

DIRECCIÓN DE MALARIOLOGÍA Y SANEAMIENTO AMBIENTAL, VENEZUELA  
 INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

## Estudios sobre formas preadultas y adultas de *Anopheles nuñeztovari* (Díptera: Culicidae) Gabaldon, 1940, en el área originalmente malárica del estado de Mérida, Venezuela

Dra. Janeth E. Rojas,<sup>1</sup> Dra Mayira Sojo Milano<sup>1</sup> y Dr. Israel García Ávila<sup>2</sup>

### RESUMEN

Se estudiaron formas preadultas y adultas de *Anopheles nuñeztovari*, se describieron algunas variables de cría de larvas a partir de la progenie de hembras capturadas y alimentadas con cebo humano. Se obtuvo una producción de adultos de 46,5 % y suficiente cantidad de larvas para realizar cualquier bioensayo para estudios de métodos antilarvarios. La evaluación entomológica del adulto reveló, que el *Anopheles nuñeztovari* tiene una predominancia de 65 % con respecto a otros anofelinos presentes en el área y posee una actividad hematofágica que dura toda la noche, con picos de mayor actividad en horas cercanas a la medianoche. El promedio de hábito de picadura se ubicó en 22,7 mosquitos hombre/hora, y el mayor promedio (40,4) entre las 10 y 11 p.m.; el valor de expectativa de vida al nacer de 12 d y de infectividad de 7 d, son niveles compatibles con la transmisión de *Plasmodium*. Se encontró también en su hábito hematofágico que 56,3 % de las hembras hacían reposo intradomiciliario antes de picar al humano y 32 % lo hacían con el abdomen lleno, lo que sugiere un cambio importante en el comportamiento de este vector en el área estudiada.

DeCS: ANOPHELES/crecimiento & desarrollo; VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA; MALARIA; LARVA; VENEZUELA.

*Anopheles (Nissorhynchus) nuñeztovari* Gabaldon, 1940 es el mosquito responsable de la transmisión de la malaria en la Región Occidental de Venezuela, el Norte de Colombia<sup>1,2</sup> y probablemente en Suriname.<sup>3</sup>

Desde 1955 cuando *García Martín* describió por primera vez el comportamiento evasivo de este vector hacia los insecticidas se han venido realizando investigaciones tendientes a precisar la importancia sanitaria del *Anopheles nuñeztovari*, con la finalidad de incorporar otros métodos de lucha que de forma integral logren un control más eficaz.

Las operaciones más efectivas para el control de la malaria generalmente involucran medidas dirigidas contra los vectores, que tienden a la

reducción de su número, de su longevidad o del contacto hombre-vector, mediante barreras físicas o químicas. Sin embargo, el desarrollo y la adecuada selección de los métodos a utilizar en una situación determinada dependerán del conocimiento preciso que se tenga de la epidemiología local de la enfermedad, y de la biología y etiología del vector. En Venezuela los primeros estudios realizados sobre *An. nuñeztovari*, tuvieron como objetivo confirmar biológicamente su condición de vector<sup>4-7</sup> y después se estudiaron sus hábitos alimentarios y sitios de reposo,<sup>8,9</sup> su biología en general,<sup>3</sup> algunos aspectos de la ecología larval en criaderos naturales<sup>10-13</sup> y también su dinámica poblacional<sup>14</sup> y su capacidad vectorial.<sup>15</sup>

<sup>1</sup> Especialista en Cirugía. Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. Venezuela.

<sup>2</sup> Doctor en Ciencias. Profesor e Investigador Titular. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

Aunque existe cierta información sobre la bionimia de los estados larvarios de esta especie, hay muy poco conocimiento concerniente a su cría y mantenimiento en laboratorio. Además de los trabajos mencionados anteriormente, en Venezuela solo se conocen los de *Ávila, Segnini y Rossell* (1993),<sup>16</sup> quienes propusieron un método para la obtención de adultos; por lo que el presente trabajo tiene como objetivo evaluar algunos factores relativos con la cría de larvas de *An. nuñeztovari* en el laboratorio, con la finalidad de obtener un mayor conocimiento sobre su fase preadulta, y optimizar la producción sincronizada (en cantidad y calidad) de larvas de segundo, tercero y temprano 4to. *instar*, necesarias para la evaluación de los compuestos biológicos: *Bacillus thuringiensis* H-14 y *Bacillus sphaericus* cepa 2362.

La relevancia práctica del estudio de estos compuestos radica en su valor potencial como métodos alternativos al uso de insecticidas químicos, que han mostrado limitada efectividad en el control de este vector. También se presenta una evaluación de los hábitos hematofágicos, la proporción de hembras adultas epidemiológicamente peligrosas en el área clasificada como originalmente malárica del estado Mérida, la cual fue una de las que ocasionó mayor costo y esfuerzo erradicar dentro del programa antimalárico llevado a cabo en Venezuela desde 1945, debido sobre todo al comportamiento de este vector, también se evalúan las fluctuaciones de su densidad y el hábito de picadura, con el propósito de describir su comportamiento y caracteres de importancia epidemiológica que condicionarán la selección de métodos de lucha más efectivos y adecuados.

En este sentido el presente estudio tiene carácter preliminar y sus resultados contribuyen al conocimiento de la conducta y biología de este anofelino en la zona estudiada. Al mismo tiempo, se aporta un contexto de referencia sobre condiciones de laboratorio y campo cuyo manejo resulta de potencial utilidad al momento de valorar la aplicación de medios alternativos de control, en este vector.

## MÉTODOS

Los experimentos para cría y mantenimiento de larvas de *An. nuñeztovari* fueron realizados

en el laboratorio de entomología del Servicio de Endemias Rurales de la Región XVIII del estado Mérida. Para la determinación de hembras epidemiológicamente peligrosas y los hábitos de este vector, se escogió el área clasificada como "originalmente malárica" del estado Mérida, localizada en la zona noroeste de esta entidad federal, ubicada entre los 80 y 600 m sobre el nivel del mar (m.s.n.m), formada por bosques muy húmedos con 70-100 % de humedad relativa (HR), temperaturas que oscilan anualmente entre 22 y 32 °C y precipitación pluvial entre 1 800 y 2 000 mm.

### CRÍA DE LARVAS DE *ANOPHELES NUÑEZTOVARI* EN EL LABORATORIO

Esta se realizó a partir de la progenie de hembras capturadas con cebo humano, por considerar este método como el más eficiente para el estudio de poblaciones anofelinas en el occidente de Venezuela,<sup>17,18</sup> además, por encontrarse el área bajo estudio en fase de mantenimiento, con más de 5 años sin transmisión<sup>19</sup> y siguiendo los métodos recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para captura de mosquitos.<sup>20</sup> Este se realizó en la localidad de Onia, situada en las vecindades de la represa del río Onia, a 7 km al sur de El Vigía (estado Mérida) (LN8° 37' y LO71°39') y a 84 m de altitud. Las capturas se realizaron semanalmente, un total de 25 capturas de *An. nuñeztovari*.

Los mosquitos ingurgitados capturados del cebo humano, fueron confinados en grupos de 20 en vasos de cartón parafinado con tapas de tul sostenidas con una banda de goma. Los vasos fueron colocados en cajas de material termiaislante de 17 × 20 × 25 cm, cuyo fondo contenía papel absorbente humedecido con agua. Estos fueron llevados al laboratorio en un tiempo no mayor de 12 h. Después de la captura, fueron identificados según claves gráficas para clasificación de anofelinos<sup>21</sup> y separados individualmente en vasos de cartón parafinados, con un algodón humedecido con solución de azúcar 10 % para su alimentación. En el fondo del vaso se colocó un algodón húmedo y sobre este un disco de papel filtro como superficie para la postura. Los insectos fueron mantenidos a

28 °C + 2 °C, con 95 % de humedad relativa (HR) y ciclos de 12 h de iluminación, estos se revisaron cada mañana para precisar las posturas.

Los huevos de *An. nuñeztovari* obtenidos se identificaron para su mayor certeza con la clave de Cova García y Sutil (1977)<sup>21</sup> y fueron colocados en bandejas de plástico con una superficie de 50 cm y una capacidad de 120 cc. Para impedir la adhesión de los huevos a las paredes de la bandeja y su posterior deshidratación, se colocó una cinta de papel absorbente de 2 cm de ancho alrededor de la pared interna, a la altura de las interfases aire-agua,<sup>16</sup> las bandejas se revisaron cada 8 h para verificar la eclosión. Después de la eclosión, se formaron cohortes con 100 larvas del primer *instar* seleccionadas aleatoriamente y eclosionadas dentro del período de 6 h. Se colocaron en agua destilada en bandejas de 1 200 cc de capacidad y superficie de 123 cm. Las larvas se cultivaron a razón de 10 mL de agua por cada una, aclimatando previamente el agua a la temperatura ambiente del cuarto de cría y fueron alimentadas con polvo de alimento para peces (ictiosan) y levadura (Squibb) (50 % × 50 %).<sup>22</sup> El alimento se agregó a través de un tamiz, distribuyéndolo uniformemente sobre la superficie del agua de cada envase de cría a razón de 10 mg por dosis por día, aumentando esta en 10 mg más según el estadio larval. Se iba disminuyendo la cantidad del alimento de acuerdo con el número de larvas que permanecían vivas, en el último estadio y al comenzar la pupación.<sup>16</sup> El agua que se evaporaba de las bandejas de cría se repuso diariamente y se redujo la mortalidad cambiándoles el agua del cultivo cada 48 h.

El desarrollo de las larvas se observó cada 4 h hasta la pupación, registrándose el número de larvas de cada *instar* y el número de larvas muertas. Las pupas fueron colocadas en envases plásticos de 20 cm de superficie y 210 cc de capacidad, a razón de 20 pupas por envase, que se colocaron dentro de unas jaulas de metal con malla de aluminio de 30x30x15 cm, hasta la emergencia de adultos.

#### EVALUACIÓN ENTOMOLÓGICA DE *ANOPHELES NUÑEZTOVARI*

Se realizó primeramente un reconocimiento del área de estudio la cual se ubica en el área clasificada

como originalmente malárica del estado Mérida, descrita anteriormente. Se procedieron a definir las estaciones de captura, seleccionando las viviendas por los antecedentes epidemiológicos del área. Para la evaluación entomológica concerniente a la determinación de la densidad de este vector, las hembras epidemiológicamente peligrosas y los hábitos de picadura y reposo, se procedió de acuerdo con los métodos recomendados por la OMS.<sup>20</sup> Se realizaron capturas en toda el área, un total de 72 capturas por tipo: intradoméstica y extradoméstica, picando y reposando, durante toda la noche, en horarios de 6 p.m a 6 a.m, durante 3 d consecutivos por mes y por zona de captura escogida durante los meses de septiembre de 1995 hasta agosto de 1996.

Para el estudio del hábito prehematofágico se capturaron y cuantificaron los anofelinos que posaban vacíos en las paredes, intradomiciliar y extradomiciliar, y los que iban a picar a los cebos humanos. Para el estudio del hábito poshematofágico, se capturaron y cuantificaron los anofelinos que se alimentaron de los cebos humanos intradomiciliar y extradomiciliar, así como los que reposaban con el abdomen lleno en las paredes de las viviendas y en la vegetación arbustiva alrededor de estos, clasificándolos y separándolos por hora y por tipo de captura en envases individuales. Fueron enviados al laboratorio donde se clasificaron, disecando 30 % de la muestra total para diferenciar la condición de paridad con una expresión de la tasas de sobrevivencia según el criterio de Detinova, que examina la morfología del sistema traqueolar de los ovarios para separar las hembras nulíparas de las paridas por hora de captura,<sup>23</sup> y de esta forma ubicar los horarios predominantes de las hembras epidemiológicamente peligrosas.<sup>24</sup>

## RESULTADOS

### CRÍA DE LARVAS DE *ANOPHELES NUÑEZTOVARI* EN EL LABORATORIO

El tiempo de duración del ciclo vital a 28 °C ± 2 °C, desde el primer *instar* larval hasta la emergencia del adulto fue de 10,22 d. La proporción de adultos obtenidos en cada una de las cohortes estudiadas, osciló entre 40 y 54 %, con un valor promedio de 46,5 % (tabla 1).

**TABLA 1.** Proporción de adultos y tiempo de desarrollo en días de *Anopheles nuñeztovari*, Mérida, Venezuela 1995-1996

No. de cohortes	Adultos emergidos (%)	Duración del ciclo en días
1	54	10,21
2	52	10,22
3	44	10,15
4	48	10,40
5	45	10,30
6	51	10,11
7	40	10,22
8	43	10,33
9	42	10,10
10	46	10,18
Promedio	46,5	10,22

### EVALUACIÓN ENTOMOLÓGICA DE *ANOPHELES NUÑEZTOVARI*

Se encontró que el *Anopheles nuñeztovari* tiene una predominancia en toda el área originalmente malárica en 89 % con respecto a otros anofelinos (tabla 2) y que posee una actividad hematofágica que dura toda la noche.

**TABLA 2.** Especies de *Anopheles* capturadas, Mérida, Venezuela, septiembre 1995 a agosto 1996

Especies	No. de ejemplares	Contribución al total (%)
<i>Anopheles nuñeztovari</i>	1 398	89,6
<i>Anopheles neomaculipalpus</i>	123	7,9
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i>	30	1,9
<i>Anopheles oswaldoi</i>	10	0,6
Total	1 561	100 %

**TABLA 4.** Distribución de *Anopheles nuñeztovaria* según la paridad, especificando sobrevivencia diaria y expectativa de vida. Mérida, Venezuela, septiembre 1996-agosto 1997

Horas de captura	Ejemplares		Paridad %	P	Expectativa de vida (días)	
	No	H/h			al nacer	infectiva
6,00 - 7,00 p.m.	39	7,8	76,9	0,92	12,0	7,0
7,01 - 8,00 p.m.	13	27,2	72,5	0,90	9,5	4,3
8,01 - 9,00 p.m.	143	28,6	81,4	0,94	14,8	+10,0
9,01 - 10,00 p.m.	147	29,4	80,0	0,93	13,8	8,6
10,01 - 11,00 p.m.	202	40,4	91,6	0,95	+ 20,0	+ 10,0
11,01 - 12,00 p.m.	144	28,8	81,3	0,94	14,8	+ 10,0
12,01 - 1,00 a.m.	92	18,4	70,3	0,89	8,5	3,4
1,01 - 2,00 a.m.	100	20,0	73,3	0,90	9,8	4,3
2,01 - 3,00 a.m.	115	23,0	68,5	0,88	8,1	2,8
3,01 - 4,00 a.m.	111	22,2	68,7	0,89	8,1	2,8
4,01 - 5,00 a.m.	89	17,8	70,3	0,89	8,5	3,4
5,01 - 6,00 a.m.	80	16,0	70,8	0,89	8,5	3,4
Total	1 398					
Promedio		22,7	77,3	0,92	12,0	7,0

H/h = Mosquitos recolectados por una persona durante 1 h (hombre/hora).

P = Probabilidad de sobrevivencia diaria.

De acuerdo con los resultados de la evaluación entomológica se encontró que 56,3 % de los anofelinos (*Anopheles nuñeztovari*) capturados intradomiciliariamente, se encontraban reposando en las paredes internas de las viviendas antes de picar al cebo humano y se encontraban vacíos (fase I de Sella) (Fleming, 1986); 43,7 % restante se capturó con el abdomen vacío, picando al cebo humano sin posarse en las paredes de la vivienda. El estudio del hábito poshematofágico arrojó 68 % de anofelinos reposando en la vegetación alrededor de las viviendas, estos se encontraron con el abdomen lleno (fase II de Sella), no se encontraron imagos reposando en las paredes fuera de las viviendas; 32 % restante de los ejemplares capturados estaban reposando llenos en las paredes en el interior de las viviendas (tabla 3).

**TABLA 3.** Estudio del hábito hematofágico de *Anopheles nuñeztovari*, Mérida, Venezuela, 1995-1996

Ejemplares capturados	Intradomiciliar		Extradomiciliar	
	Reposando No.	Picando No.	Reposando No.	Picando No.
Prehematofágico	480	372	0	65
Poshematofágico	154	0	327	0
Total	634	372	327	65

En cuanto al hábito de picadura, se obtuvo entre 7,8 y 40,4 mosquitos hombre/hora. Los horarios de mayor actividad estuvieron comprendidos entre las 8 p.m. y las 12 p.m. La temperatura promedio en las estaciones de captura fue de 27,4 °C y la humedad entre 90 y 100 %.

El porcentaje de paridad se mantuvo durante todo el estudio por encima de 65 % en todos los horarios, el mayor porcentaje de paridad se ubicó en los horarios comprendidos entre las 8 y 12 p.m., concordando con los de mayor actividad hematofágica del vector (tabla 4). Los valores obtenidos de expectativa de vida al nacer y de vida infectiva tuvieron un promedio de 12 y 7 d, respectivamente.

## DISCUSIÓN

A pesar de que se obtuvo 25 % de producción de adultos, el objetivo de los autores de este trabajo, en cuanto a crear un método de cría de larvas de *An. nuñeztovari* a partir de imagos hembras silvestres, produjo un rendimiento de larvas en cantidades suficientes para la realización de cualquier tipo de ensayo biológico o químico, donde se requieran varias pruebas al respecto. En este estudio el desarrollo desde huevo hasta pupa requirió de 12 d en comparación con los obtenidos por *Scorza* y otros (1981),<sup>14</sup> quienes señalan un tiempo de duración total hasta adultos de 14, 5 d, mientras que *Ávila* y otros (1993)<sup>16</sup> determinaron una duración promedio de 9,2 d, a 28 °C. En otras especies de anofelinos de la región tropical se reporta una duración de 8 a 13 d para *An. albimanus* a temperaturas entre 21 y 27 °C; para *An. darlingi* un tiempo de duración de la fase larval de 12,5 d (*Delgado*, 1996), otros autores coinciden con el presente estudio en cuanto al período de duración de desarrollo en otras especies de *Anopheles*<sup>25-28</sup> (*Delgado*, 1996), por lo que al comparar estos resultados con los de los autores mencionados, sugiere que la clave para lograr un esquema exitoso de cría de larvas de *Anopheles* es consecuencia de la combinación adecuada de ciertos factores como la densidad larval, relación superficie-volumen de los recipientes de cría, tipo y tamaño del alimento y la limpieza rutinaria del medio de cría, entre otros.

Es importante señalar en relación con la alimentación de las larvas, que las partículas del alimento y la relación peso-volumen debe ser tal que estas permanezcan el tiempo necesario suspendidas en la superficie del agua para ser ingeridas por las larvas, por lo que se cernió el

alimento a través de un tamiz donde obtuvo un tamaño máximo de las partículas de 0,1 mm<sup>16</sup> y fue suministrado a una tasa que aseguró su consumo total. Se tuvo en cuenta que al agregarlo en exceso se desarrollaba una película grasa en la superficie del envase de cría que impedía la respiración de las larvas, además de contaminarse el agua de cría y generar la producción de hongos que afectan la supervivencia, y si es suministrado en defecto, se retrasa el desarrollo larval.

La valoración de las poblaciones adultas de la zona estudiada, señalan *al Anopheles nuñeztovari* como la especie predominante, y plantean, que es un mosquito cuyos hábitos hematofágicos duran toda la noche, presentando picos de mayor actividad entre las 8 p.m. a 12 p.m., este comportamiento coincide con lo observado por *Xavier* y otros (1999)<sup>29</sup> en Sao Luis, Brasil, en este vector, quien mostró preferencias por picar al humano en horas nocturnas; y por *Rubio P* (1992)<sup>30</sup> quien obtuvo picos de mayor actividad en horas cercanas a la medianoche, refiriendo además que los dípteros hematofagos son más activos en atardeceres y noches sin lluvia, por lo menos 2 d antes y sin luna o en menguante. *Pintos* y otros (1968)<sup>6</sup> observaron el mismo comportamiento hematofágico de este vector en el área de malaria refractaria de Venezuela.

Esta especie ha sido considerada eminentemente exofágica y exofílica.<sup>1,31</sup> Sin embargo, en este estudio, un porcentaje importante (56,3 %) de imagos hembras se encontró reposando en las paredes dentro de las viviendas durante el hábito prehematofágico, también se observó que 32 % de los anofelinos capturados durante el hábito poshematofágico se encontraba reposando con el abdomen lleno en las paredes dentro de las viviendas, sugiriendo esto un cambio importante de la conducta exhibida por este mosquito, lo cual favorecería el uso de métodos químicos tradicionales en el programa de lucha contra este vector, considerado de difícil control, por no ser reposador intramural. Sin embargo, *Xavier* y otros (1999)<sup>29</sup> observaron que durante los períodos de lluvia, los anofelinos en general se encuentran frecuentemente reposando intradomiciliariamente (75,3 %), que muestran preferencias para picar al humano en horas nocturnas, y concluyen que las diferentes especies de anofelinos han venido

adaptándose en las zonas rurales de Sao Luis Island de Brasil a las habitaciones de los humanos. Es importante mencionar también que el área estudiada presenta más de 4 años sin rociamientos, por encontrarse en fase de mantenimiento, lo que podría revelar que el cambio de conducta de este vector sea probablemente un comportamiento de exitorepencia en contraposición al exofilia que se le señala.<sup>32,33</sup>

En cuanto a las tasas de paridad tan altas obtenidas, sugiere que la expectativa de vida del vector se mantiene en niveles compatibles con la transmisión de *Plasmodium*, teniendo en cuenta además que los períodos de mayor riesgo epidemiológico son aquellos donde se localiza el mayor porcentaje de hembras paridas (tabla 4), catalogadas por la OMS como epidemiológicamente peligrosas por tener mayor probabilidad de efectuar picaduras infectantes, que en este estudio obtuvo un valor promedio de 7 d, que son los días posibles que puede infectar a un hombre al picarlo, siempre y cuando el mosquito se hubiese infectado con el parásito malárico durante su primera ingestión de sangre.<sup>23</sup> Estas proporciones obtenidas en los diferentes horarios de captura, definen los períodos de tiempo idóneos para la aplicación más efectiva de los adulticidas utilizados en los programas de control de esta enfermedad.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS),<sup>32,33</sup> señala que la distribución epidemiológica de la malaria en las Américas ha cambiado, porque la prevalencia de malaria causada por *Plasmodium falciparum* ha aumentado en la Subregión Andina, en la cual se incluye Venezuela.<sup>34</sup> Aun cuando en Venezuela la fórmula parasitaria se registra a favor de *Plasmodium vivax*, históricamente tanto los focos maláricos occidental como septentrional han mostrado que sus vectores son capaces de transmitir la infección por *P. falciparum*. Por otro lado, el foco malárico occidental venezolano, considerado clásicamente como malaria refractaria por las características de su principal anofelino vector, *An. nuñeztovari*, ha estado sujeto a cambios ecológicos relacionados con deforestación de extensas zonas, a las consecuencias de migraciones fronterizas y situaciones laborales transitorias para grupos humanos, cuya susceptibilidad a la infección malárica es variable. Este contexto, en su complejo

conjunto, describe una condición de vulnerabilidad importante, la cual, unida a la alta receptividad señalada por los resultados aquí expuestos, merecen la mayor atención para la efectiva aplicación de medidas de vigilancia y control de malaria en el estado Mérida y en el foco malárico occidental de Venezuela.

#### SUMMARY

Pre-adult and adult forms of *Anopheles nuñeztovari* were studied and some variables of larval breeding from females captured and fed on human bait were described. The production of adult anopheles was 46,5% together with sufficient number of larvae to carry out any bioassay for studies of antilarval methods. The entomological evaluation of adults revealed that *Anopheles nuñeztovari* predominance was 65% over other anopheles existing in the area, with a blood-sucking activity covering the whole night while peaks are reached near midnight. Average bite habit was set at 22,7 mosquitoes per man-hour and the highest average of bites (40,4%) occur at 10 to 11pm; the life expectancy at birth of 12 days and infestivity of 7 days are values compatible with *Plasmodium* transmission. The blood-sucking habit of this species also showed that 56,3% of females rest at home before biting whereas 32% of anopheles remained home with full stomach after biting, which indicates an important change in this vector's behaviour in the studied area.

**Subject headings:** ANOPHELES/growth & development; EPIDEMIOLOGIC SURVEILLANCE; MALARIA; LARVA; VENEZUELA.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gabaldón A. Problemas actuales del control y erradicación de la malaria en América Latina. Bol Dir Malariol y San Amb 1988;28(1-2):1-12.
2. Faran ME, Linthicum KJ. A handbook of the Amazonian species of *Anopheles* (Nyssorhynchus) (Diptera:Culicidae). Mosquito Syst 1981;13(1):1-81.
3. Panday RS. *Anopheles nuñeztovari* and malaria transmission in Suriname. Mosq News 1977;37(4):728-37.
4. Rey H, Renjifo-Salcedo S. *Anopheles* (N) *nuñeztovari* infectado en la naturaleza con *Plasmodium* sp.. Rev Acad Colombiana Cienc Exactas Fis Quim Nat 1950;7:534-5.
5. Pintos P, Sabril V. Infección natural de *Anopheles nuñeztovari* en un brote de malaria, en ausencia de insecticida. Bol Dir Mal San Amb 1965;4:169-71.
6. Pintos P, Sabril V, López V. Esporozoitos en *Anopheles nuñeztovari* en área de malaria refractaria. Bol Dir Mal San Amb 1968;8:375-81.
7. Scorza JV, Tallaferro E, Rubiano H. Comportamiento y susceptibilidad de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon, 1940 a la infección con *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax*. Bol Dir San Amb 1976;16(2):129-36.
8. Scorza JV, Pintos P. Una hipótesis microclimática sobre la exofilia de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon, 1940. Serv Pub Fotogra Dir Malar San Amb Maracay, 15p. 1972.
9. Pérez de Valderrama M, Scorza JV. Experimentos e indagaciones para explicar el comportamiento evasivo de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon 1940, de Venezuela. Bol Dir San Amb 1976;16(3):212-220.

10. Scorza JV, Añez N, Segnini S, Ramírez P. Ecología de las larvas de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon, 1940 en El Vigía Mérida. Venezuela. I. Fitoplankton de un pozo permanente y otro temporal donde se desarrollan larvas de *Anopheles nuñeztovari*. Bol Dir San Amb 1977;17(1):20-52.
11. Scorza JV, Añez N, Segnini S, Ramírez P. Ecología de las larvas de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon, 1940 en El Vigía Mérida. Venezuela. II. Sucesión y dominancia del fitoplankton en dos pozos poblados con larvas de *Anopheles nuñeztovari*. Bol Dir San Amb 1977b;17(2):118-30.
12. Scorza JV, Añez N, Segnini S, Ramírez P. Ecología de las larvas de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon, 1940 en El Vigía Mérida. Venezuela. III. Relación entre el fitoplankton de dos criaderos de *Anopheles nuñeztovari* y la ingesta de sus larvas. Bol Dir San Amb 1977c;17(3):234-40.
13. Scorza JV, Añez N, Segnini S, Ramírez P. Ecología de las larvas de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon, 1940 en El Vigía Mérida. Venezuela. IV. Variaciones de las densidades larvianas de dos criaderos naturales de *Anopheles nuñeztovari*. Bol Dir San Amb 1977d.
14. Scorza JV, Rodríguez E, Moreno G. Ecología poblacional de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon, 1940 en el Occidente de Venezuela. Bol Dir Malariol San Amb 26 p. 1981.
15. Rubio-Palis Y. Variation of the vectorial capacity of same anophelines in western. Venezuela. Am J Trop Med Hyg 1994;50(4):420-4.
16. Ávila J, Segnini S, Rosell O. Metodología para la cría de *Anopheles nuñeztovari* Gabaldon 1940, (Diptera: Culicidae) Bol Entomol Venez 1993;9(1):19-31.
17. Rubio-Palis Y, Curtis CF. Evaluation of different methods catching anopheline mosquitoes in western Venezuela. J Amer Mosq Contr Assoc 1992a;8:261-7.
18. Rubio-Palis Y. Evaluation of light traps combined with carbon dioxide and 1-octen-3-ol to collect anophelines in Venezuela. J Am Mosquito Control Ass 1996;12(1):91-6.
19. Rojas U, Janeth. Situación actual de la malaria en el Estado Mérida. Informe Técnico de la Dir. Malariol. San Amb p. 28. 1997.
20. World Health Organization. Entomological field techniques for malaria control. Part I, Geneva: WHO; 1992.
21. Cova García P, Sutil Y. Claves gráficas para la clasificación de anofelinos de Venezuela. Pub. Div. Endem. Rurales. Malariología. MSAS. Maracay, Venezuela 92p. 1977.
22. Moncada Pérez AM. Estudios de cromosomas politécnicos de cuatro poblaciones de *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) en Venezuela. Tesis de Maestría, Fac. Agronomía UCV. Maracay. p. 49. 1992.
23. Detinova TS. Age grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. Geneva: WHO; 1962. 216 p. Monograph Ser. No. 47.
24. Fleming Gleng. Biología y ecología de vectores de la malaria en las Américas. Washington: OPS-OMS; 1986, 54 p.
25. Armstrong JA, Bransby-Williams WR. The maintenance of the color of *Anopheles gambiae*, with observations on the effects of changes in temperature. Bul Wld.
26. Gahan J. *Anopheles nuñeztovari*: importante vector y agente de malaria refractaria en Venezuela. Bol Dir Malariol San Amb 1966;21(1):28-38.
27. Baerg DC. Colonización de *Anopheles pseudopunctipennis* in Panamá. J Med Entomol 1971;8(2):180-2.
28. Reisen W, Mahmood F. Horizontal life table characteristics of the malaria vectors. *Anopheles culifacies* and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 1980;17(3):211-7.
29. Xavier MM, Rebelo JM. The study of the seasonal fluctuation, nocturnal activity, relative abundance and the richness of *Anopheles* species in anthropic. Universidade Federal do Maranhao, Sao Luis, MA, Brasil. Rev Saude Publica 1999;33(6):535-41.
30. Rubio-Palis Y. Influence of moonlighting light trap catches of the malaria vector *Anopheles nuñeztovari* in Venezuela. J Amer Mosq Contr Assoc 1992;8:178-80.
31. Gabaldon A. *Anopheles nuñeztovari*: importante vector y agente de malaria refractaria en Venezuela. Bol Dir Malar San Amb 1981;21(1):28-38.
32. Loyola EG, Rodríguez MH, González L, Arredondo JJ, Bown DN, Vaca MA. Effects of indoor residual spraying of DDT and Bendiocarb on the feeding patterns of *Anopheles pseudopunctipennis* in Mexico. J Am Mosq Control Assoc 1990;6(4):635-40.
33. Bown DN, Rodríguez MH, Arredondo JJ, Loyola EG, Rodríguez MC. Age structure and abundance levels in the entomological evaluation of and insecticide used in the control of *Anopheles albimanus* in Southern Mexico. J Am Mosq Control ASOC 1991;7(2):180-187.
34. Organización Panamericana de la Salud. OPS. Enfermedades y daños a la salud. La salud en las Américas. Publicación Científica No. 569. Volumen 1:106-16;1998.

Recibido: 9 de julio de 2001. Aprobado: 2 de octubre de 2001.  
 Dr. *Israel García Ávila*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Apartado 601. Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba.