo, en el mes de mayo 2005 se capturaron un total de 649 *An. pseudopunctipennis* en 23 casas (28 %), repartidos en 224 individuos en los interiores y 425 individuos en los exteriores. Así, el número total de picaduras por hombre por noche sería de: $649/(23+23)=14.1$, mientras que en el interior sería de: $224/23=9.7$ y $425/23=18.5$ en el exterior.

Finalmente, para determinar la relación mensual entre los $m.a$ calculado para cada especie de *Anopheles* y las variables ambientales (precipitación (mm), temperatura (°C) y humedad relativa (%)) (ANEXO 4), se realizó un análisis de correspondencia múltiple (ACM), utilizando el programa estadístico STATISTICA 8.0 (Statsoft 2008).

4.3.1.2. Número de comidas sobre humanos por noche

El número de comidas sobre humanos por noche es otro de los parámetros que en la fórmula de la capacidad vectorial (CV) se representa como a (ecuación 3).

Si se considera que un mosquito toma una fracción de h comidas de sangre de los humanos y su ciclo gonotrófico (g), que es el intervalo de tiempo en días entre dos picaduras durante la cual se realiza la ingesta de sangre, la maduración de los huevos, la ovoposición y una nueva ingesta de sangre; entonces, el número de comidas de sangre sobre humanos por días es $a=h/g$. Este parámetro puede variar de un lugar a otro o de una

época a la otra, dependiendo de la proporción de mamíferos (incluido el hombre) presentes en una zona determinada.

Para *An. pseudopunctipennis* el parámetro h fue calculado en Mataral, un pueblo de los Valles interandinos en el departamento de Cochabamba (Lardeux, *et al.* 2008b), que presenta características similares a Caiza. Este valor estimado fue de 0.3. Utilizando este valor y los valores calculados de g de esta especie, se calculó mensualmente el parámetro a .

Para *An. benarrochi* el parámetro h fue también estimado en 0.3, de acuerdo con otros autores (Deane, *et al.* 1988, Aramburu, *et al.* 1999, Schoeler, *et al.* 2003, Flores, *et al.* 2004). Utilizando este valor estimado y los valores calculados de g de *An. pseudopunctipennis*, se calculó mensualmente el parámetro a para dicha especie.

Para *An. triannulatus* el parámetro h fue estimado en 0.2, siendo una especie más zoofílica (preferencia por alimentarse de la sangre de animales domésticos) que *An. pseudopunctipennis* (Hill 1934, Hayes, *et al.* 1987, Tadei & Thatcher 2000, Pova, *et al.* 2001, Souza Santos 2002). Utilizando este valor estimado y los valores calculados de g de *An. pseudopunctipennis*, se calculó también mensualmente el parámetro a para dicha especie.

Para *An. argyritarsis* el parámetro a fue calculado mensualmente tomando en cuenta el valor calculado de h de 0.11 (Lardeux, *et al.* 2008b), y los valores de g de *An. pseudopunctipennis*.

4.3.1.3. Estimación de la tasa mensual de sobrevivencia de los mosquitos

La tasa mensual de sobrevivencia de los mosquitos es otro de los parámetros que en la fórmula de la capacidad vectorial (CV) se representa como p (ecuación 3).

Este parámetro se calculó según la siguiente fórmula (Davidson 1954), que utiliza la proporción de hembras ‘paras’ dentro de una población de mosquitos y la duración del ciclo gonotrófico.

$$p = \sqrt[g]{\text{proporción de hembras paras}} \quad (7)$$

Dónde:

- g es la duración (en días) del ciclo gonotrófico de los mosquitos.

Como p se calcula en base a la proporción de hembras ‘paras’, su significancia estadística depende, entonces de la significancia de esta proporción. Generalmente, la proporción de hembras ‘paras’ en una población de mosquitos en equilibrio se encuentra entre el 60 %. Para tener la precisión del 10 % sobre estos valores, se necesita realizar los cálculos del tamaño mínimo de muestra, utilizando la siguiente fórmula:

$$TM = \frac{B^2 * Q (1-Q)}{D^2} \quad (8)$$

Dónde:

- TM es el tamaño mínimo de muestra,
- B es el nivel de confianza (1.65),
- Q es la proporción de la población (60%),
- D es el margen de error (10%).

De esta manera mediante esta última fórmula, para algunos meses de captura no se calcularon los p cuando las capturas de los mosquitos fueron menores a 65 individuos.

La duración del ciclo gonotrófico de cada especie de mosquito varía con la temperatura ambiente, que influye sobre la velocidad de la digestión de la sangre ingerida y la maduración de los huevos (OMS 1975). Para *An. pseudopunctipennis*, la duración del ciclo gonotrófico ha sido calculado en función a la temperatura ambiente mediante la función de Lactin, *et al.* 1995 (Lardeux, *et al.* 2008b):

$$g(T) = 1/r(T) = 1/(\exp(\rho T) - \exp[\rho T_m - \frac{(T_m - T)}{\Delta}] + \lambda) \quad (9)$$

Dónde:

- $r(T)$ es la tasa de maduración de los huevos del mosquito en función de la temperatura T (°C),

- T es la temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$),
- T_m es un máximo térmico, es decir la temperatura "letal" en la que los procesos vitales no pueden sostenerse por periodos prolongados de tiempo,
- Δ es el rango de temperatura en el que "la descomposición térmica" se convierte en la principal influencia,
- ρ es un parámetro que puede ser interpretado como un valor compuesto para las reacciones bioquímicas catalizadas por enzimas,
- λ es el valor de $r(T_m)$ (es decir, cuando $T = T_m$) y permite la curva para que el eje de abscisas se crucen en sub-óptimas de temperatura, lo que permite la estimación de la temperatura base (T_{base}) (es decir, la temperatura por debajo de la cual se detiene desarrollo) permitiendo $r(T) = 0$ para que sea resuelto numéricamente por la temperatura.

Para *An. pseudopunctipennis*, los valores de los diferentes parámetros de la fórmula (9), fueron calculados según Lardeux, *et al.* 2008b (Tabla 1):

Parámetro	Valor
T_m	38.27
Δ	1.12
ρ	0.01
λ	-1.19

Tabla 1. Ciclo gonotrófico de *An. pseudopunctipennis*. Valores de los parámetros de la función de Lactin, *et al.* 1995. Según Lardeux, *et al.* 2008b.

Con estos valores, se tiene un modelo de cálculo de la duración del ciclo gonotrófico para la especie *An. pseudopunctipennis* en función a la temperatura ambiente.

Para las demás especies (*An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis*), no se cuenta con un modelo específico para calcular el g de cada especie en función de la temperatura ambiente; sin embargo considerando que estas especies presentan una biología cercana a la de *An. pseudopunctipennis* se tomó en cuenta para ellas el modelo de *An. pseudopunctipennis*.

4.3.1.4. Duración del ciclo extrínseco del parásito

La duración del ciclo extrínseco del parásito, es otro de los parámetros que en la fórmula de la capacidad vectorial (CV) se representa como n (ecuación 3).

Este parámetro se calculó según la siguiente fórmula (Detinova 1962):

$$n = \frac{e}{T - T_{min}} \quad (10)$$

Dónde:

- T es la temperatura ambiente (°C),
- T_{min} es la temperatura umbral de desarrollo de cada especie de *Plasmodium*: 14.5 °C para *P. vivax* y 16 °C para *P. falciparum* y *P. malariae* (Detinova 1962),
- e es el número total de grados-días, necesarios para que el parásito cumpla su ciclo: 105 °C-días para *P. vivax*, 111 °C-días para *P. falciparum*, y 144 °C-días para *P. malariae* (Detinova 1962).

El patrón de variación de n en función a la temperatura ambiente, se muestra en la Figura 4.

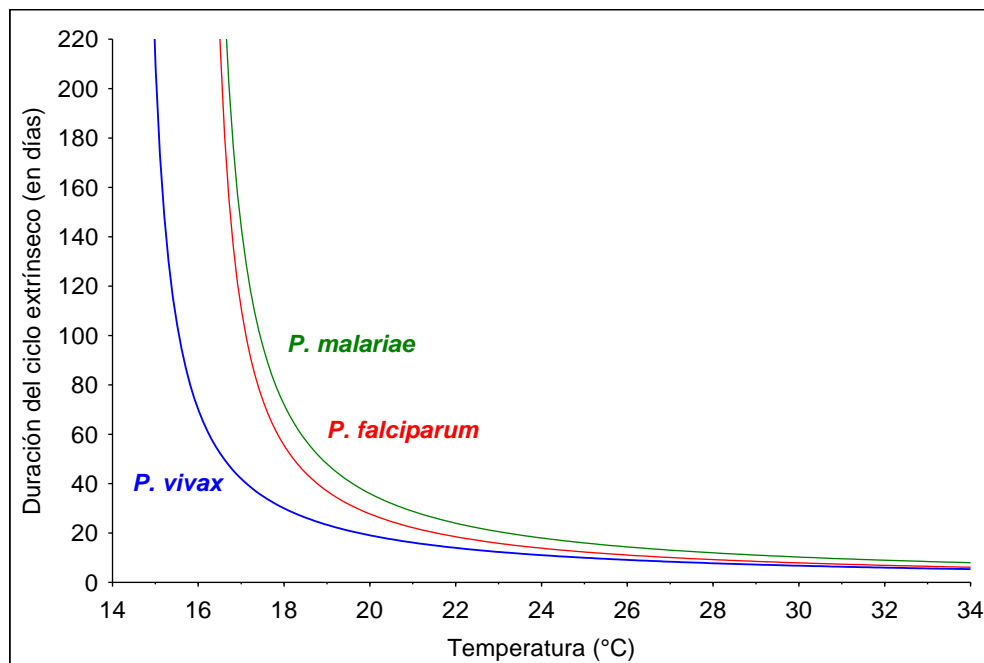


Figura 4. Duración del ciclo extrínseco de los *Plasmodium*, según la temperatura ambiente (fórmula de Detinova, 1962).

4.3.2. Proporción de mosquitos infectantes

La proporción de mosquitos infectantes es uno de los parámetros que en la fórmula de la tasa de inoculación (EIR) se representa como s (ecuación 6).

Se considera a un mosquito infectante, cuando presenta los esporozoitos del *Plasmodium* en sus glándulas salivares, lo que permite la transmisión de estos esporozoitos al huésped mientras se alimenta de la sangre del mismo (OMS 1975). Las glándulas salivares de los mosquitos, se encuentran en la parte basal del tórax, justo por debajo de la cabeza del insecto.

Para obtener la proporción de mosquitos infectantes, se realizó la búsqueda de esporozoitos de *Plasmodium* mediante técnicas de PCR, usando cebadores específicos para cada especie de *Plasmodium*. Para ello, se aisló primero las [cabeza+tórax] de cada individuo para tener certeza de procesar las glándulas salivares. Luego se extrajo el DNA y se procesó las muestras mediante un protocolo estandarizado por Lardeux, *et al.* 2008a (ANEXO 5).

Debido al considerable número de mosquitos a procesar, se realizó agrupaciones de individuos (lotes de 1 a 20 mosquitos) de acuerdo a la especie, fecha, hora, número de la casa de captura y lugar de captura (interior/exterior).

Luego, para la estimación de la proporción de mosquitos infectantes en las muestras mensuales, se utilizó el programa PoolScreen 2.0 que toma en cuenta el número de agrupaciones, el número de agrupaciones detectadas positivas y el tamaño (número de mosquitos) de cada agrupación (Katholi, *et al.* 1995).

4.4. Parámetros bio-ecológicos

4.4.1. Actividad de endo/exofagia

Para cada mes de captura y para cada especie, fue calculada la proporción de mosquitos que pican dentro (endofagia) y fuera (exofagia) de las casas, tomado en cuenta el total de las capturas de todas las casas.

4.4.2. Actividad horaria de picadura

Se determinaron los horarios de picadura para cada especie de *Anopheles* cuando se capturaron el 25 %, 50 % y 75 % de los mosquitos de cada mes de captura.

4.4.3. Variables ambientales

Los valores diarios de precipitaciones (mm), temperatura (°C), y humedad relativa (%) fueron proporcionados por el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI) de la estación meteorológica Yacuiba–Aeropuerto, situada a 10 km al sur de la localidad de Caiza. Para la temperatura y la humedad relativa, se consiguieron los valores diarios: mínimos y máximos, con los cuales se calculó el promedio diario ((máxima + mínima)/2) para el periodo abril 2005 – junio 2006.

Las estimaciones mensuales de precipitación (mm), temperatura (°C), y humedad relativa (%) representativas para Caiza, fueron obtenidas mediante el promedio de los valores diarios de 30 días antes de las capturas. Estos valores calculados fueron utilizados para:

- Los cálculos de la duración del ciclo extrínseco del parásito (n) y para la duración del ciclo gonotrófico (g) de los mosquitos, donde es necesario una estimación de la temperatura ambiente.
- Para estudiar las relaciones entre los índices entomológicos (CV , EIR , EVI) y las variables ambientales.

4.5. Casos de malaria

La información mensual del número de casos de malaria para la localidad de Caiza, fueron obtenidos del Programa Nacional de Malaria (PNM), para el periodo comprendido entre abril 2005 y junio 2006. Mediante análisis de correlaciones se determinó la relación entre los casos de malaria y la capacidad vectorial de cada especie de *Anopheles*.

5. RESULTADOS

5.1. Especies de Culicidae capturadas

5.1.1. Géneros

En la localidad de Caiza, se capturaron en total 32989 mosquitos de la familia Culicidae. Estos individuos se distribuyen en siete géneros (Tabla 2).

Género	Total individuos capturados	%
<i>Culex</i>	18583	56.40
<i>Anopheles</i>	5878	17.84
<i>Aedes</i>	3120	9.47
<i>Mansonia</i>	3049	9.25
<i>Psorophora</i>	2316	7.03
<i>Sabethes</i>	2	0.01
<i>Limatus</i>	1	<0.01
TOTAL	32989	100

Tabla 2. Composición faunística de la familia Culicidae capturados en Caiza durante el periodo abril 2005 – junio 2006.

- *Culex* fue el género que presentó una mayor abundancia en el área de estudio, con 56.4 % del total capturado. Entre las especies más abundantes dentro este género ha sido identificado *Culex quinquefasciatus*, especie cosmopolita que ha sido involucrada en otras partes del mundo como vector de la filariasis (Rayah, *et al.* 1983).
- *Anopheles* fue el segundo género más abundante, representando el 17.8 % de las capturas totales.
- *Aedes* es el tercer género que representa el 9.5 % de las capturas totales realizadas. Entre las especies más abundantes dentro este género ha sido identificado *Aedes scapularis* como la especie más abundante, que se encuentra en mayor parte de América tropical y subtropical, y al menos 15 virus fueron

aislados de esta especie incluyendo la fiebre amarilla y la encefalitis equina venezolana (Campos, *et al.* 1996).

- *Mansonia* es el cuarto género que representa el 9.3 % de las capturas totales; donde la especie *Mansonia indubitans* es la más abundante, ocupando un amplio rango geográfico en América y ha sido reportada como otro vector potencial de filariosis y arbovirus (Edman 1971).
- *Psorophora* es el quinto género que representa el 7.0 % de las capturas totales donde la especie *Psorophora dimidiata* es la más abundante, es una especie americana considerada como otro vector potencial de filariosis y arbovirus (Edman 1971).
- Finalmente, los géneros *Sabethes* y *Limatus* representan proporciones menores a 0.01 % del total capturado; sin embargo, en países vecinos del neotrópico se considera que las especies del género *Sabethes* juegan un rol en la transmisión del virus que provoca la fiebre amarilla, y las especies del género *Limatus* que se encuentran en América Central, América del Sur y el este de las Antillas son considerados como vectores del virus que provoca la encefalitis equina (Zapata-Peniche, *et al.* 2007, Chadee 1990).

5.1.2. Género *Anopheles*

El género *Anopheles* habita en zonas templadas, tropicales y subtropicales del mundo. Presenta cuatro etapas de desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto. Las primeras tres etapas ocurren en medio acuático que se prolongan entre 5 y 14 días, según la especie y los factores ambientales como la temperatura (Figura 5). En la etapa adulta, se los puede distinguir de otros géneros a través de sus palpos que son tan largos como la probóscide oscura y con anillos blancos apicales; el tórax de color gris oscuro presenta tres manchas oscuras, dos laterales y una posterior; la presencia de escamas sobre las alas de color oscuro y blanco amarillentas; y las patas largas y delgadas con anillos blancos. Sin embargo, la

mejor forma de diferenciarlos es observando su postura en reposo, que se mantiene en posición inclinada dentro de un ángulo comprendido entre 45 y 90 grados (Edman 1971).

Los mosquitos adultos suelen aparearse a los pocos días de eclosionar de la pupa. Las hembras necesitan sangre como una fuente de proteínas para desarrollar los huevos; la sangre es obtenida a través de las picaduras tanto al hombre como a los animales domésticos preferiblemente de noche, momento en el cual existe la posibilidad de transmitir los parásitos que ocasionan la enfermedad. Tras una ingesta de sangre, la hembra reposa unos días realizando la digestión mientras los huevos se desarrollan con los nutrientes extraídos y en dos o tres días, los huevos son depositados en diferentes cuerpos de agua de acuerdo a la especie (Edman 1971).

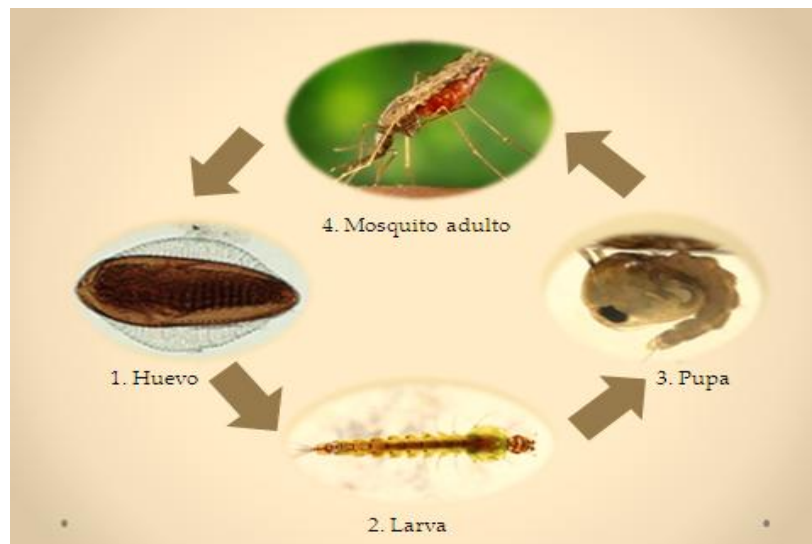


Figura 5. Ciclo reproductivo de *Anopheles*. Fuente: Elaboración propia.

5.1.3. Especies de *Anopheles*

En Caiza el género *Anopheles* se distribuye en nueve especies (Tabla 3).

An. pseudopunctipennis fue la especie más abundante (50 % del total de los *Anopheles* capturados), seguido de *An. benarrochi* (25 %), *An. triannulatus* (10.6 %), *An. argyritarsis* (9.7 %), *An. nuneztovari* (2.2 %), *An. evansae* (2.1 %), *An. rondoni* (0.2 %), *An. oswaldoi* (0.02 %) y *An. rangeli* (0.02 %).

Mes de captura	<i>An. pseudopunctipennis</i>	<i>An. benarrochi</i>	<i>An. triannulatus</i>	<i>An. argyritarsis</i>	<i>An. nuneztovari</i>	<i>An. evansae</i>	<i>An. rondoni</i>	<i>An. oswaldoi</i>	<i>An. rangeli</i>	Total
Abril 2005	326	118	4	8	1	0	0	0	0	457
Mayo 2005	649	0	71	67	0	116	1	0	0	904
Junio 2005	172	66	28	56	0	0	0	0	0	322
Agosto 2005	180	22	4	25	1	0	0	0	0	232
Septiembre 2005	78	7	0	10	0	0	0	0	0	95
Octubre 2005	358	0	1	10	0	0	0	0	0	369
Noviembre 2005	417	1	0	2	0	0	0	0	0	420
Diciembre 2005	305	0	1	9	3	2	0	0	1	321
Enero 2006	42	0	19	30	53	8	0	0	0	152
Febrero 2006	46	226	76	48	4	0	0	0	0	400
Marzo 2006	126	121	115	46	24	0	0	1	0	433
Abril 2006	98	451	152	94	0	0	3	0	0	798
Mayo 2006	127	343	141	127	42	0	8	0	0	788
Junio 2006	25	111	12	37	1	0	1	0	0	187
TOTAL	2949	1466	624	569	129	126	13	1	1	5878

Tabla 3. Número de mosquitos capturados para cada especie de *Anopheles* en Caiza durante el periodo abril 2005 – junio 2006 (0: no se capturaron mosquitos).

Las especies casi siempre presentes en las capturas y en cantidades significativas durante el estudio fueron cuatro: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis*. Estas especies, por su presencia casi constante y sus densidades elevadas (por lo menos en algunas épocas del año), podrían ser consideradas como posibles vectores de la malaria en la zona. Por esta razón estas cuatro especies fueron objeto del presente estudio. Las demás especies fueron: (1) en densidades muy reducidas o (2) en densidades elevadas de manera demasiado puntual para poder iniciar una transmisión de parásitos, por lo que no fueron tomadas en cuenta en el estudio.

5.2. Estimación de los parámetros entomo–parasitológicos

5.2.1. Número de picaduras por hombre por noche (*m.a*)

5.2.1.1. Análisis descriptivo

An. benarrochi, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* presentaron un patrón de variación similar (Tabla 4), estas especies fueron más abundantes de febrero 2006 a junio 2006, con valores del *m.a* que varían entre ≈ 1 y ≈ 14 . Sin embargo, *An. benarrochi* fue la especie más abundante mostrando un pico máximo de abundancia del *m.a* de 14.1, en abril 2006, y durante el resto del año (junio 2006 a enero 2006), esta especie disminuyó su abundancia significativamente con valores del *m.a* menores a 1. Por su lado *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* desaparecen en algunos meses (septiembre 2005, noviembre 2005) (Figura 6).

Mes de captura	<i>An. pseudopunctipennis</i>	<i>An. benarrochi</i>	<i>An. triannulatus</i>	<i>An. argyritarsis</i>
Abril 2005	10.9	3.9	0.1	0.3
Mayo 2005	14.1	0	1.5	1.5
Junio 2005	5.4	2.1	0.9	1.8
Agosto 2005	5.6	0.7	0.1	0.8
Septiembre 2005	2.4	0.2	0	0.3
Octubre 2005	11.2	0	<0.1	0.3
Noviembre 2005	13.0	<0.1	0	0.1
Diciembre 2005	9.5	0	<0.1	0.3
Enero 2006	1.3	0	0.6	0.9
Febrero 2006	1.4	7.1	2.4	1.5
Marzo 2006	3.9	3.8	3.6	1.4
Abril 2006	3.1	14.1	4.8	2.9
Mayo 2006	4.0	10.7	4.4	4.0
Junio 2006	1.1	5.0	0.5	1.7
TOTAL	6.6	3.3	1.4	1.3

Tabla 4. Número de picaduras por hombre por noche (m.a) para las especies: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* en Caiza, durante el periodo abril 2005–junio 2006 (0: no se capturó mosquitos).

En cambio, *An. pseudopunctipennis* parece tener una dinámica diferente, con una presencia muy marcada durante los meses donde las demás especies son muy reducidas; si bien, esta especie también está presente durante los meses de febrero 2006 a junio 2006, en conjunto con las demás especies, su abundancia disminuyó significativamente entre junio 2005 y septiembre 2005, y en el mes de enero 2006.

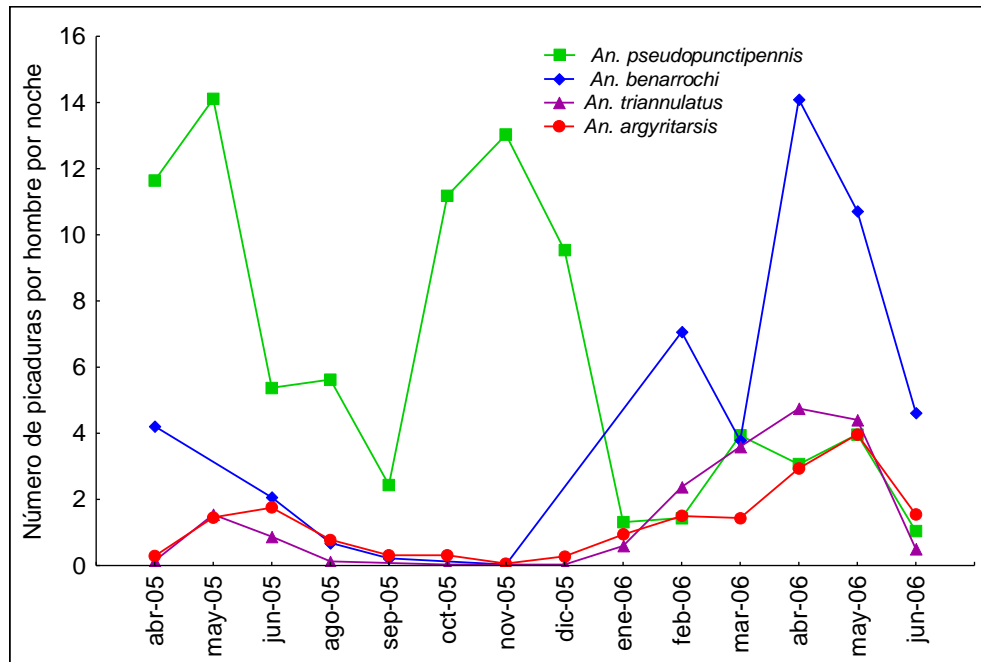


Figura 6. Variación mensual del número de picaduras por hombre por noche (m.a) para las especies: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* durante el periodo abril 2005–junio 2006.

Durante el periodo de estudio se presentaron variaciones ambientales de precipitación y temperatura que fueron favorables para algunas especies y desfavorables para otras. Por ejemplo, durante los meses comprendidos entre abril 2005 y enero 2006 cuando, disminuyó el nivel de precipitaciones y temperatura (0.5 mm y 17 °C), *An. pseudopunctipennis* aumentó su abundancia, con respecto a las demás especies. En cambio, el aumento del nivel de precipitaciones durante los siguientes meses (13 mm), fue favorable para *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* y desfavorable para *An. pseudopunctipennis*, pues los altos niveles de precipitación, por un lado, pudieron ocasionar la destrucción de los criaderos de *An. pseudopunctipennis* que generalmente se encuentran en los márgenes de los ríos y de esta manera disminuir su abundancia, y por otro, aumentar los sitios de cría para las demás especies que generalmente son charcos y lagunas, y de esta manera aumentar su abundancia durante este periodo (Figura 7).

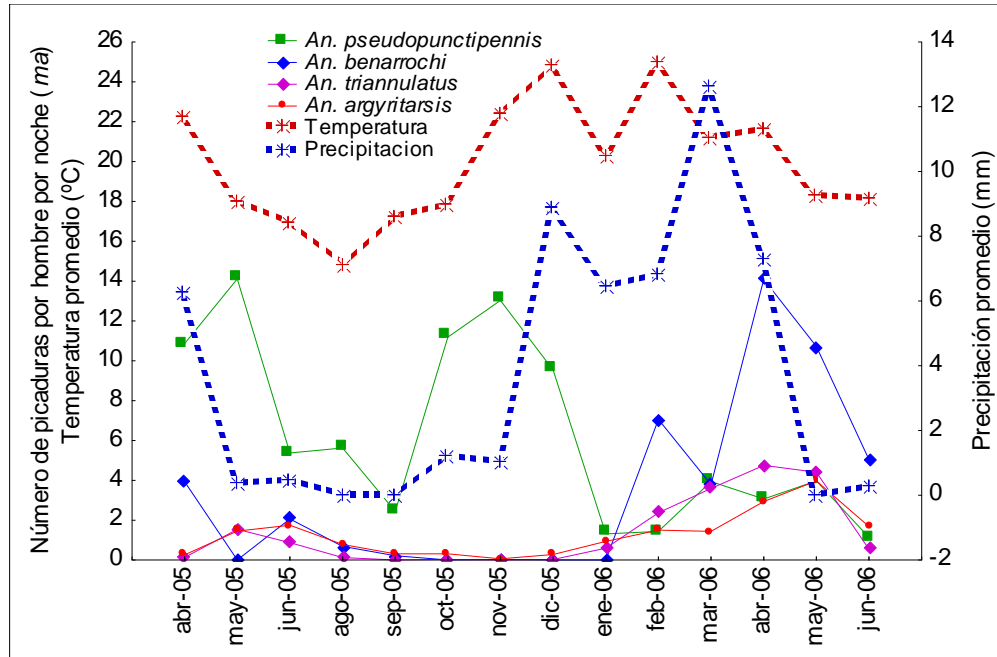


Figura 7. Relación entre la variación mensual del número de picaduras por hombre por noche (*m.a*) y las variables ambientales (precipitación (mm) y temperatura (°C)) durante el periodo abril 2005 – junio 2006.

5.2.1.2. Relaciones del *m.a* con variables climáticas

El plano de las dimensiones 1x2 del análisis de correspondencias múltiple (ACM) determinado por las variables ambientales: precipitaciones, temperatura y humedad relativa (Figura 8), fueron divididas en categorías disyuntivas según la Tabla 5 en: “nivel bajo”, “nivel medio” y “nivel alto”.

	Código en la Figura 8	Nivel bajo (1)	Nivel medio (2)	Nivel alto (3)
Precipitación (mm) (P)	P1–P2–P3	0	0–1	>1
Temperatura (°C) (T)	T1–T2–T3	<16	16–24	>24
Humedad relativa (%) (H)	H1–H2–H3	<64	64–82	>82
<i>An. pseudopunctipennis</i> (<i>m.a</i>)	PSE1–PSE2–PSE3	<1.4	1.4–9	>9
<i>An. benarrochi</i> (<i>m.a</i>)	BEN1–BEN2–BEN3	<0.7	0.7–4.6	>4.6
<i>An. triannulatus</i> (<i>m.a</i>)	TRIA1–TRIA2–TRIA3	<0.1	0.1–1.5	>1.5
<i>An. argyritarsis</i> (<i>m.a</i>)	ARG1–ARG2–ARG3	<0.3	0.3–1.5	>1.5

Tabla 5. Variables ambientales mensuales promedio y especies de *Anopheles* divididas en categorías disyuntivas en tres niveles: bajo, medio y alto.

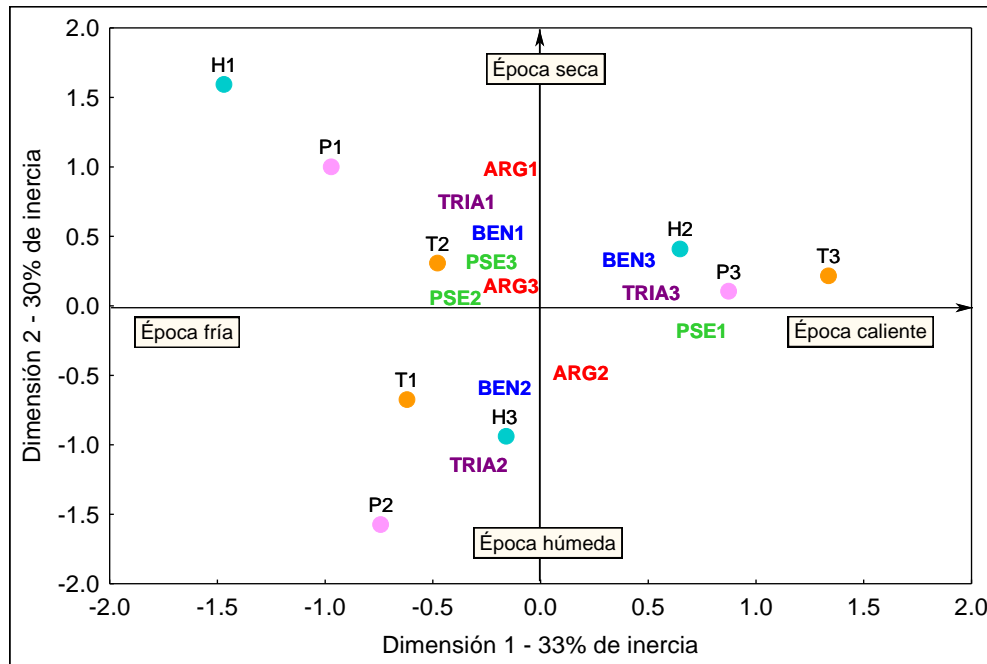


Figura 8. Análisis de correspondencia múltiple (ACM) del *m.a* de cada especie de *Anopheles* y las variables ambientales de 30 días antes de las capturas realizadas en Caiza (Significado de los códigos en la Tabla 5).

El plano 1x2 del análisis factorial de correspondencia múltiple explica $\approx 60\%$ de la variación de los datos. La dimensión 1 está construida por las variables “precipitaciones altas” y “temperaturas altas” (lado positivo de la dimensión) que se oponen a las variables “precipitaciones bajas” y “humedad baja” (lado negativo de la dimensión). Por lo que esta dimensión podría ser interpretada como una dimensión estacional, donde la época fría (lado izquierdo) se opone a la época caliente (lado derecho). La dimensión 2 está construida por las variables “humedad alta” y “precipitaciones medias” (lado negativo de la dimensión), y las variables “humedad baja” y “precipitaciones bajas” (lado positivo de la dimensión). Por lo que esta dimensión puede ser interpretada como una dimensión de humedad.

An. benarrochi y *An. triannulatus* presentaron el mismo patrón de abundancia. Se encontraron en mayor abundancia durante la época caliente, es decir cuando se presentaron altos niveles de temperatura y precipitación (lado positivo de la dimensión 1), y en menor abundancia durante la época fría cuando se presentaron bajos niveles de temperatura y precipitación (lado negativo de la dimensión 1). *An. pseudopunctipennis* tiene una dinámica inversa, presentando bajos niveles de abundancia durante la época caliente cuando los niveles de temperatura y precipitación son elevados, y altos niveles de abundancia durante

la época fría cuando estos niveles ambientales son más reducidos. *An. argyritarsis* parece tener una dinámica con componentes comunes entre *An. pseudopunctipennis* por un lado y *An. benarrochi* y *An. triannulatus* del otro lado, tiene bajos niveles de abundancia durante la época seca como *An. benarrochi* y *An. triannulatus* y altos niveles de abundancia en la misma época que *An. pseudopunctipennis*.

5.2.2. Duración del ciclo gonotrófico y número de comidas sobre humanos por noche

Como se explicó en la sección de Métodos, el valor de h fue estimado en 0.3 para *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi* y *An. triannulatus* y 0.11 para *An. argyritarsis*. El parámetro g de *An. pseudopunctipennis* fue usado para todas las especies. La duración del ciclo gonotrófico (g), calculada según la fórmula proporcionada por Lardeux, *et al.* 2008b y el número de picaduras sobre humanos $a = h/g$, para cada mes de muestreo (Tabla 6).

Mes de captura	g	<i>An.</i> <i>pseudopunctipennis</i> <i>An. benarrochi</i> <i>An. triannulatus</i>	<i>An. argyritarsis</i>
		a	a
Abril 2005	4.3	0.07	0.03
Mayo 2005	11.5	0.03	0.01
Junio 2005	31.2	0.01	0.00
Agosto 2005	33.2	0.01	0.00
Septiembre 2005	7.4	0.04	0.01
Octubre 2005	5.5	0.05	0.02
Noviembre 2005	4.8	0.06	0.02
Diciembre 2005	3.3	0.09	0.03
Enero 2006	3.1	0.10	0.04
Febrero 2006	2.8	0.11	0.04
Marzo 2006	3.3	0.09	0.03
Abril 2006	4.9	0.06	0.02
Mayo 2006	11.4	0.03	0.01
Junio 2006	6.8	0.04	0.02

Tabla 6. Estimación del número de comidas sobre humanos por noche.

5.2.3. Tasa diaria de sobrevivencia de los mosquitos (p)

Mes de captura	<i>An. pseudopunctipennis</i>		<i>An. benarrochi</i>		<i>An. triannulatus</i>		<i>An. argyritarsis</i>	
	% paras	p	% paras	p	% paras	p	% paras	p
Abril 2005	66	91	-	-	-	-	-	-
Mayo 2005	67	97	0	0	-	-	-	-
Junio 2005	54	98	-	-	-	-	-	-
Agosto 2005	44	98	-	-	-	-	-	-
Septiembre 2005	58	93	-	-	0	0	-	-
Octubre 2005	67	93	0	0	-	-	(100)	(100)
Noviembre 2005	70	93	-	-	0	0	-	-
Diciembre 2005	74	91	0	0	-	-	-	-
Enero 2006	(68)	(88)	0	0	-	-	-	-
Febrero 2006	(86)	(95)	42	73	(50)	(78)	(93)	(98)
Marzo 2006	67	89	45	79	44	78	(80)	(94)
Abril 2006	48	86	(33)	(79)	(9)	(61)	-	-
Mayo 2006	50	94	45	93	43	93	37	92
Junio 2006	(71)	(95)	54	91	(89)	(98)	(61)	(93)

Tabla 7. Tasa de sobrevivencia de los *Anopheles* durante el periodo abril 2005 y junio 2006 (0: no se capturó mosquitos; -: se capturó mosquitos pero no se determinó la paridad, entonces tampoco el p ; y entre paréntesis se representan el cálculo de p no valido debido al reducido número de individuos (<100) capturados que afectan la precisión de la paridad, en consecuencia también del p).

Durante el periodo de estudio, el número de mosquitos capturados mensualmente para *An. pseudopunctipennis* siempre fue suficiente para realizar los cálculos de p . En cambio, para las demás especies por una parte, no se realizó las disecciones de mosquitos para determinar la paridad durante los meses del año 2005 y por otra, el número de mosquitos capturados en algunos meses del año 2006 fue demasiado bajo. Por lo tanto, el cálculo de la paridad no tiene exactitud (estos meses aparecen entre paréntesis en la tabla).

Por estas razones, la comparación de proporciones de sobrevivencia entre las especies solo fue factible a partir del mes de febrero 2006 (Tabla 7).

An. pseudopunctipennis presentó una tasa de sobrevivencia diaria elevada, superior al 90 % en la mayoría de los meses de captura (excluyendo marzo y abril 2006 donde el valor fue 89 % y 86 %, respectivamente). En cambio, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* presentaron tasas de sobrevivencia menores o iguales a las de *An. pseudopunctipennis* en los mismos meses. Además, *An. pseudopunctipennis* aparece como la especie con la tasa de sobrevivencia más larga por los valores de la tasa de sobrevivencia elevados, permitiendo así el cumplimiento del ciclo extrínseco del parásito, y convirtiéndola así, en la especie más exitosa en la transmisión de la enfermedad con respecto a las demás especies.

5.2.4. Duración del ciclo extrínseco de *P. vivax* (*n*) y la esperanza de vida infectante de los mosquitos (*EVI*)

En Caiza, durante el periodo de estudio, el ciclo extrínseco de *P. vivax* variaba entre ≈ 9 y 75 días, valores calculados a partir de los datos promedio de temperatura ambiente de los días de captura. En los meses de junio 2005 y agosto 2005, la temperatura ambiente promedio se encontraba por debajo del umbral para el desarrollo del parásito, por ello ningún *P. vivax* podía completar su desarrollo (Tabla 8).

Esperanza de vida infectante (EVI)						
Mes de captura	Temperatura ambiente promedio mensual (°C)	Duración del ciclo extrínseco (días) a partir de los días de captura	<i>An. pseudopunctipennis</i>	<i>An. benarrochi</i>	<i>An. triannulatus</i>	<i>An. argyritarsis</i>
Abril 2005	21.6	14.7	2.56	-	-	-
Mayo 2005	15.9	75.0	2.19	0	-	-
Junio 2005	13.6	∞	-	-	-	-
Agosto 2005	13.5	∞	-	-	-	-
Septiembre 2005	17.9	31.3	1.36	-	0	-
Octubre 2005	19.7	20.3	3.21	0	-	-
Noviembre 2005	20.7	17.0	3.97	-	0	-
Diciembre 2005	24.3	10.7	4.08	0	-	-
Enero 2006	25.1	9.9	(2.34)	0	-	-
Febrero 2006	26.0	9.1	(11.23)	0.19	(0.44)	(33.00)
Marzo 2006	24.2	10.8	2.30	0.30	0.29	(7.20)
Abril 2006	20.7	17.0	0.49	(0.09)	(0.00)	-
Mayo 2006	15.9	73.8	0.20	0.09	0.06	0.02
Junio 2006	18.3	27.4	(5.3)	0.90	(36.13)	(1.96)

Tabla 8. Duración del ciclo extrínseco de *P. vivax* en días y la esperanza de vida infectante (EVI) para las especies: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* (0: no se capturó mosquitos; -: se capturó mosquitos pero no se determinó el EVI; y entre paréntesis se representa el cálculo de EVI no válido debido al reducido número de individuos capturados (<100), que afectan con precisión en el cálculo correspondiente).

Sin embargo, en los meses de mayo 2005 y mayo 2006, cuando la temperatura promedio también era baja, se permitía el desarrollo del parásito en ≈ 75 días, cifra incompatible con el tiempo de vida del mosquito, el cual no permitía que *P. vivax* pudiese completar su ciclo extrínseco durante estos meses (época fría y seca). En cambio, para el mes de septiembre 2005, (época caliente y húmeda), la duración del ciclo extrínseco del parásito variaba entre ≈ 9 y 30 días, duración compatible con el tiempo de vida de los *Anopheles*, lo cual permitía completar el desarrollo extrínseco del parásito (Figura 9).

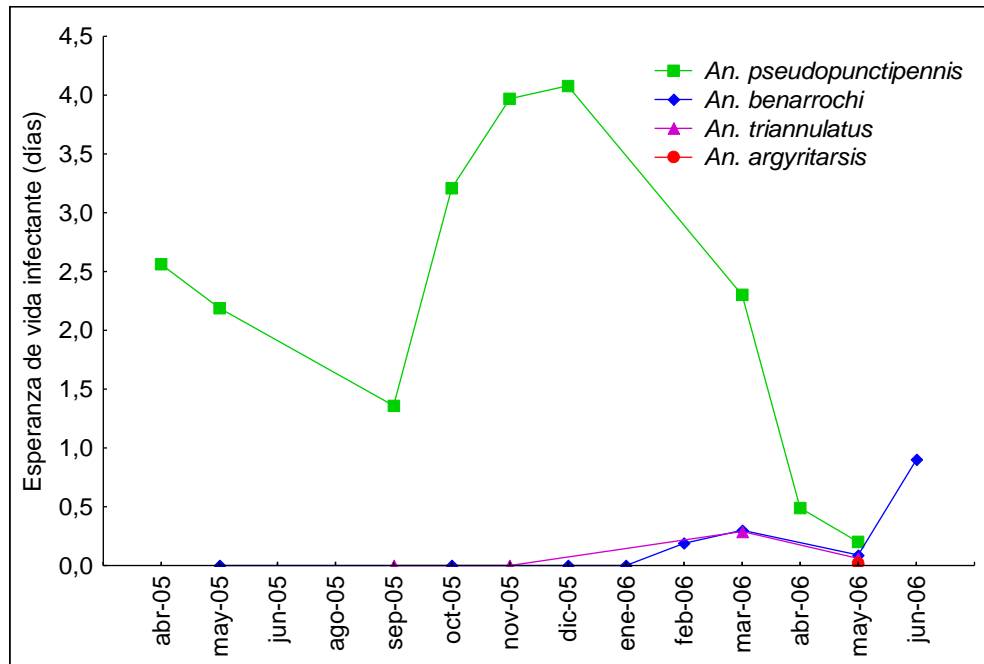


Figura 9. Variación mensual de la esperanza de vida infectante (EVI) para las especies: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* durante el periodo abril 2005 – junio 2006.

El cálculo de la esperanza de vida infectante (ecuación 5) para *An. pseudopunctipennis* (especie con mayor tasa de sobrevivencia con esporozoitos de *Plasmodium*), indica que los meses más favorables para la transmisión serían abril 2005, octubre 2005, noviembre 2005, diciembre 2005 y marzo 2006, con una duración de vida infectante de más de un día. Los meses de abril 2006 y mayo 2006, con una esperanza de vida infectante para los mosquitos menor a un día no serían favorables para la transmisión del parásito. Para las demás especies, que no tienen una tasa de sobrevivencia tan alta como *An. pseudopunctipennis*, las esperanzas de vida infectante son aún más reducidas (frecuentemente menor a un día).

5.2.5. Capacidad vectorial

Durante el periodo de estudio se calculó para cada mes de captura, la CV de *An. pseudopunctipennis*. En cambio para las demás especies en los meses del año 2005 no se realizó este cálculo porque algunos parámetros de la CV no han podido ser calculados o si lo fueron, se realizaron sin exactitud debido al reducido número de mosquitos capturados (estos meses aparecen entre paréntesis en la tabla), sin embargo durante los meses del año

2006 este cálculo fue realizado sin ningún problema. Por ello, la comparación de los valores de las *CV*'s entre las especies solo fue posible a partir del año 2006 (Tabla 9).

Mes de captura	<i>An. pseudopunctipennis</i>	<i>An. benarrochi</i>	<i>An. triannulatus</i>	<i>An. argyritarsis</i>
Abril 2005	1.93	-	-	-
Mayo 2005	0.81	0	-	-
Junio 2005	∞	-	-	-
Agosto 2005	∞	-	-	-
Septiembre 2005	0.13	-	0	-
Octubre 2005	1.95	0	-	-
Noviembre 2005	3.20	-	0	-
Diciembre 2005	3.55	0	-	-
Enero 2006	(0.30)	0	-	-
Febrero 2006	(1.70)	0.14	(0.07)	(1.92)
Marzo 2006	0.82	0.10	0.06	(0.34)
Abril 2006	0.09	(0.08)	(0.00)	∞
Mayo 2006	0.02	0.03	0.00	0.00
Junio 2006	(0.26)	0.20	(0.58)	(0.05)

Tabla 9. Variación mensual de las *CV*'s de las especies de *Anopheles* en la localidad de Caiza (0: no se capturó mosquitos; -: se capturó mosquitos pero no se determinó las *CV*'s; y entre paréntesis se representan el cálculo de *CV* no valido debido al reducido número de individuos (<100) capturados que afectan en los cálculos correspondientes).

An. pseudopunctipennis, presentó una mayor capacidad vectorial con valores que varían entre ≈ 1 y 4, durante el año 2005 (excluyendo mayo 2005, junio 2005, agosto 2005, septiembre 2005, marzo 2006, abril 2006 y mayo 2006, donde los valores son muy reducidos, <0). En cambio *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* presentaron valores de la capacidad vectorial menores a las de *An. pseudopunctipennis*. Esto nos indica que, *An. pseudopunctipennis* es la única especie con la mayor capacidad vectorial, es decir la especie más peligrosa con el mayor potencial de transmisión del parásito en una población de mosquitos (Figura 10).

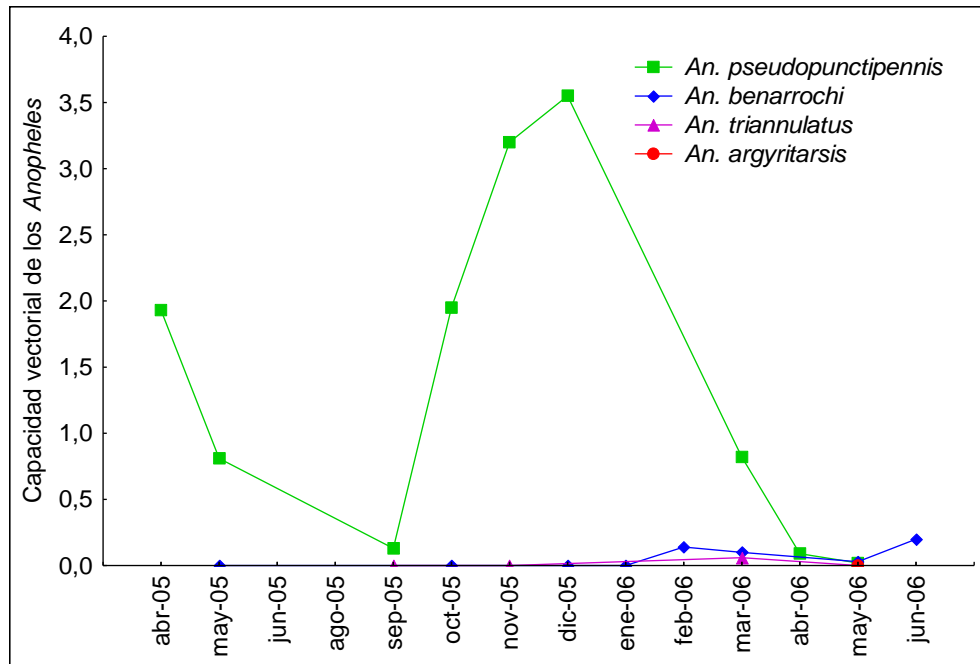


Figura 10. Variación mensual de la capacidad vectorial (CV) de las especies: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* durante el periodo abril 2005 – junio 2006.

5.3. Tasa de inoculación entomológica (EIR)

Del total de mosquitos capturados de las cuatro especies de *Anopheles*, solo fueron procesados 4714 mosquitos por PCR, los cuales fueron agrupados según su especie, en lotes de 1 a 20 mosquitos, con un total de 825 agrupaciones.

P. vivax fue identificado en *An. pseudopunctipennis* y *An. benarrochi*. En cambio *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* no fueron encontrados con el parásito. La proporción de mosquitos infectantes fue de 0.14 % y 0.4 % para *An. pseudopunctipennis* y *An. benarrochi* respectivamente, estimada sobre el total de los insectos procesados (2897 y 1283 individuos respectivamente). *An. pseudopunctipennis* fue encontrado positivo en los meses de agosto 2005, octubre 2005 y mayo 2006, y *An. benarrochi* en los meses de agosto 2005, febrero 2006 y marzo 2006 (Tabla 10).

Mes de captura	<i>An. pseudopunctipennis</i>				<i>An. benarrochi</i>			
	Mosq Proc.	Lotes	s (IC 95%)	EIR	Mosq Proc.	lotes	s (IC 95%)	EIR
Abril 2005	318	31	0	0	0	0	0	0
Mayo 2005	613	46	0	0	0	0	0	0
Junio 2005	171	28	0	0	5	3	0	0
Agosto 2005	179	27	0.012 (0.0014 – 0.041)	0.07	19	9	0.053	0.04
Septiembre 2005	78	19	0	0	7	3	0	0
Octubre 2005	358	38	0.0028 (0.000087 – 0.014)	0.03	0	0	0	0
Noviembre 2005	417	43	0	0	1	1	0	0
Diciembre 2005	305	40	0	0	0	0	0	0
Enero 2006	42	13	0	0	0	0	0	0
Febrero 2006	46	19	0	0	226	46	0.014 (0.0026 – 0.039)	0.09
Marzo 2006	122	26	0	0	121	39	0.0083 (0.00026 – 0.042)	0.03
Abril 2006	97	25	0	0	450	52	0	0
Mayo 2006	127	28	0.0082 (0.00025 – 0.042)	0.03	343	71	0	0
Junio 2006	24	12	0	0	111	28	0	0
Total	2897	395	0.0014 (0.00035 – 0.0036)	0.009	1283	252	0.004 (0.0012 – 0.0092)	0.01

Tabla 10. Número de mosquitos procesados (Mosq. Proc.), número de lotes analizados por PCR (lotes), estimación de la proporción de mosquitos infectantes por *P. vivax* (s) y el intervalo de confianza a 95 % (IC 95 %), y la tasa de inoculación entomológica (EIR) para cada mes de estudio para las especies: *An. pseudopunctipennis* y *An. benarrochi* (0: mosquitos negativos a *P. vivax*).

Ambas especies presentaron proporciones muy reducidas de mosquitos infectantes (<1 %). Solo en agosto 2005 la proporción de *An. benarrochi* infectantes fue del 5 %, (1 mosquito positivo de 19 mosquitos analizados). La tasa de inoculación fue también muy reducida para ambas especies, con valores que varían entre 0.03 y 0.09 picaduras infectantes por hombre por noche, donde la mayor tasa de inoculación para *An. pseudopunctipennis* se presentó en el mes de agosto 2005 (0.07) y para *An. benarrochi* en el mes de febrero 2006 (0.09). Entonces, durante estos meses existiría un mayor riesgo de transmisión de parásitos por dichas especies.

5.4. Influencia de otros parámetros bio-ecológicos

5.4.1. Actividad de endofagia y exofagia

Los resultados de la proporción mensual de mosquitos endófagos y exófagos para cada especie de *Anopheles* se muestran en la Tabla 11, y el patrón de variación en la Figura 11.

Mes de captura	<i>An. pseudopunctipennis</i>		<i>An. benarrochi</i>		<i>An. triannulatus</i>		<i>An. argyritarsis</i>	
	% Endo	% Exo	% Endo	% Exo	% Endo	% Exo	% Endo	% Exo
Abril 2005	*	100	*	100	*	100	*	100
Mayo 2005	35	65	0	0	39	61	42	58
Junio 2005	37	63	17	83	14	86	11	89
Agosto 2005	14	86	0	100	0	100	4	96
Septiembre 2005	21	79	14	86	0	0	0	100
Octubre 2005	17	83	0	0	0	100	10	90
Noviembre 2005	20	80	0	100	0	0	0	100
Diciembre 2005	41	59	0	0	0	100	11	89
Enero 2006	50	50	0	0	5	95	0	100
Febrero 2006	52	48	9	91	17	83	13	88
Marzo 2006	26	74	14	86	20	80	22	78
Abril 2006	19	81	25	75	21	79	21	79
Mayo 2006	43	57	30	70	33	67	28	72
Junio 2006	20	80	18	82	17	83	14	86

Tabla 11. Variación mensual de la proporción de mosquitos endófagos y exófagos (*: no se realizó la captura de mosquitos, 0: no se capturó mosquitos).

En la mayoría de los meses de captura, los mosquitos han presentado porcentajes de exofagia superiores a los porcentajes de endofagia, lo cual no significa que no exista riesgo de contraer una picadura dentro de las casas, por los bajos porcentajes de endofagia registrados.

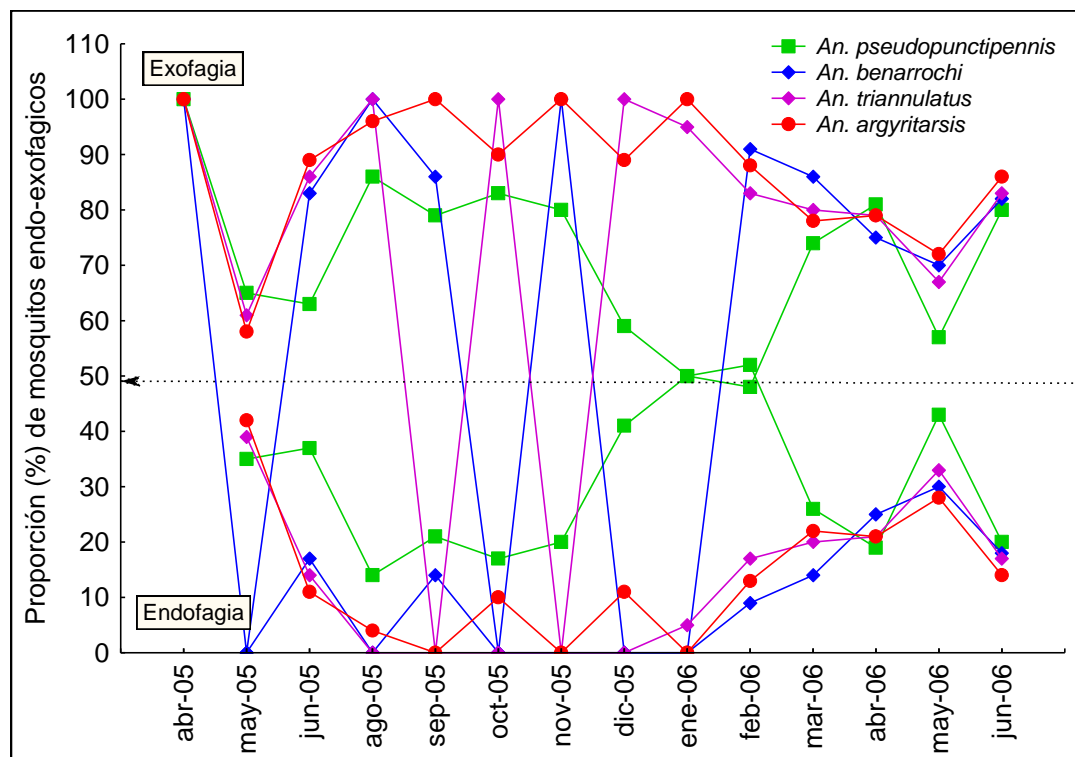


Figura 11. Patrón de endo/exofagia de las cuatro especies de *Anopheles* estudiadas durante el estudio. La línea punteada representa el límite entre la endofagia (<50 %) y la exofagia (>50 %).

Durante el periodo de estudio, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* presentaron un patrón de actividad exofágica muy similar. En cambio *An. pseudopunctipennis* presentó variaciones mensuales de su actividad exofágica, donde la mayor proporción de mosquitos exófagos se presentó durante los meses de agosto 2005, septiembre 2005, octubre 2005, noviembre 2005, marzo 2006, abril 2006 y junio 2006, y las más bajas proporciones en los meses de diciembre 2005, enero 2006 y febrero 2006, llegando a sobrepasar el límite entre la endo/exofagia, lo cual nos indica que esta especie ha presentado un comportamiento endofágico durante este tiempo.

5.4.2. Comportamiento horario de picadura

5.4.2.1. *An. pseudopunctipennis*

Durante el periodo de estudio se determinó los horarios de picadura de *An. pseudopunctipennis*, cuando se capturó el 25 %, 50 % y 75 % de los mosquitos (Figura 12). La amplitud de actividad horaria entre el 25 % y 75 % de las capturas fue aproximadamente

de tres horas, con algunas excepciones como en abril 2006 donde la amplitud fue más larga. Durante la época fría y seca (mayo 2005–septiembre 2005), el mosquito comienza y termina su actividad de picadura a tempranas horas de la noche. Por ejemplo, en junio 2005 el 50 % de las capturas fueron realizadas antes de las 20:00 hrs. Durante la época caliente (octubre 2005–abril 2006), la actividad de picadura comienza y termina horas más tarde. Por ejemplo, en enero 2006, el 50 % de las capturas fueron realizadas durante la media noche.

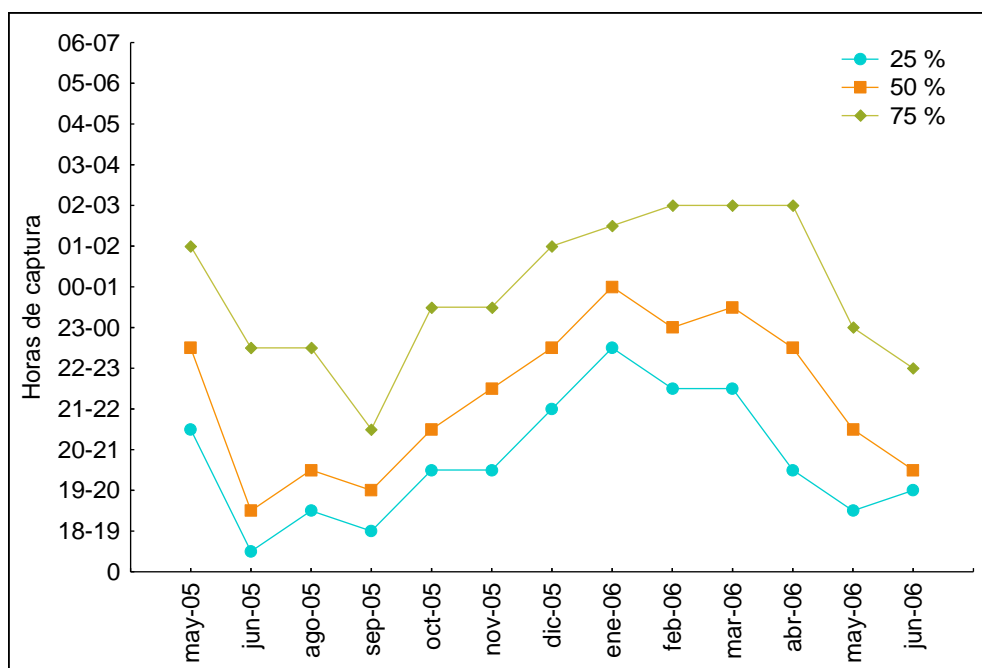


Figura 12. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de *An. pseudopunctipennis* durante el periodo mayo 2005 – junio 2006.

5.4.2.2. *An. benarrochi*

An. benarrochi es un mosquito que presentó una actividad de picadura temprana. Durante el periodo de estudio, este mosquito fue capturado a tempranas horas de la noche desde las 18:00 hrs cuando se realizó el 25 % de las capturas, hasta poco después de media noche cuando se realizó el 75 % de las capturas. La amplitud de actividad horaria entre el 25 % y 75 % de las capturas fue aproximadamente de seis horas (Figura 13).

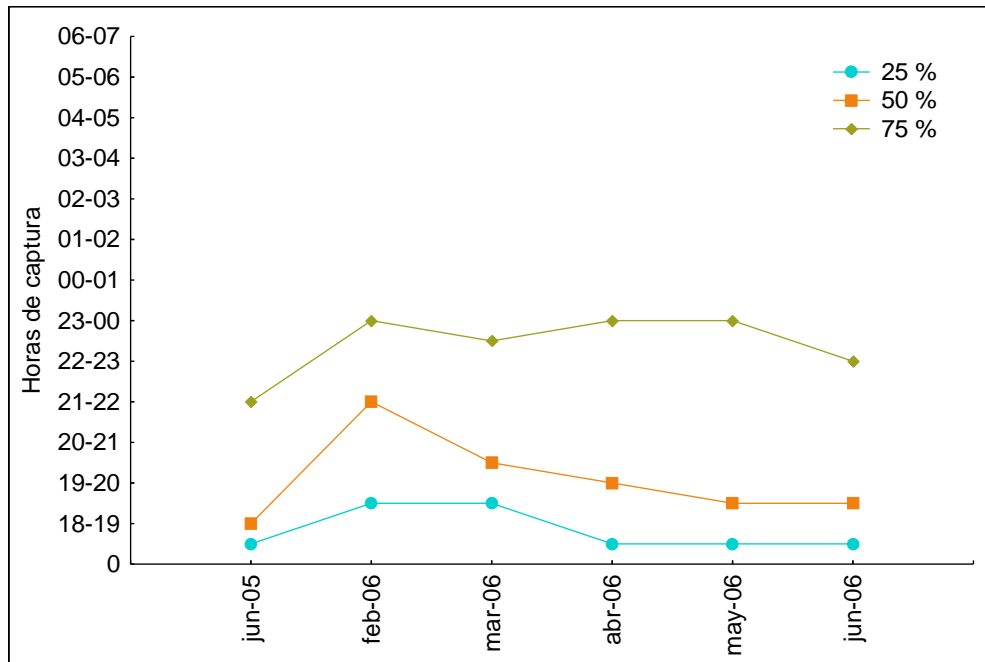


Figura 13. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de *An. benarrochi* durante el periodo junio 2005 – junio 2006.

5.4.2.3. *An. triannulatus*

Al igual que *An. benarrochi*, *An. triannulatus* es un mosquito de actividad de picadura temprana. Es posible que la actividad de picadura sea estacional, al igual que *An. pseudopunctipennis*, con una actividad de picadura horas más tarde durante la época caliente. La amplitud de actividad horaria entre el 25 % y 75 % de las capturas fue aproximadamente de seis horas (Figura 14).

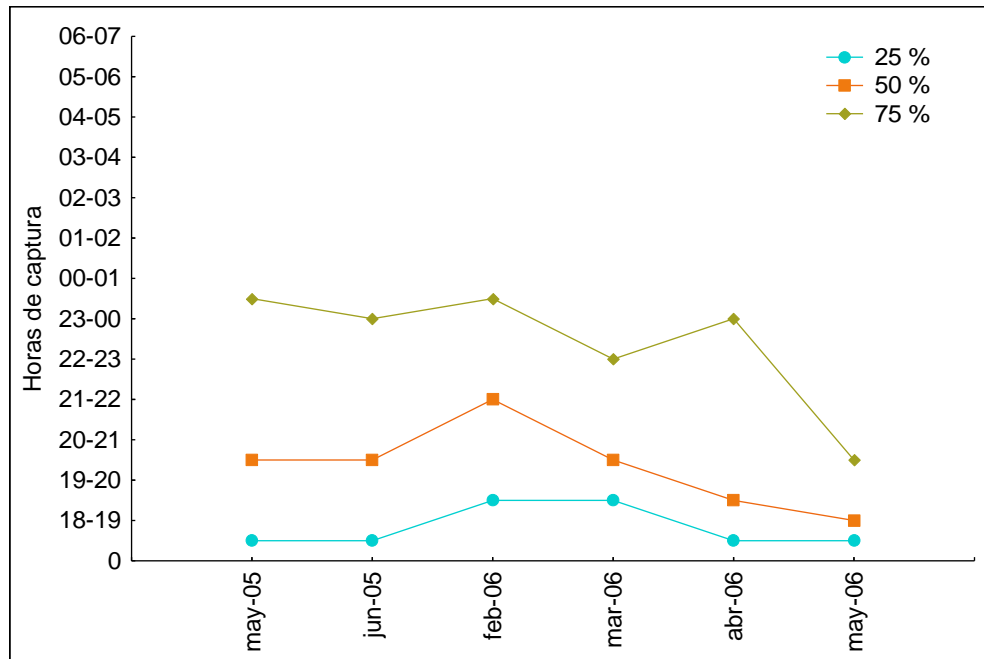


Figura 14. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de *An. triannulatus* durante el periodo mayo 2005 – mayo 2006.

5.4.2.4. *An. argyritarsis*

An. argyritarsis presentó una actividad de picadura a tempranas horas de la noche, al igual que *An. benarrochi* y *An. triannulatus*. La amplitud de actividad horaria entre el 25 % y 75 % de las capturas fue aproximadamente de cinco horas (Figura 15).

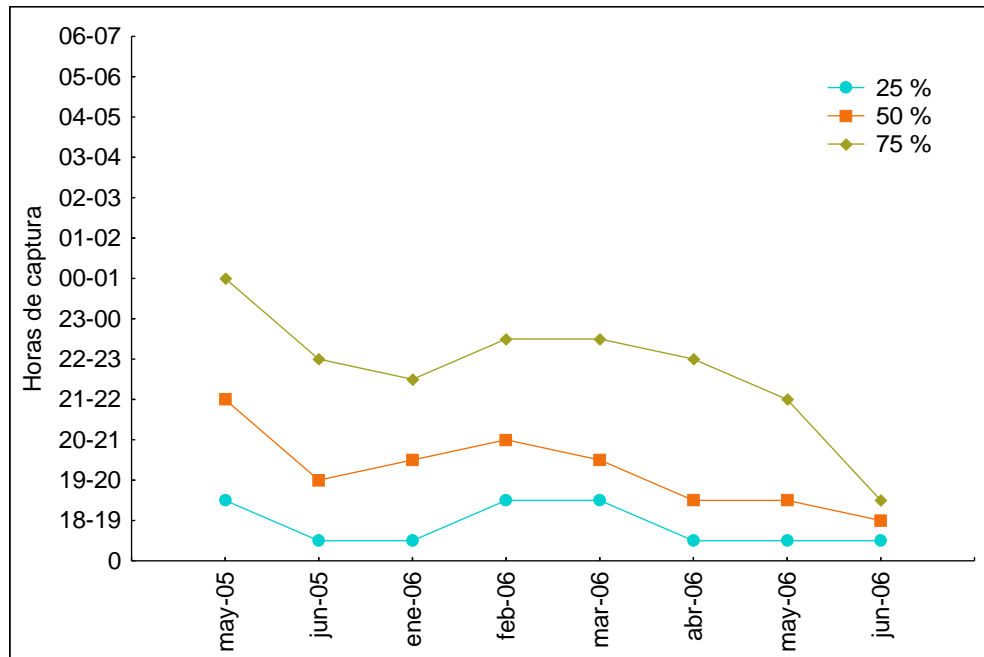


Figura 15. Variación mensual de la actividad horaria de picadura de *An. argyritarsis* durante el periodo mayo 2005 – junio 2006.

5.5. Casos de malaria

A partir de la información mensual del número de casos de malaria obtenidos del Programa Nacional de Malaria (PNM), se estimó el número de casos de malaria para los días de captura de cada mes de estudio, los cuales fueron representados en logaritmo para realizar las correlaciones con la capacidad vectorial (Tabla 12).

Mes de captura	Estimación de los Casos de malaria	Casos de malaria (Log)	Capacidad vectorial			
			<i>An. pseudopunctipennis</i>	<i>An. benarrochi</i>	<i>An. triannulatus</i>	<i>An. argyritarsis</i>
Abril 2005	73	1.87	1.93	-	-	-
Mayo 2005	64	1.81	0.81	0	-	-
Junio 2005	19	1.31	∞	-	-	-
Agosto 2005	3	0.61	∞	-	-	-
Septiembre 2005	4	0.70	0.13	-	0	-
Octubre 2005	5	0.76	1.95	0	-	-
Noviembre 2005	14	1.17	3.20	-	0	-
Diciembre 2005	17	1.25	3.55	0	-	-
Enero 2006	38	1.59	(0.30)	0	-	-
Febrero 2006	41	1.63	(1.70)	0.14	(0.07)	(1.92)
Marzo 2006	16	1.24	0.82	0.10	0.06	(0.34)
Abril 2006	8	0.94	0.09	(0.08)	(0.00)	∞
Mayo 2006	6	0.81	0.02	0.03	0.00	0.00
Junio 2006	3	0.62	(0.26)	0.20	(0.58)	(0.05)

Tabla 12. Variación mensual de la estimación del número de casos de malaria y la capacidad vectorial (CV) de los *Anopheles*, para la localidad de Caiza, durante el periodo abril 2005 – junio 2006 (0: No se capturó mosquitos; -: se capturó mosquitos pero no se determinó la CV; y entre paréntesis se representan la CV no válido, debido al reducido número de individuos (<100) capturados que afectan en los cálculos correspondientes).

Durante el periodo de estudio, *An. pseudopunctipennis* presentó valores máximos de su capacidad vectorial (3.55), en comparación con *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* que presentaron valores muy reducidos (<0.10), lo cual no permitió realizar las correlaciones mensuales entre los casos de enfermos y las CV's de estas especies, por ello durante el periodo de estudio la correlación entre los casos de enfermos solo fue factible con *An. pseudopunctipennis*.

La correlación entre los casos de malaria y la CV de *An. pseudopunctipennis* de cada mes de captura fue calculado obteniendo un valor de $R^2=0.42$. Mientras que la correlación

entre los casos de malaria y la CV de un mes anterior, fue calculado obteniendo un valor significativo de $R^2=0.89$; cuyo gráfico de esta última correlación muestra dos curvas casi sobreponiéndose (Figura 16). Esta relación representa la duración de la incubación del parásito en el ser humano entre el momento de la picadura y cuando el humano siente los síntomas, pasando por un periodo de aproximadamente 15 días. La relación estrecha entre la CV de *An. pseudopunctipennis* y los casos de malaria, es una explicación de la participación única de este vector en la transmisión de la malaria en Caiza y las demás especies de mosquitos no parecen tener un papel muy importante en el aumento del número de casos de malaria.

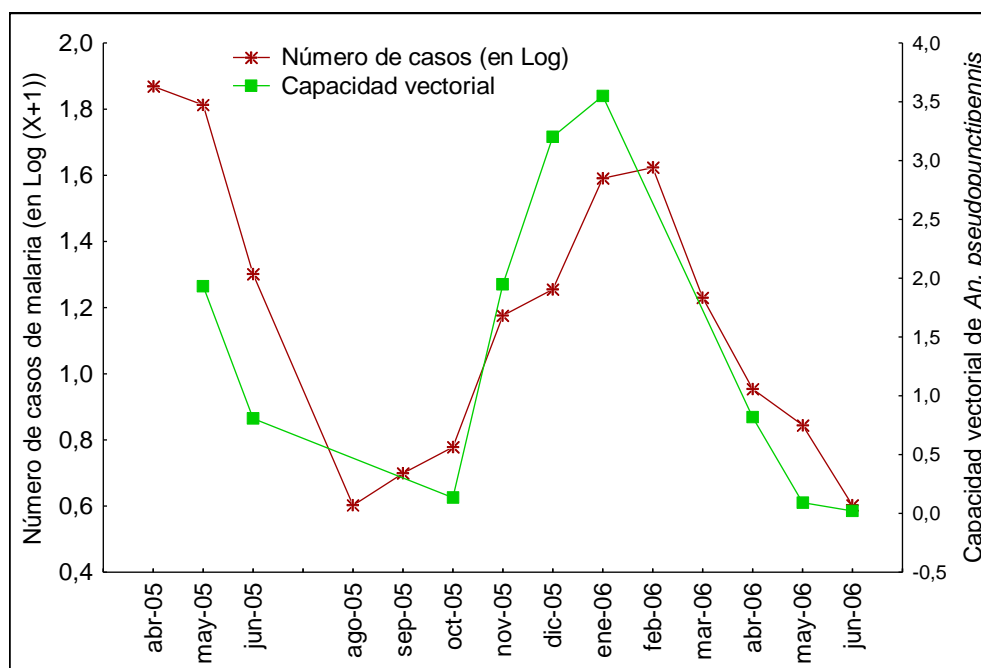


Figura 16. Variación mensual de los casos de malaria y su relación con la capacidad vectorial de *An. pseudopunctipennis* durante el periodo abril 2005 – junio 2006.

6. DISCUSIÓN

Durante los 14 meses de estudio en Caiza, 32989 mosquitos fueron capturados en total, de los cuales 5878 (18 %) pertenecen al género *Anopheles*. De ellos el 50 % pertenece a *An. pseudopunctipennis*, el 25 % a *An. benarrochi*, el 11 % a *An. triannulatus* y el 10 % a *An. argyritarsis*. Estas cuatro especies fueron estudiadas por su posible papel vector de la malaria. Solamente *An. pseudopunctipennis* y *An. benarrochi* fueron encontrados portadores de *P. vivax*.

An. pseudopunctipennis. Es conocido como el vector principal de la malaria en su área de distribución muy amplia, desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina (Carpenter & LaCasse 1955, Elliot 1968, Fleming 1986, Hayes, *et al.* 1987, González-Cerón, *et al.* 1999).

En Bolivia, esta especie ha sido identificada con esporozoitos de *P. vivax* en la comunidad de Mataral, en el departamento de Cochabamba (Lardeux, *et al.* 2013) cumpliendo así un papel vector importante.

En Caiza, durante el periodo de estudio *An. pseudopunctipennis* presentó parámetros entomológicos superiores con respecto a las demás especies estudiadas. Aun, cuando estos parámetros no fueron muy elevados comparado con otros vectores potenciales como *An. darlingi* en las Américas o *An. gambiae* en África, estos parámetros calculados para *An. pseudopunctipennis* son suficientes para poder permitir una transmisión activa. Una estimación rápida del tipo de transmisión por *An. pseudopunctipennis* indica que este vector es característico de una transmisión inestable. El valor que caracteriza el tipo de transmisión es: $a/-\ln(p)$, donde valores por debajo de 0.5 indican una transmisión de tipo inestable, por encima de 2.5 la transmisión de tipo estable, y entre los dos valores, la transmisión es de tipo intermedio (MacDonald 1952). En Caiza, este valor fue siempre entre 0.4 y 1, indicando una transmisión de tipo inestable o apenas intermedio. En Caiza, *An. pseudopunctipennis* fue la única especie que presentó correlación positiva entre su capacidad vectorial y los casos de malaria. Entonces, esta especie es el vector principal en esta localidad. Para comprender esta situación, es necesario entender los resultados obtenidos de los parámetros que componen dicha capacidad vectorial.

El principal factor que determina su nivel de abundancia es la presencia de los criaderos larvarios, los cuales están situados en los márgenes de los ríos cercanos a la localidad de Caiza. Estos criaderos son muy dependientes del estiaje y las crecidas del río. Cuando el río alcanza el estiaje, los criaderos son estables, entonces es muy favorable para *An. pseudopunctipennis* (Shannon & Davis 1927, Dantur Juri, *et al.* 2010). Al contrario, cuando existen las crecidas del río que destruyen los criaderos, entonces disminuyen las densidades de los adultos poco tiempo después. Por esta razón, la abundancia de *An. pseudopunctipennis* es estacional, generalmente más elevada durante la época lluviosa si los ríos no desbordan sus aguas y/o también después de esta época, cuando los criaderos tienen estabilidad, antes de la época fría y seca, desfavorable tanto para el mosquito (criaderos secos, baja sobrevivencia, baja vida infectante, etc.) como para el parásito que no puede completar rápidamente su ciclo extrínseco. La estacionalidad de los parámetros entomológicos, hace que la transmisión de la malaria en Caiza sea también estacional. Durante el periodo de estudio, la CV fue elevada durante los meses de diciembre 2005 a febrero 2006, y en abril-mayo 2005, dando picos de aparición de los casos de malaria un mes después.

An. pseudopunctipennis comenzó su actividad de picadura a tempranas horas de la noche (18:00 hrs y 19:00 hrs) y fue muy activo hasta la media noche. El resto de la noche, el mosquito sigue siendo activo, pero con menor intensidad. Este ritmo horario también ha sido observado en condiciones experimentales (Rodríguez - Pérez, *et al.* 1991) y en situaciones naturales en Ecuador (Elliot 1972) y México (Fernández Salas, *et al.* 1994). El comportamiento horario de picadura de *An. pseudopunctipennis* presentó un ciclo estacional, teniendo una actividad muy corta durante la época fría. Durante el periodo de estudio, *An. pseudopunctipennis* fue más exofágico que endofágico. Así, el momento y lugar donde las personas estuvieron más expuestas ha sido fuera de sus viviendas, al principio de la noche. Este comportamiento no se toma en cuenta en las acciones de control de vectores en Bolivia, las cuales están enfocadas en rociados intra-domiciliarios con insecticidas de acción remanente. Con estas acciones se puede limitar solamente una parte de la transmisión. Además, debido a que *An. pseudopunctipennis* tiene sus criaderos larvarios en las orillas de los ríos y son muy accesibles, una medida de control adicional sería la lucha anti-larvaria, en épocas definidas. El mejor momento del año podría ser antes

de la época lluviosa, o después de esta, cuando los criaderos empiezan a tener una estabilidad ecológica, e impedir así, un crecimiento rápido y elevado de las poblaciones adultas del mosquito.

An. benarrochi. En este estudio, es la primera vez que se encuentra a esta especie como portador de *P. vivax* en Bolivia. Esta especie es considerada como un vector primario en el oeste de Loreto (Perú) y en las tierras bajas de la Amazonía peruana (Calderón, *et al.* 1974, Aramburu, *et al.* 1999). Estudios recientes sugieren que *An. benarrochi* puede ser la especie dominante en muchas zonas endémicas de malaria en ausencia de *An. darlingi* (Schoeler, *et al.* 2003). Sin embargo, en Brasil diferentes estudios han mostrado que esta especie desarrolla oocistos, pero no esporozoitos en sus glándulas salivales, cuando fueron experimentalmente infectados con *P. vivax* (Klein, *et al.* 1991). En Caiza, aunque los resultados muestran la infección natural con esporozoitos de *P. vivax*, esto no demuestra concluyentemente que *An. benarrochi* es un vector importante de *Plasmodium*. Varias hipótesis pueden ser planteadas, sin embargo, su abundancia reducida no permite una transmisión activa muy sostenida, o una competencia vectorial baja impide una transmisión efectiva del parásito al ser humano. En Caiza, *An. benarrochi* podría ser considerado como un vector accidental, participando posiblemente en la transmisión de la enfermedad durante la época caliente cuando se encuentra en gran cantidad.

An. triannulatus. En los estados de Amapá, Pará y Rondonia en Brasil se ha registrado su infección con parásitos de *P. vivax* (Deane, *et al.* 1988, Lourenço-de-Oliveira, *et al.* 1989, Pova, *et al.* 2001, Ribeiro-Galardo, *et al.* 2007) y en el Estado de Amazonas, con *P. falciparum* y *P. malariae* (Tadei & Thatcher 2000). Sin embargo, estudios experimentales han indicado que esta especie es menos susceptible a la infección con esporozoitos en comparación con *An. darlingi* u otros vectores potenciales (Klein, *et al.* 1991). Otros estudios en Brasil, confirman que esta especie puede contribuir a la transmisión a nivel local cuando se encuentra en altas densidades (Ribeiro-Galardo, *et al.* 2007). Generalmente, se considera a *An. triannulatus* como un vector más zoofílico que antropofílico, disminuyendo así su papel vector en la transmisión de la malaria a humanos (Rubio Palis 1994). Sin embargo, esta especie es reconocida como vector principal o secundario en otras regiones. Por ejemplo, se considera como vector principal en el

departamento Oriental de Loreto (Perú) (Aramburu, *et al.* 1999), y como vector secundario en Venezuela, Brasil y Colombia (Silva-do-Nascimento, *et al.* 2006, Silva-do-Nascimento & Lourenço-de-Oliveira 2007, Moreno, *et al.* 2007, Gutiérrez, *et al.* 2008). En Bolivia, todavía no se conoce su papel vector, pero se sugiere que podría actuar como un vector secundario (Mollinedo & Mollinedo 2000, Hiwat & Bretas 2011). En Caiza, los datos obtenidos no permitieron asignar a esta especie un papel vector.

An. argyritarsis. No es considerado como vector de la malaria en las Américas (Rubio Palis 1993). En Caiza tampoco fue identificado como potencial vector, debido a su CV reducida, su baja abundancia y la ausencia de *Plasmodium* en sus glándulas salivares, al igual que en otros lugares de Bolivia, como en Mataral en el departamento de Cochabamba (Lardeux, *et al.* 2013). Los datos obtenidos en Caiza demuestran una similaridad en aspectos de su comportamiento con *An. pseudopunctipennis*, pues ambas especies comparten parcialmente los mismos sitios de cría de las larvas. Sin embargo, *An. argyritarsis* puede desarrollarse en pequeños cuerpos de agua (charcos, pequeñas lagunas, recipientes artificiales, etc.), permitiendo a este mosquito tener abundancias mayores que *An. pseudopunctipennis* cuando los sitios larvarios de esta especie están destruidos por la crecida de los ríos (Dantur Juri, *et al.* 2010). Por ello se considera la importancia de intensificar la vigilancia entomológica para esta especie (Dantur Juri, *et al.* 2010, Lardeux, *et al.* 2013).

El presente trabajo de tesis presenta la situación epidemiológica de la malaria en Caiza durante los años 2005 – 2006, si bien la información es desactualizada, la metodología empleada para entender la dinámica de transmisión de esta enfermedad puede ser utilizada también en la actualidad en otras comunidades consideradas como focos de transmisión de la malaria, como por ejemplo en Guayamerin en el departamento del Beni, donde cada año se registra la mayoría de los casos. En Caiza, según el PNM en los últimos años los casos de malaria han disminuido notablemente con respecto al periodo de estudio, lo cual parece indicar que las acciones de control están haciendo un efecto positivo frente a la enfermedad en esta comunidad, sin embargo es necesario complementar esta afirmación con otros factores no observados en el estudio, como por ejemplo: las actividades de las autoridades sanitarias frente a los casos de malaria (detección temprana, tratamiento, etc.).

7. CONCLUSIÓN

En la localidad de Caiza, cuatro especies de *Anopheles* fueron identificadas como posibles vectores de la enfermedad, por su presencia casi continua en la zona y sus abundancias elevadas: *An. pseudopunctipennis*, *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis*.

La dinámica de transmisión de la malaria en la localidad de Caiza, se debe a la presencia de *An. pseudopunctipennis*, identificado como el principal vector de la enfermedad. Sin embargo *An. benarrochi* también fue identificado como portador de *P. vivax*, participando posiblemente en la transmisión durante la época caliente cuando se encuentra en abundancia. Es la primera vez que se obtuvo este resultado para esta especie en Bolivia. En cambio las demás especies: *An. triannulatus* y *An. argyritarsis* no fueron encontrados con el parásito.

Durante el periodo de estudio los *Anopheles* fueron clasificados según su capacidad vectorial, donde *An. pseudopunctipennis* presentó una mayor capacidad vectorial con respecto a las demás especies, lo cual significa que es una especie peligrosa con el mayor potencial de transmisión del parásito en una población de mosquitos.

La correlación entre los casos de malaria y la capacidad vectorial de los *Anopheles*, muestran que *An. pseudopunctipennis* fue la única especie que presentó una correlación positiva entre su capacidad vectorial y los casos de malaria. Esta relación estrecha es una explicación de la participación única de este vector en la transmisión de la malaria. En cambio las demás especies no parecen participar en el aumento del número de casos de malaria en Caiza.

Durante el periodo de estudio la actividad de picadura de los *Anopheles* presentó variaciones. La actividad de picadura de *An. pseudopunctipennis* durante la época seca comenzó y terminó a tempranas horas de la noche, en cambio durante la época caliente su actividad de picadura comenzó y terminó horas más tarde. Mientras, las demás especies estudiadas: *An. benarrochi*, *An. triannulatus* y *An. argyritarsis*, siempre han presentado una actividad de picadura a tempranas horas de la noche.

8. RECOMENDACIONES

En Bolivia, es recomendable continuar identificando otros vectores potenciales, que podrían estar participando en la transmisión de la malaria en las diferentes comunidades consideradas como focos de transmisión de la enfermedad. Sin embargo en este estudio, para *An. pseudopunctipennis* el vector principal las medidas de control actuales deberían tomar en cuenta este comportamiento estudiado, cuando se realizan los rociados con insecticidas intra-domiciliarios; aun cuando el vector es más exofágico, es recomendable utilizar mosquiteros impregnados como medida de control adicional, pues buena parte de la transmisión continúa siendo durante la noche. Debido a que *An. pseudopunctipennis* tiene sus criaderos larvarios en las orillas de los ríos y son muy accesibles, una medida de control adicional sería la lucha anti-larvaria, en épocas definidas. El mejor momento del año podría ser antes de la época lluviosa, o después de esta, cuando los criaderos empiezan a tener una estabilidad, e impedir así, un crecimiento rápido y elevado de las poblaciones adultas del mosquito. Además se recomienda continuar con el monitoreo de *An. pseudopunctipennis* para determinar así su dinámica de transmisión en la actualidad en Caiza – Tarija y también en otras localidades consideradas como focos de transmisión de la enfermedad.

Para *An. benarrochi*, es recomendable continuar estudiando la biología y ecología de la especie, además de realizar un seguimiento de la resistencia/susceptibilidad a los insecticidas, que es la única medida de control usada por el Programa Nacional de Malaria.

El estudio realizado en Caiza es preliminar. Para entender mejor la dinámica de transmisión de la malaria en la zona, es necesario obtener datos sociológicos, como por ejemplo, los conocimientos, actitudes y prácticas de la gente frente a la enfermedad, y datos sobre el sistema de salud local, para poder dirigir mejor las acciones de control. Estos estudios globales permitirían también definir mejor el estado de vulnerabilidad de las poblaciones para así recomendar medidas íntegras para el control de la enfermedad. Para controlar la transmisión de la malaria que podría ocurrir antes del periodo de sueño, es recomendable informar a la gente acerca de la enfermedad, y proponer el uso de ropa adecuada al principio de la noche (poleras de manga larga y pantalones).

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aramburu, J., C. Ramal & R. Witzig. 1999. Malaria reemergence in the Peruvian Amazon Region. *Emerging Infectious Diseases* 5: 209-215.
- Calderón, G., J. Curaca, M. Llancari & F. Sipan. 1974. Distribución geográfica de los vectores de malaria en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Tropical* 2: 88-91.
- Campos, R.E. & A. Maciá. 1996. Observaciones biológicas de una población natural de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Entomología*. 55: 67-72.
- Carpenter, S. & W. LaCasse. 1955. Mosquitoes of North America (North of Mexico). University of California Press, 360 p.
- Chadee, D. D. 1990. Seasonal abundance and diel landing periodicity of *Sabethes chloropterus* (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies. *Journal of Medical Entomology* 27(6): 1041-1044.
- Dantur Juri, M. J., G. Claps, M. Santana & W. Almirón. 2010. Abundance patterns of *Anopheles pseudopunctipennis* and *Anopheles argyritarsis* in northwestern Argentina. *Acta Tropica* 115: 234-241.
- Davidson, G. 1954. Estimation of the survival-rate of anopheline mosquitoes in nature. *Nature* 174: 792-793.
- Deane, M., D. Ribeiro, R. Lourenco De Oliveira, J. Oliveira-Ferreira & A. Guimaraes. 1988. Study on the natural history of malaria in areas of the Rondonia State - Brasil and problems related to its control. *Revista do instituto de medicina Tropical de São Paulo* 30: 153-156.
- Detinova, T. S. 1962. Age-grouping methods in Diptera of medical importance, with special reference to some vectors of malaria. Monograph series n° 4. World Health Organization, Geneva. 216 p.
- Edman, J. D. 1971. Host-feeding patterns of Florida mosquitoes *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Mansonia*, and *Psorophora*. *Journal of Medical Entomology*. 8: 687 - 695.
- Elliot, R. 1968. Studies on man vector contact in some malarious areas in Colombia. *Bulletin of the World Health Organization* 38: 239-253.
- Elliot, R. 1972. The influence of vector behavior on malaria transmission. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 21: 755-763.
- Fernández Salas, I., D. R. Roberts, M. H. Rodríguez & C. F. Marina-Fernández. 1994. Bionomics of larval populations of *Anopheles pseudopunctipennis* in the Tapachula foothills area, Southern México. *Journal of Medical Entomology* 31: 477- 486.
- Fleming, G. 1986. Biology and ecology of malaria vectors in the Americas. Pan American Health Organization, Washington, DC. 51 p.

- Flores, C., R. Fernández, K. Escobedo Vargas, Q. Vela Pérez & G. Schoeler. 2004. Natural *Plasmodium* infections in *Anopheles darlingi* and *Anopheles benarrochi* (Diptera: Culicidae) from Eastern Perú. *Journal Medical Entomology* 41: 489-494.
- Garrett-Jones, C. 1964. Prognosis for the interruption of malaria transmission through assessment of the mosquito's vectorial capacity. *Nature* 204: 1173-1175.
- Garret-Jones, C. & D. G. Shidrawi. 1970. Malaria vectorial capacity of a population of *Anopheles gambiae*, an exercise in epidemiological entomology. *Bulletin of the World Health Organization* 40: 531-545.
- Gironda, W. 2002. Dinámica poblacional de *Anopheles* (Díptera: Culicidae) durante seis meses en Guayaramerin (Beni, Bolivia). Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. 120 p.
- González-Cerón, L., M. H. Rodríguez, J. A. Nettel, C. Villarreal, C. C. Kain & J. E. Hernández. 1999. Differential susceptibilities of *Anopheles albimanus* and *Anopheles pseudopunctipennis* to infections with co-indigenous *Plasmodium vivax* variants VK210 and VK247 in Southern Mexico. *Infection and Immunity* 67: 410 - 412.
- Gorham, J. R., C. J. Stojanovich & H. G. Scott. 1973. Illustrated key to the anopheline mosquitoes of Western South América. *Mosquito Systematics* 5: 97-156.
- Gutiérrez, L. A., N. Naranjo & L. M. Jaramillo. 2008. Natural infectivity of *Anopheles* species from the Pacific and Atlantic regions of Colombia. *Acta Tropica* 107: 99-105.
- Hayes, J., G. Calderon, R. Falcon & V. Zambrano. 1987. Newly incriminated anopheline vectors of human malaria parasites in Junin department, Perú. *Journal of American Mosquito Control Association* 3: 418-422.
- Hill, R. B. 1934. Feeding habits of some Venezuelan *Anopheles*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 14: 425-429.
- Hiwat, H. & G. Bretas. 2011. Ecology of *Anopheles darlingi* root with respect to vector importance: a review. *Parasites and Vectors* 4: 177-189.
- Katholi, C. R., L. Toe, L. Merriweather & A. Unnasch. 1995. Determining the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in vector populations by polymerase chain reaction screening of pools of black flies. *Journal of Infectious Diseases* 172: 1414-1417.
- Klein, T. A., J. B. P. Lima, M. S. Tada & R. Miller. 1991. Comparative susceptibility of anopheline mosquitoes in Rondonia, Brazil to infection by *Plasmodium vivax*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 45: 463-470.
- Lactin, D., N. Holliday, D. Johnson & R. Craigen. 1995. Improved rate model of temperature-dependent development by arthropods. *Environmental Entomology* 24: 68-75.
- Lardeux, F., R. Tejerina, C. Aliaga, R. Bedoya, C. Lowenberger & T. Chávez. 2008a. Optimization of a semi-nested multiplex PCR to identify *Plasmodium* parasites in wild-caught *Anopheles* in Bolivia, and its application to field epidemiological

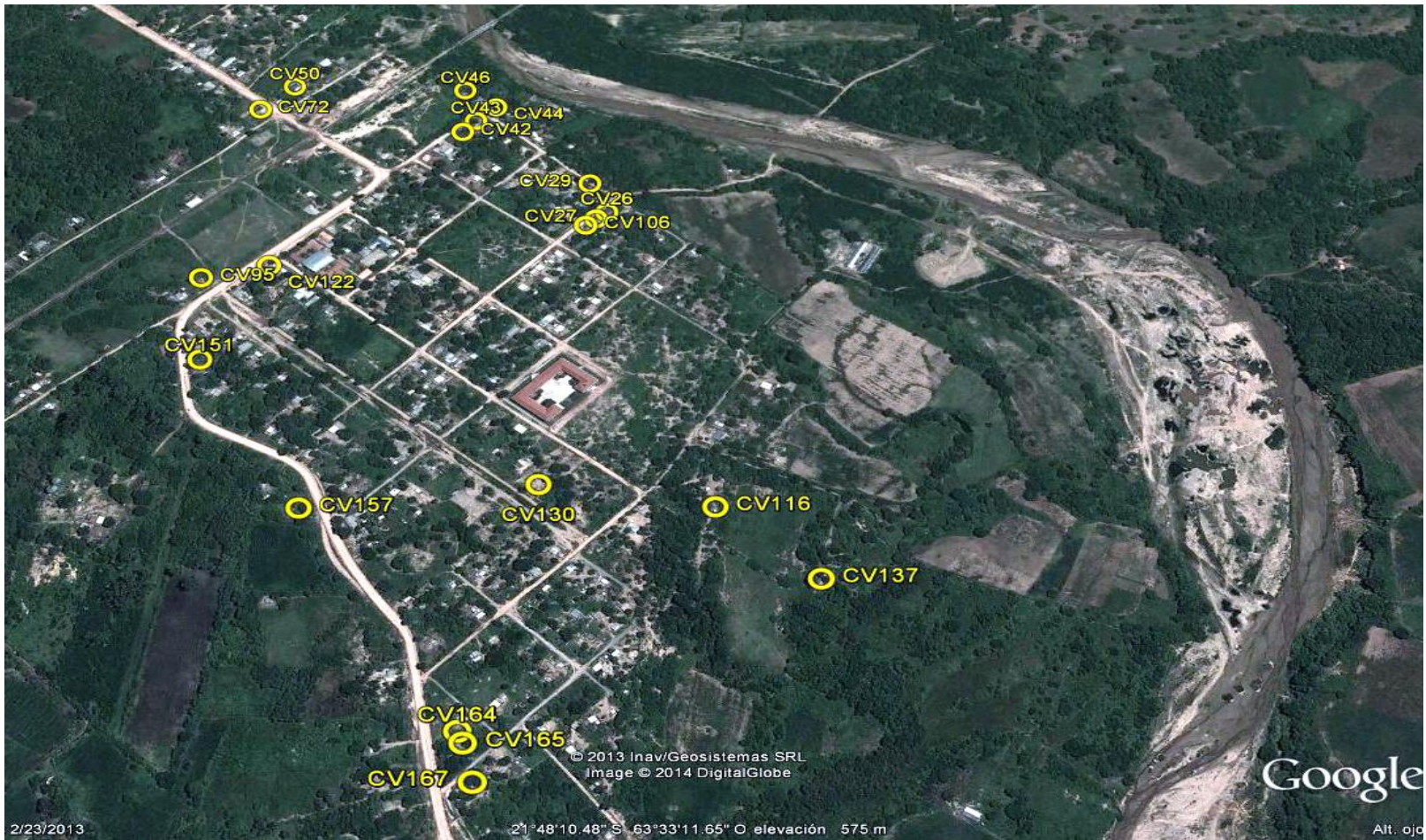
- studies. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 102: 485-492.
- Lardeux, F., R. Tejerina, V. Quispe & T. Chávez. 2008b. A physiological time analysis of the duration of the gonotrophic cycle of *Anopheles pseudopunctipennis* and its implications for malaria transmission in Bolivia. Malaria Journal 7: 14.
- Lardeux, F., T. Chávez, R. Rodríguez & L. Tórrez. 2009. *Anopheles* de Bolivia: new records with an updated and annotated checklist. Comptes Rendus Biologies 332: 489-499.
- Lardeux, F., R. Tejerina, C. Aliaga & L. Tórrez. 2013. Comparison of transmission parameters between *Anopheles argyritarsis* and *Anopheles pseudopunctipennis* in two ecologically different localities of Bolivia. Malaria Journal 12: 14.
- Lien, J. C. 1985. La situación actual de los vectores de malaria en Bolivia. Ministerio de Salud y Deportes de Bolivia, La Paz. 2 p.
- Lourenço-de-Oliveira, R., A. E. Guimaraes, M. Arle, T. F. Silva, M. G. Castro & M. A. Motta. 1989. Anopheline species some of their habits and relation to malaria in endemic areas of Rondonia State, Amazon region of Brasil. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz 84: 501-514.
- MacDonald, G. 1952. The analysis of equilibrium in malaria. Tropical Disease Bulletin 49: 813-829.
- MacDonald, G. 1957. The epidemiology and control of malaria. Oxford University Press, London. 201 p.
- Mollinedo, S. & R. Mollinedo. 2000. La malaria en Bolivia. Ministerio de Salud y Prevision Social, La Paz. 63 p.
- Montes de Oca, I. 2005. Enciclopedia geografica de Bolivia. Antenea, La Paz. 871 p.
- Moore, S. J., A. Lenglet & N. Hill. 2002. Field evaluation of three plant-based insect repellents against malaria vectors in the Vaca Diez Province, the Bolivian Amazon. Journal of the American Mosquito Control Association 18: 107-110.
- Moreno, J. E., Y. Rubio-Palis, E. Páez, E. Pérez & V. Sánchez. 2007. Abundance, biting behaviour and parous rate of anopheline mosquito species in relation to malaria incidence in gold-mining areas of Southern Venezuela. Medical and Veterinary Entomology 21: 339-349.
- Najera, JA. & M. Zaim. 2004. Lucha antivectorial para el control del paludismo. Criterios para guiar la toma de decisiones y procedimientos para el uso sensato de insecticidas. WHO, document WHO/CDS/WHOPES/2002.5. Geneva. 134 p.
- O.M.S. 1975. Manual on practical entomology in malaria. Part 1. Vector bionomic and organization of antimalaria activities. World Health Organization, Geneva. 160 p.
- O.M.S. 2004. Informe mundial 2012 sobre el paludismo. Resumen. Organizacion Mundial de la Salud, Geneva. 134 p.
- O.M.S. 2012. Informe mundial 2012 sobre el paludismo. Resumen. Organizacion Mundial de la Salud, Geneva. 20 p.

- Ordoñez-Gonzales, J. & A. Aviña. 1999. Estudio entomológico en Guayaramerin y Riberalta, Provincia Vaca Diez, Beni. La Paz. 80 p.
- Pampana, E. 1966. Erradicación de la malaria. Limusa - Wiley, S. A., Mexico. 604 p.
- Peyton, E., R. Donald, P. Francisco, R. Vargas & F. Balderrama. 1983. Mosquito collections from a remote unstudied area of Southeastern Bolivia. *Mosquito Systematics* 15: 61.
- Povoa, M., R. Wirtz, R. Lacerda, M. Miles & D. Warhurst. 2001. Malaria vectors in the municipality of Serra do Navio, State of Amapá, Amazon Region, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96: 179 - 184.
- Prosen, A., R. Carcavallo & A. Martínez. 1962. Culicidae de Bolivia (Diptera). *Instituto de Medicina Regional* 6: 59-124.
- Rayah, E. A. E & N. A. A. Groun. 1983. Effect of temperature on hatching eggs and embryonic survival in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Entomology Application* 33: 349-351.
- Ribeiro-Galardo, A., M. Arruda, A. D'Almeida, R. Wirtz, L. Lounibos & R. Zimmerman. 2007. Malaria vector incrimination in three rural riverine villages in the Brazilian Amazon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 76: 461-469.
- Rodriguez - Pérez, M. A., A. Gonzáles - Hernández & F. Reyes - Villanueva. 1991. Observations on the flight and mating behavior of *Anopheles pseudopunctipennis* under insectary conditions. *Journal of the American Mosquito Control Association* 7: 316-318.
- Ross, R. 1911. *The prevention of malaria*. Murray, London. 120 p.
- Rubio Palis, Y. 1993. Is *Anopheles argyritarsis* a vector of malaria in the Neotropical Region? *American Mosquito Control Association* 9: 470 - 471.
- Rubio Palis, Y. 1994. Variation of the vectorial capacity of some anophelines in Western Venezuela. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50: 420-424.
- Schoeler, G. B., C. Flores-Mendoza, R. Fernández, J. R. Davila & M. Zyzak. 2003. Geographical distribution of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae) in the Amazon Basin region of Perú. *Journal of the American Mosquito Control Association* 19: 286-296.
- Shannon, R. C. & N. C. Davis. 1927. Condiciones de reproducción de *Anopheles pseudopunctipennis* en la provincia de Tucumán durante la estación seca. *Revista del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene* 4: 662-676.
- Silva-do-Nascimento, T. F., R. C. Wilkerson, R. Lourenço-de-Oliveira & F. A. Monteiro. 2006. Molecular confirmation of the specific status of *Anopheles halophylus* (Diptera: Culicidae) and evidence of a new cryptic species within *An. triannulatus* in Central Brazil. *Journal of Medical Entomology* 43: 455-459.
- Silva-do-Nascimento, T. F. & R. Lourenço-de-Oliveira. 2007. Diverse population dynamics of three *Anopheles* species belonging to the *Triannulatus* Complex (Diptera: Culicidae). *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 102: 975-982.

- Souza Santos, R. 2002. Distribuição sazonal de vetores da malária em Machadinho d'Oeste, Rondônia, Região Amazônica, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* 18: 1813-1818.
- Statsoft: STATISTICA (Software análisis de datos). Ver. 8.0; 2008. www.statsoft.fr.
- Tadei, W. P. & B. D. Thatcher. 2000. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: *Anopheles* of the subgenus *Nyssorhynchus*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical do São Paulo* 42: 87-94.
- Zapata-Peniche, A.P., C. Manrique-Saide, E.A. Rebollar-Téllez, A. Che-Mendoza, F. Manzanilla. 2007. Identificación de larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae) de Mérida, Yucatán, México y sus principales criaderos. *Revista Biomed*; 18:3-17.
-

ANEXOS

ANEXO 1. UBICACIÓN DE LAS CASAS MUESTREADAS



ANEXO 2. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LAS CASAS MUESTREADAS EN CAIZA

Número de casa	Latitud	Longitud	Altura m.s.n.m
CV2	21.788433 S	63.555633 O	594
CV3	21.789158 S	63.555633 O	594
CV24	21.800000 S	63.554058 O	574
CV26	21.799889 S	63.554267 O	575
CV29	21.799414 S	63.554461 O	575
CV42	21.798608 S	63.556053 O	578
CV43	21.798450 S	63.555892 O	578
CV44	21.798175 S	63.555683 O	578
CV46	21.797867 S	63.556111 O	576
CV50	21.797864 S	63.558214 O	578
CV66	21.795389 S	63.562442 O	586
CV67	21.795497 S	63.562281 O	586
CV72	21.798286 S	63.558567 O	578
CV95	21.784356 S	63.558742 O	575
CV106	21.783436 S	63.554492 O	576
CV116	21.787414 S	63.552925 O	574
CV122	21.784175 S	63.558014 O	576
CV130	21.787217 S	63.554733 O	574
CV137	21.788289 S	63.551833 O	570
CV151	21.785519 S	63.558556 O	574
CV157	21.787489 S	63.557233 O	573
CV164	21.790072 S	63.555308 O	569
CV165	21.790189 S	63.555247 O	569
CV167	21.790603 S	63.555139 O	570
CV183	21.793089 S	63.551728 O	562

ANEXO 3. CASAS VISITADAS CADA NOCHE PARA CADA MES DE CAPTURA

Mes de captura	Noche 1 CV	Noche 2 CV	Noche 3 CV	Noche 4 CV	Noche 5 CV
Abril 2005	43-50-66-116-122-137-157-183	29-43-50-66-122-137-183	66-72-95-106-116-137-167-183	24-43-95-130-137-164-183	
Mayo 2005	24-43-66-72-95-137-264	43-66-95-137	24-72-165-183	43-66-95-137	24-72-165-183
Junio 2005	43-67-95-137	24-72-137-165-183	43-67-95-137	24-72-165-183	
Agosto 2005	43-67-137	24-72-165-183	43-67-95-137	24-72-165-183	
Septiembre 2005	43-67-137	72-183	43-67-95	24-72-165-183	
Octubre 2005	46-67-95-137	183	46-67-95-137	72-165-183	
Noviembre 2005	44-67-95-137	26-72-165-183	44-67-95-137	26-72-165-183	
Diciembre 2005	46-67-95-137	26-72-165-183	46-67-95-137	26-72-165-183	
Enero 2006	26-95-137	44-72-183	26-67-95-137	44-72-165-183	
Febrero 2006	26-46-67-137	72-95-165-183	26-46-67-137	72-95-165-183	
Marzo 2006	26-72-165-183	46-67-95-137-165	26-72-165-183	46-67-95-137	
Abril 2006	46-67-95-183	26-72-137-165	46-67-95-183	26-72-137-165	
Mayo 2006	46-67-95-183	26-72-137-165	46-67-95-183	26-72-137-165	
Junio 2006	46-67-95-183	26-72-151	46-67-95-183		

Variación mensual del número de casas visitadas (CV) durante el periodo abril 2005 – junio 2006.

ANEXO 4 VARIABLES AMBIENTALES PROMEDIO DE 30 DIAS ANTES DE LOS DIAS DE CAPTURA

Meses de captura	Precipitación (mm)	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)
Abril 2005	6.21	22.14	82.56
Mayo 2005	0.31	17.97	85.73
Junio 2005	0.46	16.89	88.34
Agosto 2005	0.00	14.80	76.02
Septiembre 2005	0.00	17.17	66.12
Octubre 2005	1.16	17.74	62.22
Noviembre 2005	0.96	22.37	65.37
Diciembre 2005	8.89	24.83	70.93
Enero 2006	6.4	20.17	75.67
Febrero 2006	6.8	24.93	80.67
Marzo 2006	12.6	21.22	76.12
Abril 2006	7.3	21.60	87.47
Mayo 2006	0.0	18.19	80.42
Junio 2006	0.3	18.14	84.10

Datos obtenidos del SENAMHI.

ANEXO 5. PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE DNA GENÓMICO EN POLES DE MOSQUITOS (Lardeux, et al. 2008a)

1. Descontaminar el área de trabajo con luz ultravioleta de 10 a 15 minutos (campana de extracciones que contenga guantes de látex, micropipetas, tubos eppendorf, gradillas, etc.).
2. Homogenizar un pool de mosquitos (cabeza y tórax) en solución fisiológica (NaCl 0.9 %) con la ayuda de un sonificador. (Ver tabla adjunta).
3. Añadir CHELEX 100 al 5 % o al 10 % (P/V) según la cantidad de mosquitos que se utilice (Ver tabla adjunta) y mezclar por vortex.

CHELEX 100 (%)	Número de mosquitos utilizados	Solución fisiológica cantidad en μ l	Chelex 100 cantidad en μ l
5 %	2	50	240
	10	50	240
	20	100	480
	30	150	750
10 %	40	200	800
	50	250	800
	60	300	900
	70	350	900
	80	400	1000
	90	450	1000
	100	500	1000

4. Incubar a 100 °C durante diez minutos.
5. Centrifugar a 13000 rpm durante cinco minutos.
6. Recuperar el sobrenadante en un tubo eppendorf de 1.5 ml.
7. Añadir al sobrenadante un volumen igual de Fenol–Cloroformo (V/V) y mezclar suavemente por inversión.
8. Centrifugar a 10000 rpm durante cinco minutos.
9. Recuperar el sobrenadante en otro tubo eppendorf de 1.5 ml (con cuidado de no tomar la fase del solvente orgánico).

10. Repetir varias veces (según el número de mosquitos utilizados) los pasos seis y siete.
 11. Recuperar el sobrenadante y añadir V/V de Etanol al 70 %.
 12. Centrifugar a 14000 rpm durante 20 minutos.
 13. Eliminar el sobrenadante.
 14. Secar el DNA a 37°C (en estufa) o a temperatura ambiente cubriendo los tubos destapados con un papel toalla.
 15. Una vez seco el pellet, resuspender el DNA en 100 µl de agua tri–destilada.
-