

**SECRETARIA DE SALUD**  
**SUBSECRETARIA DE PREVENCIÓN Y PROMOCION DE LA SALUD**  
**CENTRO NACIONAL DE PROGRAMAS PREVENTIVOS**  
**Y CONTROL DE ENFERMEDADES**  
**DIRECCIÓN DE ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR VECTORES**



**MANUAL TÉCNICO DE ENTOMOLOGÍA**  
**PARA EL PROGRAMA DE PALUDISMO**

**JULIO, 2014**

## **DIRECTORIO**

**Dra. Mercedes Juan López.**

Secretaria de Salud

**Dr. Pablo Kuri Morales.**

Sub Secretario de Salud

**Dr. Jesús Felipe González Roldán.**

Dir. Gral. Centro Nacional de Programas Preventivos  
Y Control de Enfermedades (CENAPRECE)

**Dr. Gustavo Sánchez Tejeda.**

Dir. Programa de Enfermedades Trasmitidas  
Por Vectores

**Dr. Héctor Olguín Bernal.**

Jefe del Dpto. de Prevención y Control de Paludismo.

### **Elaboró:**

Biol. Gerardo Reyes Cabrera.

Biol. Rosario Sánchez Arcos.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	4
BIONOMÍA Y BIOLOGÍA	5
Ciclo de vida	6
Fase de Huevo.	6
Fase de Larva	7
Las pupas	8
Los adultos	9
Ciclos gonadotróficos y de postura	11
Etapas del Desarrollo Ovárico	12
Hábitos alimentarios	13
Hábitos de reposo	14
Dispersión	15
Densidades de población	15
LOS PRINCIPALES VECTORES DEL PALUDISMO	17
<i>Anopheles albimanus</i> Wiedemann	17
<i>Anopheles pseudopunctipennis</i> Theoblan	19
EL PAPEL DE LA ENTOMOLOGIA.	21
TRABAJOS DE CAMPO	22
Levantamiento de croquis	22
Estudios de Diagnostico	23
Hidro-entomológicos	24
Captura de anofelinos adultos en refugios naturales	26
Captura de anofelinos adultos con Cebo-Humano	27
Disección de Ovarios	29
Estudios de Evaluación	31
Biológicas de pared	31
BIBLIOGRAFÍA	34
ANEXOS	35

## INTRODUCCIÓN

Cuando la especie humana se hizo sedentaria y desarrolló la agricultura, la ganadería y el almacenaje de alimentos, dentro de un nivel de organización social compuesto por numerosas familias, entonces se establecieron las bases para iniciar una estrecha relación entre varias especies de insectos y las comunidades humanas.

Como resultado del incremento demográfico humano, el desequilibrio ecológico se acentuó y los insectos quedaron fuera de control para los reguladores depredadores y parásitos naturales, por lo que, varias especies obtuvieron facilidades para relacionarse más directamente con el hombre, parasitándole y aprovechando su ropa, las habitaciones, los alimentos, los desechos domésticos e industriales y los productos almacenados para cubrir sus necesidades de refugio, criadero y alimentarlos, transformándose en vectores de numerosas enfermedades producidas por bacterias, virus, rickettsias, protozoarios y hongos.

El paludismo es causado por parásitos del género *Plasmodium* transportados por mosquitos del género *Anopheles* y transmitidos a las personas por la picadura de mosquitos infectados previamente. En América Latina y el Caribe, el 75% de las infecciones de paludismo son causadas por *Plasmodium vivax* agente etiológico más común en México mientras que el 25% restante se debe a *P. falciparum* parásito de origen Africano predominante en Centroamérica.

A pesar de la enorme inversión que entrañan la gestión humana y las aportaciones financieras, las enfermedades transmitidas por vectores siguen siendo uno de los problemas de salud que predominan en gran parte del mundo particularmente en los países tropicales y semi-tropicales en desarrollo. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2010 aproximadamente el 50% de la población mundial estaba expuesta al paludismo o malaria principalmente en los países con mayor pobreza.

Afortunadamente gracias a las estrategias de control desarrolladas, los casos de paludismo han bajado un 32 por ciento en América Latina y el Caribe desde el 2000; y se han reducido las muertes resultantes de la enfermedad en el mismo periodo hasta en un 40 por ciento. No obstante, más de 140 millones de personas en la Región (un 16 por ciento del total) permanecen en riesgo de contraer la enfermedad, así lo establece la Organización Panamericana de la salud (OPS).

En México se han realizado considerables avances en la lucha y control de esta enfermedad mediante el uso focalizado de insecticidas, pero principalmente con la realización de actividades de saneamiento básico a nivel domiciliar, peri domiciliar y ambiental, en las que participa de manera activa la población en riesgo, lo que ha permitido reducir la incidencia de casos en un 92.5%, es decir, de 15,121 casos en 1998 a solo 1,124 para el 2011.

## BIONOMÍA Y BIOLOGÍA

Los comúnmente conocidos mosquitos ó "zancudos", son insectos holometábolos es decir que presentan metamorfosis completa, que pertenecen al orden díptera (Tabla 1) en el cual, los organismos se caracterizan por presentar las alas mesotorácicas generalmente bien desarrolladas, de tipo membranoso y las alas metatorácicas reducidas en forma de órganos sensoriales especializados, conocidos como alteres o balancines.

Existen alrededor de 3 mil 200 especies de mosquito distribuidas en todo el mundo, agrupados en tres subfamilias dentro de la familia Culicidae (Tabla I). La mayoría de las especies de importancia médica están dentro de las subfamilias Anophelinae (de la cual el género más importante es *Anopheles*), y Culicinae (que incluye a los géneros *Aedes*, *Culex* y *Mansonia*).

Sistemática	
Phylum	Arthropoda
Clase	Insecta
Subclase	Pterygota
División	Endopterygota
Orden	Díptera
Suborden	Nematocera
Familia	Culicidae
Subfamilia	Anophelinae
Género	<i>Anopheles</i>

Tabla 1. Sistemática de mosquitos *Anopheles*.

Son de cuerpo pequeño de entre 5 a 15 mm de longitud, dividido en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen (Figura 1).

La cabeza casi esférica está ocupada en su mayor parte por un par de ojos compuestos laterales. Presentan un par de antenas formadas por quince segmentos escapo, pedicelo 13 artejos que forman el flagelo en los que se implantan numerosos pelos lo cuales se presentan más largos y abundantes en el caso de los machos.

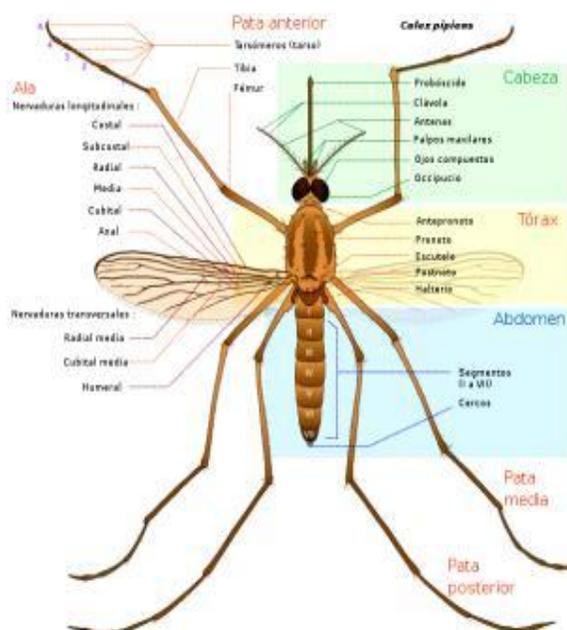


Figura. 1 Anatomía de un mosquito.

Poseen un aparato bucal diseñado para picar y chupar, tanto las hembras como los machos se alimentan del néctar y fluidos de plantas, sin embargo las hembras típicamente requieren de la ingesta de sangre de algún vertebrado para llevar a cabo la ovipostura. Los machos presentan apéndices bucales cortos en contraste con las hembras que poseen apéndices bucales largos como una aguja, capaz de taladrar tejido animal.

El tórax se divide en tres segmentos: protórax, mesotórax y metatórax, es la parte más voluminosa del cuerpo del mosquito ya que en él se implantan los órganos de locomoción consistentes en tres pares de patas, un par de alas membranosas y un par de alares ó balancines.

Presentan dependiendo de la especie un número determinado de pelos mismos que varían en color y tamaño según su ubicación así como de escamas presentes en las alas y patas de gran utilidad para la determinación taxonómica.

El abdomen es alargado compuesto de diez segmentos de los cuales solo los primeros ocho están bien caracterizados como tales, mientras que el noveno y decimo segmentos se modifican para formar parte de las estructuras genitales y lóbulo anal.

Se presenta durante la fase adulta dimorfismo sexual acentuado.

## Ciclo de Vida.

Durante el ciclo de vida, los anofelinos al igual que todos los Culícidos experimentan una metamorfosis completa, pasando por las etapas de huevo, la larva y pupa antes de llegar a ser adulto (Figura 2).

Las etapas inmaduras se desarrollan siempre asociadas con agua libre en cuerpos lenticos, que pueden ocurrir en una amplia gama de ubicaciones.

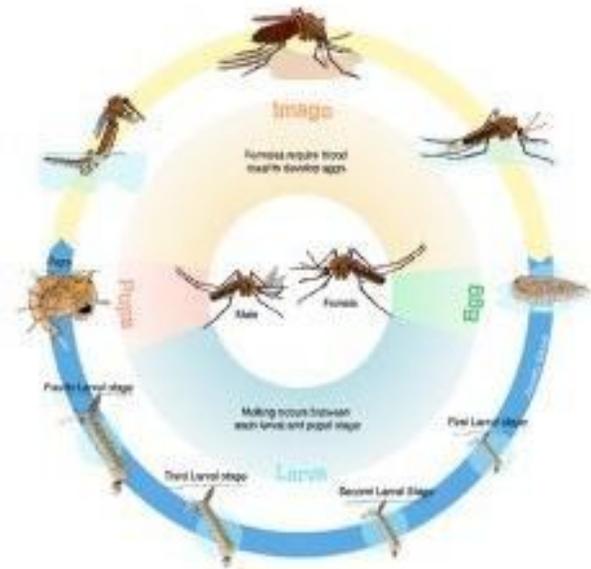


Figura 2. Ciclo de vida de Culicidae.



### Fase de Huevo.

Las hembras de los anofelinos ovipositan sobre la superficie del agua, dejando caer los huevecillos mientras revolotean sobre el criadero ó bien mientras reposan sobre el detritos y la vegetación marginal.

Los sitios para la realización de la ovipostura no son aleatorios, su selección se realiza mediante la identificación de estímulos, determinados por la presencia de bacterias, fitoplancton y zooplancton, que favorecen la proliferación de algas verdes filamentosas, y emiten químicos volátiles, que se traducen en condiciones aptas para el desarrollo de la progenie, y por tanto orientan y estimulan la ovipostura. (Figura 3a y 3b), y que son cruciales en la ecología del criadero ya que proveen la fuente de recurso alimentario a demás de brindar protección a las larvas frente a depredadores.

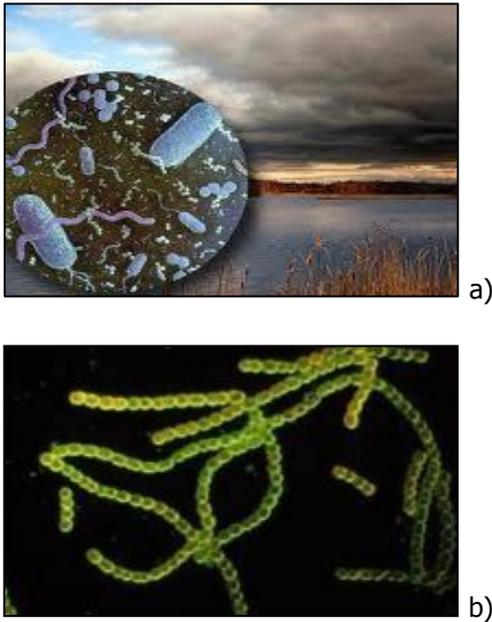


Figura 3. Factores determinantes para la ovipostura. a) Bacterias y zooplancton. b) Fitoplancton y algas.

Los huevecillos son colocados de forma individual y se mantienen a flote por medio de unas cámaras de aire llamadas flotadores las cuales varían en tamaño, forma y patrón de acuerdo con la especie, aunque en ocasiones pueden presentarse variaciones entre las formas de los flotadores en una misma especie. (Figura 4).



Figura 4. Huevecillos de Anopheles

Las hembras depositan un promedio de 75 a 150 huevos en cada ovipostura, número que varía de acuerdo con la cantidad y calidad de la sangre adquirida durante la ingesta. El desarrollo embrionario se completa después de dos a tres días a temperaturas de entre 25 y 30 °C, sin embargo, este tiempo puede prolongarse si se presentan temperaturas inferiores.

A diferencia de los Aedínos los huevecillos de Anofeles no resisten la desecación, algunas especies exhiben cierta tolerancia a ella por espacio de unas cuantas horas.



#### Fase de Larva

Al igual que otros mosquitos las larvas de anofelinos presentan cuatro fases de muda denominados "instar" morfológicamente similares excepto por el incremento secuencial de tamaño.

La parte torácica de la larva frecuentemente posee pelos o cerdas largas, que le ayudan a lograr balance y a romper la tensión superficial del cuerpo agua para mantenerse a flote.

El abdomen posee diez segmentos; morfológicamente las larvas de los anofelinos se distinguen fácilmente de otros culicinos por la ausencia del sifón respiratorio el cual es reemplazado por un aparato espiracular situado en el dorso del noveno segmento abdominal que no se proyecta visiblemente del cuerpo. Las larvas también pueden identificarse con facilidad por su característica posición de reposo,

paralela a la superficie del agua, en contraste con la de los culícidos que reposan en un ángulo de 45 a 90 grados (Figura 5).



Figura 5. Diferenciación entre larvas de anofeles y otros Culícidos.

El período de desarrollo de la larva generalmente es de 7 a 10 días, pero puede tomar solo 5 días o varias semanas, dependiendo de la especie, la temperatura y la disponibilidad de alimento. Las larvas se alimentan de microorganismos o de detritus suspendidos en la columna de agua o sobre la superficie, los cuales atraen a su boca produciendo corrientes con las sedas orales (Figura 6).

Los anofelinos utilizan una amplia variedad de hábitat, pero las especies de América tropical se encuentran comúnmente en aguas no contaminadas tales como las riberas de los lagos, lagunas, arroyos, zanjas de préstamo ó sistemas similares.

Su micro- hábitat son, como se menciona anteriormente, la vegetación flotante o emergente como algas, jacintos de agua y el detritus flotante.



Figura 6. Apéndices orales de una larva de Anopheles

La visión en las larvas es rudimentaria pero reaccionan rápidamente a cambios en la intensidad de luz, migrando con movimientos ondulatorios hacia el fondo del criadero.



### Fase de Pupa.

Las pupas se presentan en forma de coma, resultado de la fusión de la cabeza y el tórax para formar un cefalotórax, mientras que el abdomen cuelga debajo (figura 7).

La etapa de pupa es activamente móvil, capaz de nadar vigorosamente si algo las molesta, usando un par de paletas ubicadas sobre la parte apical del abdomen. Ellas flotan en la superficie cuando están en reposo y respiran aire atmosférico por medio de un par de estructuras llamadas

trompetillas, que se proyectan hacia arriba desde el cefalotórax.



Figura 7. Fase de Pupa

Durante esta etapa las pupas no se alimentan y esta fase dura por lo general, de 2 a 3 días.

Morfológicamente, las pupas de los anofelinos son muy similares a las de los culicinos, pero pueden diferenciarse por la presencia de la cerda 9, que es una espina rígida en el margen lateral posterior en el dorso de los segmentos abdominales III al VII, y por la forma y longitud de las trompetillas.

Las pupas del sexo masculino son un poco más pequeñas que las de las hembras y los machos adultos generalmente emergen unas horas antes que las hembras.



### Los adultos.

Los anofelinos adultos se distinguen por la forma del escutelo (un lóbulo transversal en el dorso del tórax, posterior al escudo), el

cual es curvo en toda su extensión en vez de trilobulado como en el género *Chagazia* y en los culicinos (Figura 8).



Figura 8. Adulto de *Anopheles pseudopunctipennis*.

En todos los mosquitos adultos, los machos pueden diferenciarse de las hembras por la presencia de pelos a manera de plumeros en las antenas (Figura 9a y 9b).

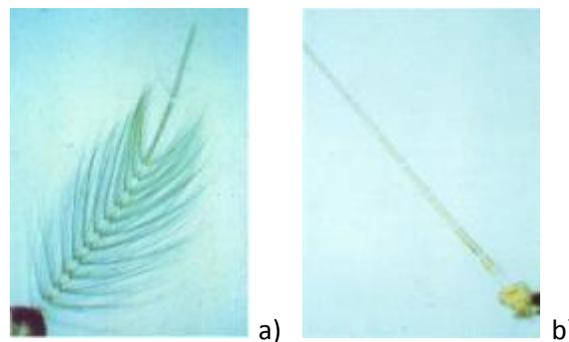


Figura 9. Antenas de mosquito.  
(a) Macho (b) Hembra.

Las hembras de los anofelinos pueden distinguirse fácilmente de los otros géneros de mosquitos por los palpos maxilares, que son casi tan largos como la probósis,

mientras que en los otros géneros, generalmente, no tienen más de un quinto del largo de la probósis.

Los anofelinos de ambos sexos se reconocen fácilmente cuando reposan o se alimentan, ya que sus cuerpos, generalmente adoptan una posición formando un ángulo de 30 grados o más con la superficie, mientras que los cuerpos de los otros géneros se mantienen casi paralelos a la misma (Figura 10a y 10b).

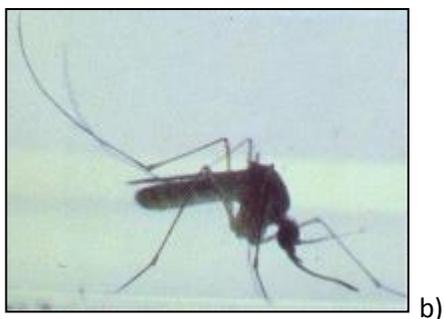


Figura 10. Posición de mosquitos en reposo.  
a) *Anopheles* b) *Culex*

Además, la mayoría de los anofelinos poseen las alas moteadas mientras que los culicinos no.

Los adultos normalmente emergen de la pupa en una relación por sexo aproximadamente de 1:1 aunque esta proporción puede desviarse en cualquier dirección tanto en el campo como en el laboratorio (Figura 11).

Al momento de emerger los adultos no pueden volar y deben reposar en el sitio de emergencia durante varias horas para permitir la esclerotización de su tegumento.



Figura 11. Emergencia de mosquito Imago.

El apareamiento de los anofelinos generalmente se lleva a cabo durante el vuelo. Al anochecer, los machos forman un enjambre sobre algún objeto como un arbusto o árbol pequeño, y las hembras que vuelan hacia el enjambre son capturadas por los machos (Figura 12).

La copula dura aproximadamente un minuto, y luego la hembra es liberada. Ambos sexos pueden aparearse varias veces durante su vida, pero los huevos puestos por las hembras son generalmente fecundados por el esperma del primer macho.



Figura 12. Mosquitos en Copula.

Casi todas las hembras se aparean antes de su primera alimentación sanguínea. Los partes bucales de los machos no están adaptadas para perforar y chupar sangre, pero si lo están para alimentarse de néctar, jugos de frutas y de otros fluidos vegetales.

Las hembras también utilizan estas fuentes de alimento, pero además requieren al menos de una ingestión de sangre humana o de un animal de sangre caliente, para el desarrollo de cada lote de huevos. Algunas especies necesitan de dos o más ingestas para poder iniciar el desarrollo del primer lote de huevos (Figura 13a y 13b).



Figura 13a. Anopheles darlingi Abdomen vacío.



Figura 13b. Anopheles darlingi abdomen lleno.

### Ciclos gonadotróficos y de postura

El ciclo gonadotrófico es el período de desarrollo de los ovarios, que comienza con una alimentación sanguínea adecuada y termina con la maduración de los huevos no fecundados (oocitos) que están listos para la fecundación y la postura.

En los trópicos, el tiempo necesario para que se complete este ciclo es, generalmente, de 2 a 5 días dependiendo de la especie y la temperatura ambiente. La rapidez del desarrollo de los ovarios es proporcionalmente inversa a la temperatura, de modo que a temperaturas más bajas el ciclo gonadotrófico puede prolongarse por varios días.

El ciclo de postura no solo incluye el ciclo gonadotrófico, sino también el período necesario para que la hembra encuentre un criadero y ponga los huevos así como para que encuentre un hospedero y tenga otra alimentación sanguínea.

Cuando los sitios de reposo, los criaderos y los hospederos se encuentran fácilmente

disponibles, el tiempo necesario para la postura y la obtención de otra ingestión sanguínea puede ser de unas pocas horas, pero si alguno de estos elementos o todos ellos se encuentran distantes o son escasos puede ser necesario más de un día.

### **Etapas del Desarrollo Ovárico (Técnica de Detinova)**

Se puede obtener información útil sobre las actividades de los mosquitos y sobre el efecto que sobre ellos tienen los insecticidas, estudiando el estado del abdomen de las hembras. El desarrollo ovárico puede ser fácilmente observado y entendido (Figura. 14) siguiendo la clasificación más satisfactoria y de uso general que es la técnica de Detinova que a continuación se señala.

a) Hembras con el abdomen vacío: Son recién nacidas en ayunas o ejemplares viejos que después de poner huevecillos no se han vuelto a alimentar, presentan el abdomen aplastado. Ocasionalmente se encuentran hembras en las que el estómago está distendido por jugos de plantas que se encuentran en el divertículo esofágico. Algunas veces se ve un aspecto similar en ejemplares abatidos por el piretro.

b) Hembras con sangre reciente. El abdomen está muy lleno por sangre roja o presenta un coágulo rojo oscuro. Los ovarios ocupan no más de dos o de tres segmentos ventrales y hasta cuatro dorsales.

c) Hembras con digestión avanzada. Sangre roja oscura. los ovarios ocupan de dos y medio a tres segmentos ventrales y cinco dorsales.

d) Abdomen semi ocupado por los ovarios. Sangre roja oscura. Los ovarios ocupan de cuatro a cinco segmentos ventrales y seis dorsales.

e) Más de la mitad del abdomen ocupado por los ovarios. El coágulo de sangre está muy reducido y oscuro. Los ovarios ocupan la mayor parte del abdomen.

f) Abdomen casi lleno por los ovarios. Sangre negra o completamente digerida: el estómago se observa como una línea negra, angosta.

g) Abdomen ocupado totalmente por los ovarios: de aspecto blanco grisáceo.

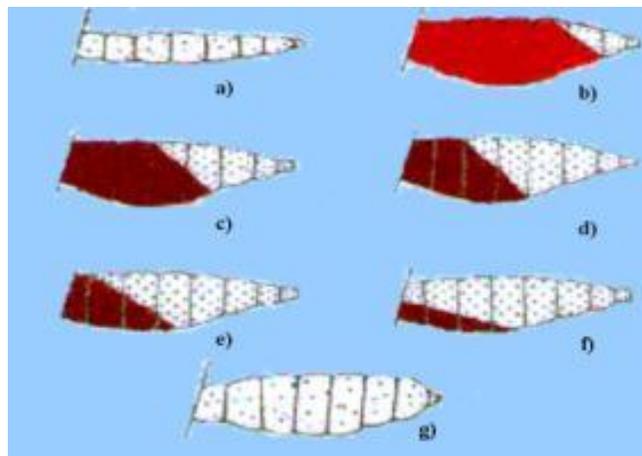


Figura. 14 Aspecto del abdomen de acuerdo con el grado de digestión de sangre.

Durante el desarrollo de los ovarios éstos pasan por un ciclo regular de crecimiento y de contracción, sistema de cambio que también comprende a la membrana envolvente y al sistema traqueal asociado.

En las hembras recién nacidas las traqueolas del ovario son relativamente gruesas en relación con el tamaño de los ovarios y en consecuencia las ramas principales contraídas y plegadas y las ramas terminales están fuertemente enroscadas en nudos (figura 15a).

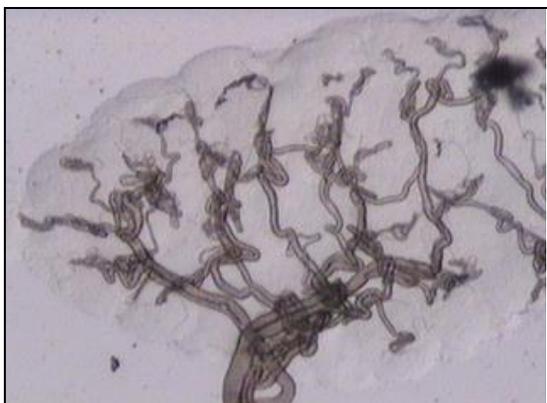


Figura 15a. Aspecto de las Traqueolas ováricas en hembras Nulíparas

Durante el primer ciclo gonotrófico se alarga el ovario, las traqueolas se alargan considerablemente y los nudos se desenrollan.

Después de la ovulación las ramas principales se contraen otra vez junto con la membrana envolvente, pero las ramas terminales siguen más o menos rectas y no vuelven a enroscarse (Figura 15b).



Figura 15b. Aspecto de las Traqueolas ováricas en hembras paridas ó Múltiparas

Según esto, la presencia de nudos traqueolares es indicador útil y seguro del estado de nuliparidad.

Sin embargo, debe advertirse que aún en nulíparas, una vez que los ovarios han alcanzado un tercio del volumen del abdomen los nudos empiezan a desenrollarse y ya no tienen valor como guía de la edad fisiológica del mosquito.

## Hábitos alimentarios

Los anofelinos se alimentan de una gran variedad de animales, dependiendo primordialmente de la preferencia de la especie por un hospedero y de la disponibilidad de dichos hospederos. Los hospederos más comunes, además del hombre, son los animales domésticos grandes como el ganado, los caballos y otros equinos, cerdos, ovejas y cabras.

Las especies que prefieren alimentarse en los animales se denominan zoofílicas, mientras que las que prefieren a los

humanos se llaman antropofílicas. Estos términos no son absolutos, es decir; la mayoría de las especie se alimentan indistintamente tanto de animales como del hombre en grado variable. Es cierto que las especies de mayor tendencia antropofílica son mejores vectores, pero de hecho muchos de los vectores en América son más zoofílicos que antropofílicos.

Se alimentan generalmente durante la noche y en las horas del crepúsculo, excepto las especies del subgénero *Kerteszia* que también lo hacen durante las horas del día. Las especies que se alimentan de noche, pueden alimentarse durante el día si se les molestan en sus sitios de reposo, especialmente si el día está nublado y las densidades del mosquito son altas.

La actividad de alimentación nocturna varía entre las especies y cada una tiene un patrón más o menos fijo con picos máximos de actividad, por ejemplo, en el crepúsculo (al anochecer y al amanecer) ó bien a altas horas de la noche.

Estos hábitos pueden alterarse un poco por las condiciones atmosféricas (lluvias o vientos fuertes), la luz de la luna, y la estación o el clima. Por lo tanto, las observaciones de campo deben realizarse durante período suficientemente largos para tomar estos factores en consideración.

Debido a que los anofelinos se alimentan con mayor frecuencia durante la noche, hay mayor probabilidad de que las personas sean picadas dentro o cerca de sus casas. A los mosquitos que pican principalmente dentro de las casas se les denomina

"endofágicos" y a los que pican fuera de las mismas "exofágicos".

En las Américas, los anofelinos son generalmente más exofágicos que endofágicos y la mayoría muestra tasas de picadura más altas fuera de las casas que dentro de ellas cuando se les ofrece una elección igual de hospederos.

Sin embargo, esto no necesariamente implica una mayor tasa de transmisión de paludismo fuera de las casas porque, excepto en circunstancias especiales, la gente pasa más tiempo dentro que fuera de las mismas. Hay una gran variación en la tendencia de los mosquitos a entrar en las viviendas; algunas especies entran con facilidad en busca de un huésped, mientras que otras raras veces entran y pican. En algunos casos también hay variación dentro de la misma especie.

## **Hábitos de reposo**

Después de alimentarse, las hembras pasan la mayor parte de los días subsiguientes reposando mientras sus huevos se desarrollan y están listos para la postura. El período de reposo varía mucho entre las especies y es de gran importancia para la selección y el diseño de las medidas de control.

En el caso de los vectores de paludismo, las hembras generalmente reposan primero sobre las paredes u otras superficies de las casas, debido a que la obtención de sangre humana ocurre principalmente durante la noche cerca o dentro de las casas.

Algunas especies pueden permanecer en las casas durante todo su ciclo gonadotrófico, otras reposan dentro de las casas durante algunas horas o hasta el día siguiente y luego van en busca de sitios de reposo a la intemperie (Figura 16).

Otras especies reposan solamente por algunos minutos dentro de las casas o se van enseguida. A las especies que reposan dentro de las casas se les denomina "endofílicas" y a las que reposan en el exterior "exofílicas". La mayoría de los mosquitos, inclusive los anofelinos, tienden a reposar durante períodos variables de tiempo antes de acercarse al hospedero para alimentarse, ya sea dentro o fuera de las casas. Por consiguiente, es común encontrar anofelinos que no se han alimentado reposando dentro de las casas y establos o cerca de ellos, especialmente durante las primeras horas de la noche.



Figura 16. Mosquitos en reposo.

Las hembras que se alimentan de los animales en establos se pueden encontrar reposando durante la noche en las cercas o en la vegetación vecina, pero en la mañana

se trasladan a los sitios de reposo diurnos, que generalmente están en, la vegetación densa cerca del suelo o en las orillas de arroyos sombreados, oquedades de las rocas o en la madera y otros hábitat similares que proporcionan un microclima fresco y húmedo.

## Dispersión

La dispersión de los anofelinos ha sido tema de muchos estudios, con una amplia variedad de resultados. Algunas especies muestran una dispersión de menos de 1 Km. y otras de más de 15 Km. Sin embargo, la experiencia adquirida en los programas de control del paludismo basados en el control de larvas, indica que realizando actividades de control a uno o dos Kilómetros alrededor de la zona que se quiere proteger son generalmente suficientes. En estos casos, aunque algunos individuos pueden dispersarse más lejos, su número es pequeño y operacionalmente insignificante. Algunos factores que influyen en la dispersión son: las características de la especie, la topografía, la dirección y la velocidad del viento, la densidad de mosquitos, la disponibilidad de hospederos y el tamaño de los sitios de reproducción.

## Densidades de población

Las densidades (abundancia) de anofelinos, así como de otros mosquitos y animales, están relacionadas con muchos factores, algunos de los cuales se comprenden suficientemente bien o son obvios,

mientras que otros no se entienden bien y su importancia es relativa.

La tasa de reproducción (reproducción en los criaderos) y la tasa de mortalidad (a menudo expresada a la inversa como tasa de supervivencia) son los dos factores fundamentales que determinan si las poblaciones aumentan, disminuyen o permanecen estables. Por lo tanto, cuando la reproducción excede a la mortalidad, la población aumenta, cuando la mortalidad excede a la reproducción la población disminuye y cuando ambas son iguales la población permanece estable.

Aunque esta es una relación muy simple y obvia, debe recordarse que la densidad puede cambiar aún cuando una de las dos tasas permanezca constante y, la otra cambie, o ambas tasas cambien en direcciones opuestas. Si este cambio ocurre en igual magnitud no habrá ningún cambio neto en las poblaciones. Por lo tanto, si se estudia solamente una de las dos tasas (por ejemplo las densidades de larvas del 4to estadio o la emergencia de las pupas), es posible que estos índices no tengan relación con los índices de mosquitos adultos, según sea la tasa de mortalidad de los adultos.

En los programas de Paludismo, uno de los parámetros más importantes y que se mide con más frecuencia es el de las densidades de mosquitos adultos. Algunos de los factores que afectan la reproducción de adultos son:

1) La producción de huevos, influenciada por la mortalidad de los adultos, la

temperatura y la disponibilidad de hospederos;

- 2) La disponibilidad de criaderos determinada por la época del año.
- 3) La tasa de eclosión.
- 4) La mortalidad de larvas y pupas, afectada por las interacciones entre depredadores y parásitos, la calidad del agua, la disponibilidad de alimentos, inundaciones y desecaciones.
- 5) La emergencia exitosa de los adultos.

Entre los factores que afectan la mortalidad de los adultos se encuentran: la temperatura, la humedad, los depredadores, la disponibilidad de sitios de reposo adecuados, la disponibilidad de hospederos, los vientos y las precipitaciones. La mortalidad de los adultos (o supervivencia) es importante en los estudios de paludismo y en otros estudios de enfermedades transmitidas por mosquitos no solo por -su influencia sobre las densidades, sino también por su efecto sobre la edad de las poblaciones del vector y por consiguiente, sobre la habilidad de los mosquitos adultos de vivir el tiempo suficiente para infectarse y transmitir la enfermedad.

## LOS PRINCIPALES VECTORES DEL PALUDISMO

De acuerdo con Walter Reed (2001), se tienen reportadas para México 26 especies de mosquitos del género *Anopheles* distribuidas en tres Subgéneros: *Anopheles* con 21 especies, *Nyssorhynchus* que agrupa cuatro y *Kerteszia* con una.

Los mosquitos vectores frecuentemente se clasifican como primarios (o principales) y secundarios (o menores). Los vectores primarios son aquellas especies con una distribución amplia y son responsables de la transmisión endémica en grandes áreas. Los vectores secundarios son especies de menor importancia ya que transmiten la enfermedad en forma irregular o tienen una distribución limitada. Sin embargo, en determinadas circunstancias un vector secundario en una zona puede ser más importante que un vector primario en otra o viceversa.

A continuación se presentan algunos de los vectores primarios del paludismo en México incluyendo información acerca de su distribución, su biología y ecología.

### ***Anopheles albimanus* Wiedemann**

Se crían en los hábitats más diversos: los márgenes de lagos, lagunas y pequeños arroyos, en zanjas de préstamo, huellas de animales, pequeñas depresiones del terreno y manglares (Figura 17).



Figura. 17. Criadero típico de *An. albimanus*

Su reproducción ocurre tanto en aguas costeras salobres, como en aguas contaminadas. Las larvas generalmente prefieren zonas bien expuestas al sol, pero algunas veces se encuentran en lugares sombreados. Está asociada a pastos marginales y emergentes, presentes en cuerpos de agua cerrados como ciénagas, lagunas, charcas, etc. (Figura 18a, 18b, 18c y 18d).

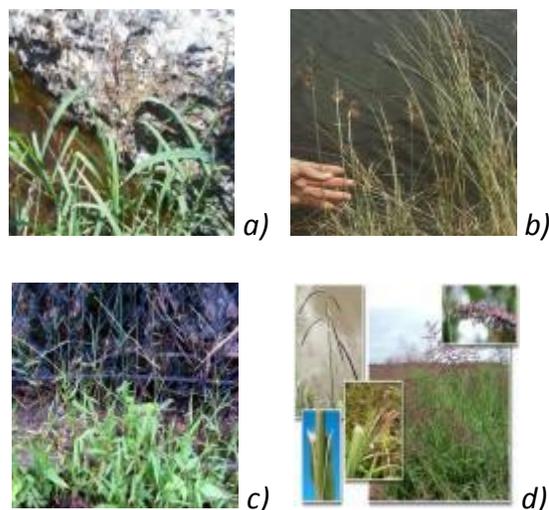


Figura 18. Pastos acuáticos relacionados con *An. Albimanus*. a) *Echinochloa colonum*. b) *Fimbristylis spadicea*. c) *Paspulum conjugatu*. d) *P. vaginatum*.

Esta especie es generalmente zoofílica, alimentándose en animales domésticos como el ganado, caballos, mulas, burros y cerdos, y solo del 15 al 20% se alimenta del hombre; pica durante toda la noche, pero la mayor actividad ocurre entre el anochecer y la media noche y durante este periodo hay un pico de actividad que puede variar con la estación del año, las condiciones atmosféricas y el sitio.

Con frecuencia hay un pico secundario justo antes o al amanecer; su característica principal son las escamas blancas que recubren los tarsos del tercer par de apéndices locomotores (Figura 19).



Figura 19. *Anopheles albimanus*  
Wiedemann

Cuando se realicen capturas en humanos simultáneamente dentro y fuera de las casas, cerca del 65% o más de las picadas ocurren en el exterior. Sin embargo, y tal como se señaló anteriormente, la importancia epidemiológica de los hábitos de picada que se miden de esta manera debe relacionarse, con el sitio en donde la población humana se encuentra en ese momento.

Las capturas nocturnas, que son necesarias para estudiar estos fenómenos, son caras y difíciles. Sin embargo, se ha determinado que un período de capturas de 2 a 4 horas durante las primeras horas de la noche es suficiente para mostrar los cambios en las densidades estacionales de esta especie.

En estudios realizados con hembras capturadas mientras reposan dentro de las casas, entrando a las mismas o reposando en establos mostraron que solo un 20% de ellas se había alimentado de huéspedes humanos. Estos resultados indican que esta especie después de alimentarse en las casas puede reposar dentro de ellas, o buscar otra casa o bien reposar en otros habitats cerca ó a cierta distancia del poblado. De las hembras que reposan dentro se observó que el 44% de las hembras reposa en los techos, el 29% en las paredes y el 27% en los pisos, muebles u otros enseres domésticos.

Las hembras que reposaban en las paredes no mostraron preferencia por una altura determinada con relación al piso. Las hembras que picaron al ganado y a otros animales se encontraron reposando en postes, cercas y vegetación cercanos. Tales sitios son excelentes fuentes de *An. albimanus* para los estudios de laboratorio y puede capturarse un gran número de ellos en unas pocas horas al atardecer. Al amanecer todos estos mosquitos se trasladan a los habitats de reposo diurno que fueron descritos anteriormente.

Las densidades de población alcanzan su pico máximo al final de la estación lluviosa y el menor al final de la época de secas, sin

embargo, este patrón dependerá de la variación local de los períodos de lluvia o al tipo de hábitats de reproducción.

*An. albimanus* se dispersa a más de 32 Km. sin embargo, la mayoría de los estudios que utilizan especímenes marcados muestran, que esta especie se dispersa a menos de 3 Km. del lugar donde fueron liberados; y se señala una supervivencia de por lo menos 17 días. Esta especie ha sido capturada a elevaciones de 1,941 msnm., pero normalmente se encuentra a elevaciones inferiores a los 400 metros.

#### ***Anopheles pseudopunctipennis* Theobald**

Comparte con *An. albimanus* la responsabilidad de la transmisión del paludismo en México, esta especie se distribuye principalmente en áreas montañosas en donde sus criaderos se encuentran en los cauces de arroyos poco profundos, manantiales y charcos en la tierra (Figura 20).



Figura. 20 Criadero típico de *An. pseudopunctipennis*.

Sus larvas se encuentran asociadas con algas de los géneros *Clandophora*, *Euteromorpha* y principalmente *Spirogyra* (Figura 21a, 21b, 21 c).



a) *Clandophora* sp.



b) *Euteromorpha* sp.



c) *Spirogyra* sp

Figura 21. Géneros de algas verdes relacionadas con *An. pseudopunctipennis*.

El porcentaje de cobertura de algas filamentosas, la altitud y la profundidad del agua son factores determinantes para la presencia de *An. Pseudipunctipennis* (rejmanikova, et al., 1993).

Es una especie con afinidad antropofílica endofílica, aun que suele alimentarse también de huéspedes animales como el ganado bovino, caprino y equino (Figura 22).



Figura 22. Adulto de *Anopheles pseudopunctipennis*.

El aumento en sus densidades poblacionales ocurre durante los meses secos, cuando el nivel y velocidad de las aguas es bajo. En cuanto a su longevidad o supervivencia se conoce poco sin embargo, durante los meses de invierno cuando las temperaturas nocturnas son bajas, la reproducción cesa casi por completo y la especie sobrevive en el estado adulto

Como consecuencia de este hábito por lo regular ocurre la aparición de grandes poblaciones de adultos al incrementarse la temperatura. El radio de vuelo de esta especie es de alrededor de 16 kilómetros y es responsable de la transmisión del paludismo a altitudes mayores a los 1,600 metros.

## EL PAPEL DE LA ENTOMOLOGIA.

Las acciones más efectivas para el control del paludismo involucran medidas dirigidas contra los vectores que tienden a la reducción de sus densidades poblacionales, de su longevidad ó del contacto hombre-vector mediante barreras físicas ó químicas. Sin embargo, el desarrollo y la adecuada selección de los métodos a utilizar en una situación determinada, dependerán del conocimiento preciso de la epidemiología local de la enfermedad, de la biología y los hábitos del vector. Por consiguiente, los estudios y las observaciones entomológicas deben ser un componente importante e integral de los programas de control. Los objetivos de estos estudios y observaciones son:

- La planeación de operaciones de control iniciales y de mantenimiento.
- La evaluación de las operaciones de control para la realización de ajustes incluyendo la vigilancia de las poblaciones del vector en tiempo y espacio.
- La investigación epidemiológica en áreas problemáticas.
- La realización de investigación de campo aplicada.

La Información biológica y de bionomía básica necesaria para la planificación de las operaciones de control de vectores de paludismo incluye lo siguiente:

- ❖ Las especies de vectores presentes y su distribución (mapeo de especies).
- ❖ Los sitios de reproducción y las condiciones geográficas, meteorológicas e hidrológicas que influyen sobre ellos

(croquis y/ó mapas hidrológicos por localidad).

- ❖ Las densidades relativas y sus variaciones estacionales (Índices entomológicos).
- ❖ Los hábitos de alimentación, vuelo y de reposo.
- ❖ La susceptibilidad a los agentes de control químico ó biológico a utilizarse.

Parte de la información mencionada está disponible en la literatura o en registros de institutos de investigación o universidades; sin embargo, tal información generalmente es incompleta o no actualizada como consecuencia de los cambios ecológicos debidos a proyectos de desarrollo ó a otros factores. Por consiguiente, deben realizarse encuestas y estudios entomológicos para completar y actualizar la información que se utilizará en el diseño de las medidas de control.

Después de iniciadas las operaciones de control, se deben realizar observaciones entomológicas para evaluar la efectividad de dichas operaciones. Esta evaluación generalmente se realiza en "zonas indicadoras" seleccionadas como representativas de las localidades o poblados. Las observaciones deberían proporcionar al menos índices estacionales (preferiblemente cada mes) del contacto entre hombre-vector, como un medio de cuantificar el impacto del método de control sobre la población del vector.

Por ejemplo, se deben realizar capturas de larvas en lugares donde se utilizan larvicidas o capturas de mosquitos adultos en reposo en lugares donde se aplican aspersiones especiales.

La vigilancia entomológica debe mantenerse constantemente sobre las áreas de distribución del vector, sobre sus hábitos y la susceptibilidad a los agentes de control.

La distribución y los hábitos de los vectores deben controlarse ya que ambos pueden mortificarse como consecuencia de cambios ecológicos causados por deforestación, proyectos de construcción, prácticas agrícolas, alteraciones en el número de animales domésticos o por eventos similares.

La efectividad de las medidas de control no es estática debido a los cambios ecológicos mencionados, así como también al desarrollo de resistencia del vector a los insecticidas y del parásito a las drogas. En todo caso se deben diseñar y evaluar nuevas alternativas posibles antes de que las medidas de control existentes comiencen a fallar.

Es extremadamente importante que las encuestas entomológicas estén cuidadosamente diseñadas y los objetivos claramente definidos en lo que se refiere a la planificación, evaluación, vigilancia y a las actividades de Investigación.

Las actividades entomológicas deben planificarse en estrecha colaboración con los otros componentes del programa, como administración, las operaciones de campo y epidemiología, para asegurarse de que se realizarán eficientemente y proporcionarán el tipo y la cantidad de información necesaria.

## TRABAJOS DE CAMPO

### Levantamiento de croquis

Los trabajos de exploración entomológica deberán partir del reconocimiento geográfico del área a evaluar, por lo que los croquis de cada una de las localidades prioritarias deberán estar disponibles y actualizados (Figura 23), dichos croquis deben incluir información que permita establecer la relación entre el hombre y su entorno, así como establecer los factores de riesgo para la transmisión de enfermedades y su comportamiento local, por lo que deberán incluir información geográfica, hidrológica, entomológica y epidemiológica.



Figura 23. Ejemplo del Croquis de una localidad.

La información geográfica de la localidad registrara aspectos tales como la orientación, variaciones altitudinales, los y tipos de caminos ó brechas presentes, escuelas, unidades de salud, notificantes, iglesias, así como la distribución espacial ó

ubicación de las viviendas debidamente numeradas, señalando las casas con presencia de casos confirmados y de ser posible los casos acumulados por año identificados con un color para cada año.

Del sistema hidrológico, se señalará la ubicación de los diferentes cuerpos de agua: los ríos, arroyos, lagunas, ciénagas, lagos, represas, abrevaderos y pozas etc., presentes en cada localidad indicando con líneas continuas los cuerpos de agua permanentes y con líneas punteadas aquellos de tipo temporal para los que se anotará la fecha de su periodo de presencia.

Cada sistema será considerado de manera general un criadero.

Cada cuerpo de agua presente será considerado un criadero, y se asignará un número de identificación no modificable por ejemplo C-1, C-2, etc., mismo que será empleado para reconocer la información entomológica correspondiente de cada uno de ellos, registrada en los formatos E1E y E1C respectivamente.

Se indicarán también en el croquis para cada sistema ó criadero el sitio en donde se haya registrado la presencia de larvas, así como la ubicación de los Refugios Naturales presentes tanto positivos como potenciales empleando la simbología correspondiente.

Dentro de la simbología que se deberá incluir en los croquis, se indicarán todas las referencias importantes, mismas que podrán variar de una localidad a otra, por lo que no necesariamente todos los croquis

incluirán la misma simbología. En el Anexo I se presentan los símbolos más comunes empleados.

Cada croquis deberá también incluir un cuadro de referencia que contenga la información básica de la localidad: estado, nombre de localidad, municipio, distrito, número de expediente, estado, número total de viviendas, habitantes, así como el nombre de quien realizo el levantamiento y la fecha de elaboración, como se ejemplifica en la Tabla 2.

ESTADO	Nayarit
MUNICIPIO	Huajicori
LOCALIDAD	Contadero
DISTRITO	Huajicori
NUM. EXPEDIENTE	0075
CASAS	40
HABITANTES	172
FECHA	Noviembre 2012
ELABORO	Sabino Gregorio Cervantes

Tabla 2. Cuadro de referencia.

### Estudios de Diagnóstico.

Las actividades entomológicas y las intervenciones hacen parte de las actividades regulares del programa de control. El estudio pre intervención consiste en la caracterización entomológica de la localidad y la definición de variables e indicadores que servirán como línea de base de las futuras evaluaciones.

Para la implementación de las actividades de prevención ó control del paludismo, es indispensable conocer entonces las

densidades de mosquitos vectores en sus diferentes fases tanto inmaduras como adultos, la información generada permitirá, en conjunto con la información epidemiológica y las características socio culturales de las localidades seleccionadas establecer riesgos de transmisión.

A continuación se describen algunos de los estudios más importantes como antecedentes para el diseño de actividades operativas:

### Hidro-entomológicos

La exploración entomológica para la detección de larvas se conoce como estudios hidro-entomológicos y consisten en la búsqueda y captura de larvas de anofelinos, con el objetivo de realizar identificaciones taxonómicas así como de cuantificar sus densidades de población para establecer los riesgos de transmisión de paludismo mediante el cálculo e interpretación de índices larvarios.

Lo anterior permitirá al entomólogo diseñar e indicar las medidas de prevención ó control según sea el caso, tomando en consideración los diferentes estadios larvales observados, lo que dará la perspectiva de aspectos tales como si es un criadero activo o en qué tiempo lo será, etc., así mismo dará una idea de la densidad de adultos que se podrían encontrar en un área.

La fase preliminar de este estudio es la caracterización de los criaderos misma que se registrará en el formato “Caracterización

de Criaderos de Anofelinos” **E-1E** clave **SIVA 0203002** (Anexo II), en éste se anotara de acuerdo al número del criadero asignado en el croquis hidro-entomológico: el tipo de colección acuática (río, arroyo, poza, etc.), su temporalidad, su extensión en largo y ancho, así como los m<sup>2</sup> de áreas sombreadas, soleadas, de vegetación marginal y flotante, el uso del agua y la presencia de depredadores.

Es importante el detallar comentarios sobre las medidas de prevención y/o control a realizar en el.

Una vez realizada la caracterización, se procede a la realización de las caladas correspondientes (Figura. 24), las caladas deberán realizarse a lo largo de ambos márgenes del sistema que se esté explorando según sea el caso (ríos, lagunas, esteros, etc.).



Figura. 24. Realización de Caladas.

De acuerdo con la experiencia y los conocimientos adquiridos, sobre las características de los sitios de ovipostura y de desarrollo de las larvas de anofelinos, la realización de caladas no será aleatoria, se realizarán en los sitios en donde se observen dichas condiciones.

La actividad se registrará en el Formato de Captura de Larvas de Anofelinos **E-1C** clave **SIVA 0203003** (Anexo III); en donde se anotarán los datos básicos de la localidad en estudio, la fecha de la última intervención con EMHCA's, así como, el tipo de evaluación previa ó posterior. Los números de los cuerpos de agua ó criaderos explorados, deberán corresponder con los asignados en el croquis hidro-entomológico levantado previamente.

Se anotará por criadero el resultado correspondiente a cada calada realizada, anotando cero en el caso de no haber capturado ninguna larva de Anopheles en cuyo caso se tratara de una calada negativa. En caso contrario se anotara el número total de larvas capturadas sin importar el estadio de las mismas (recordemos que el estudio registra presencia, ausencia y densidad), considerando está calada como positiva (Figura 25).

La presencia de pupas únicamente se reportará de forma cualitativa es decir si su presencia es nula, escasa ó abundante).

El número de caladas a realizar por sistema ó criadero, dependerá de las condiciones que se presenten en cada uno de ellos de manera particular.



Figura. 25. Calada positiva.

Al término de la exploración se realizarán los concentrados correspondientes al número total de caladas efectuadas, el número de caladas positivas y la suma de larvas capturadas por criadero explorado, para que con estos datos se calculen: el porcentaje de caladas positivas y el promedio de larvas por calada positiva, empleando las siguientes formulas:

$$\text{Porcentaje de caladas positivas} = \frac{\text{Numero de Caladas positivas}}{\text{Num. Total de caladas realizadas}} \times 100$$

$$\text{Promedio de larvas por calada positiva} = \frac{\text{Numero de Larvas capturadas}}{\text{Num. Total de caladas positivas}}$$

De cada indicador se obtendrá un valor que será ubicado dentro de una de las siguientes magnitudes: Nulo, Bajo y Alto, de acuerdo con los valores de referencia se muestran en las Tablas 3 y 4, tanto para el porcentaje de caladas positivas como para el promedio de larvas por calada positiva.

Con los valores de magnitud obtenidos para ambos indicadores larvarios, se estimará de acuerdo con la combinación de ambos el

riesgo de transmisión existente en la localidad como se muestra en la tabla 5.

Porcentaje de Caladas Positivas	Valor de Referencia
Nulo	0 %
Bajo	1 a 15 %
Alto	> 15 %

Tabla 3. Niveles de referencia de acuerdo al porcentaje de caladas positivas.

Promedio de Larvas por calada Positiva	Valor de Referencia
Bajo	< 1
Medio	1 a 5
Alto	> 5

Tabla 4. Niveles de referencia de acuerdo al promedio de larvas por calada.

% Caladas Positivas	Larvas por Calada	Riesgo de Transmisión
Nulo	Bajo	Nulo
Bajo	Medio	Bajo
Bajo	Alto	Mediano
Alto	Medio	Mediano
Alto	Alto	Alto

Tabla 5. Grados de riesgo de trasmisión de paludismo.

Cabe señalar que el riesgo de trasmisión antes citado considera únicamente la densidad larvaria, sin embargo deberán tomarse en cuenta también la densidad de adultos y la presencia de casos confirmados, en cuyo caso el riesgo puede ser aún mayor.

## Captura de anofelinos adultos en refugios naturales.

Como actividad complementaria a los estudios hidro-entomológicos, deberán revisarse los refugios naturales en busca de hembras de anofelinos reposando.

Un refugio natural es todo aquel sitio generalmente cercano a las riberas de los cuerpos de agua ó criaderos, que proporcione a los mosquitos lugares sombreados y húmedos que los proteja de las condiciones medioambientales diurnas como el viento, la exposición directa del sol, la lluvia, el calor, etc.

Estos sitios suelen ser árboles huecos, oquedades en las paredes cercanas a los criaderos, la base de arbustos ó entre las raíces de los árboles ó lugares similares como se muestran en las Figuras 26 a y b.



a)



b)

Figura. 26. Refugios Naturales comunes de *Anopheles*; a) oquedades. b) raíces de arboles.

Todos aquellos lugares que por sus características puedan ser refugio de mosquitos, deberán ser señalados en color azul, mientras que en aquellos sitios en los que además se capturen mosquitos adultos (refugio positivo) se marcarán con color rojo, tanto en el sitio como en el croquis de la localidad.

El registro de datos se realizará en el formato **E-1A-RN** clave **SIVA 0203007** (Anexo IV) Registro de Captura de Anofelinos Adultos, en la que se registrará las fechas de los estudios, el horario en que se realizó la revisión, así como el número de refugios naturales revisados, el número de refugios positivos. Se anotará de manera separada el número de mosquitos capturados con sangre y de mosquitos sin sangre así como la suma total de ambos.

Al término de la actividad deberán calcularse el porcentaje de refugios naturales positivos, el promedio de anofelinos por refugio positivo por especie y globales mediante las fórmulas siguientes:

$$\text{Porcentaje de refugios positivos} = \frac{\text{Num. de Refugios positivos}}{\text{Num. Total de refugios revisados}} \cdot X 100$$

$$\text{Promedio de Mosquitos por refugio positivo} = \frac{\text{Num. de Mosquitos capturados}}{\text{Num. de Refugios positivos}}$$

Finalmente se anotará en las observaciones las recomendaciones sobre las acciones de control a realizar principalmente actividades de nebulización de insecticidas con equipos portátiles.

## **Captura de anofelinos adultos con Cebo-Humano.**

La captura de anofelinos adultos con cebo humano es de las principales actividades para el diagnóstico ó estimación del riesgo de la transmisión de paludismo.

Esta actividad permite al entomólogo generar información acerca de las densidades de mosquitos adultos hembras presentes en una localidad, lo que podrá interpretarse como riesgo para la transmisión; refleja también si la transmisión ocurre principalmente fuera o dentro de las viviendas de acuerdo con la cantidad de mosquitos capturados en cada sitio, lo que permitirá orientar las medidas de prevención y control para que sean más eficientes. Por otro lado permitirá al entomólogo determinar el estado de actividad de los criaderos de acuerdo con el estado de paridad de las hembras de mosquitos capturadas mediante la técnica de disección de ovarios.

Para su realización se seleccionarán dos viviendas en la localidad de estudio, una considerada palúdica y una no palúdica, en el entendido que una casa palúdica es aquella en la que se registra persistencia parasitaria en un individuo ó en diferentes miembros de una misma familia a través del tiempo.

En cada una de las viviendas seleccionadas, se elegirán dos sitios para la captura uno dentro de la casa y otro en el peri domicilio, evitando fuentes de humo y de luz, así como la presencia de otro huésped que represente competencia durante la captura.

Cabe señalar que las capturas deberán ser pareadas es decir el mismo día y durante el mismo horario, tanto en la casa palúdica como en la no palúdica, para que las condiciones medioambientales no tengan variación y los resultados sean comparables; por lo que, esta actividad tendrá que ser realizada por al menos cuatro Entomólogos y/o Técnicos; iniciando la actividad poco antes de la caída del sol en períodos de 50 minutos de exposición por 10 de descanso.

La captura consiste en la exposición desnuda de las extremidades inferiores hasta la rodilla, al aterrizaje de los mosquitos con la intención de alimentarse.



Figura. 27 Captura de Anofelinos con Cebo-Humano

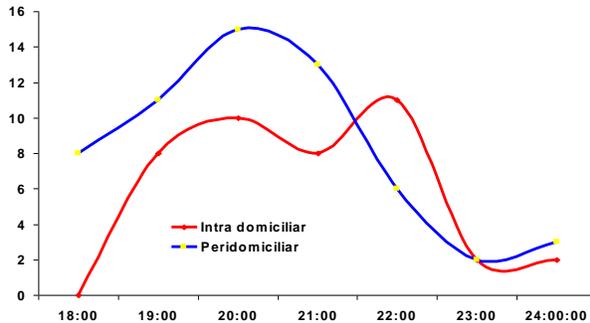
Por lo que la captura debe ocurrir cuando los mosquitos se posan, generalmente a la

altura de los tobillos con la intención de picar (Figura.27); el entomólogo deberá iluminar con su lámpara de mano en forma progresiva o de barrido (nunca con la luz directa) el sitio en el que sienta la presencia de un mosquito, para después realizar la captura con ayuda del tubo suctor el cual debe ser dirigido en dirección del tórax del mosco lo anterior con la finalidad de evitar su escape, el cual ocurrirá si se aproxima el tubo suctor por la parte anterior o posterior del ejemplar.

Cada uno de los ejemplares capturados deberán ser colocados en vasos de recuperación (Figura 28), debidamente identificados con el horario y sitio de captura, y registrando en cuadro correspondiente en el formato **E-1A**, clave **SIVA 0203004** (Anexo V), el numero de mosquitos colectados cada media hora durante las etapas de mayor actividad y cada hora durante las de menor presencia de mosquitos; esto con el fin de obtener las curvas y picos de mayor actividad hematófaga para cada una de las diferentes especies de anofeles presentes en un área en específica (Grafica 1).



Figura. 28 Vasos de recuperación.



Grafica 1. Registro de Captura de *An. albimanus* en una localidad de la Costa de Oaxaca.

Debido a que generalmente se presentan dos picos en los que la actividad hematófaga de los mosquitos se incrementa, estas capturas deberán realizarse al menos una vez al mes de manera longitudinal, es decir; capturas de 12 horas. Esta información permite entre otras cosas la toma de decisiones sobre actividades de control.

Al término de la captura se obtendrán los números totales de mosquitos capturados por especie y por sitio de captura tanto para la casa palúdica como para la no palúdica, así como el número total de mosquitos capturados en la localidad con los que se calcularán los Índices de Picadura Hombre Hora (IP/HH) correspondientes, empleando las siguientes fórmulas:

$$IP/HH \text{ Intrad} = \frac{\# \text{ total de hembras capturadas Intradomiciliar}}{\# \text{ de horas hombre empleadas}}$$

$$IP/HH \text{ Perid} = \frac{\# \text{ total de hembras capturadas en Peridomicilio}}{\# \text{ de horas hombre empleadas}}$$

$$IP/HH = \frac{\# \text{ total de hembras capturadas}}{\# \text{ de horas hombre empleadas}}$$

De acuerdo con OPS/OMS, para reducir el riesgo de infección de las personas que realizan las colectas, se ha adoptado el concepto de capturas sobre humano protegido (CSHP) que contempla las siguientes medidas:

- ✓ Proteger los pies y piernas con medias negras.
- ✓ Disponibilidad oportuna de diagnóstico y tratamiento.
- ✓ Consentimiento informado antes de realizar el procedimiento.
- ✓ No permitir a los mosquitos picar, capturándolos tan pronto se posen sobre la persona

Se asume que la picadura normalmente ocurre después de posar. Como los mosquitos serán capturados tan pronto los mosquitos se posan, tasas de aterrizaje serán medidas en lugar de tasas de picadura.

### **Captura de anofelinos adultos en Reposo en Vegetación.**

Como actividad complementaria a las capturas con Cebo-humano y para que el personal descansa del tiempo que permanece sentado, durante los 10 minutos de descanso podrá caminar y revisar la vegetación circundante a la vivienda en búsqueda de mosquitos en reposo.

Los cuales serán contados por especie así como por su estado de alimentación es decir en mosquitos con sangre y mosquitos sin sangre y colocados en un vaso único de recuperación. El registro se realizará en el cuadro correspondiente en el formato **E-1A** clave **SIVA 0203004** (Anexo V), en el que se calculará por especie los porcentajes de hembras alimentadas.

### **Disección de ovarios (Estado de Nuli ó Multi paridad).**

Actividad complementaria de la captura de mosquitos con Cebo-Humano que consiste en la extracción de los ovarios (Figura. 28) de las hembras de *Anopheles* capturadas que reúnan las siguientes características:

- ❖ Haber sido capturadas al tratar de picar en la noche anterior, es recomendable realizar la disección durante el periodo de descanso de la misma captura.
- ❖ Hembras debidamente refrigeradas hasta el momento de la disección en el caso de ser hembras alimentadas recientemente.
- ❖ En hembras no alimentadas capturadas en el día durante la exploración de refugios naturales.
- ❖ Hembras en las que los ovarios no ocupen más de un tercio del abdomen.

Por lo anterior hembras con digestión avanzada no serán candidatas a esta técnica ya que únicamente se observaría la presencia de huevecillos.

La metodología de esta técnica se describe a continuación:

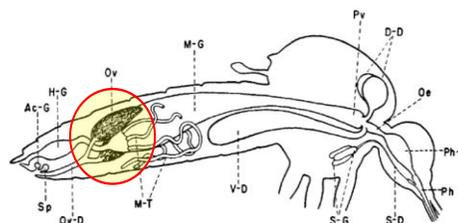


Figura 28. Ubicación de los Ovarios en hembras de *Anopheles*.

#### Técnica de Disección

- 1.- Anestesiarse levemente al mosquito con éter o cloroformo, arrancar las alas y las patas, sumergirlos rápidamente en alcohol y colocarlo en una gota de agua sobre una lámina portaobjeto.
- 2.- Colocar el mosquito en el sentido longitudinal de la lámina. Introducir en el tórax una aguja de disección, para inmovilizar al insecto.
- 3.- Con otra aguja dar pequeños golpes al espacio situado entre el séptimo y octavo segmentos abdominales, para facilitar la tracción del aparato reproductor; con esta aguja, mantenida casi horizontal tirar cuidadosamente de la extremidad abdominal y, con ella el aparato reproductor (Figura 29).

Esta disección puede ser hecha a simple vista, bajo una lupa, o utilizando el microscopio entomológico siempre sobre una gota de agua. Una vez extraídos los ovarios, la muestra se dejará secar espontáneamente al ambiente lo cual toma pocos minutos.

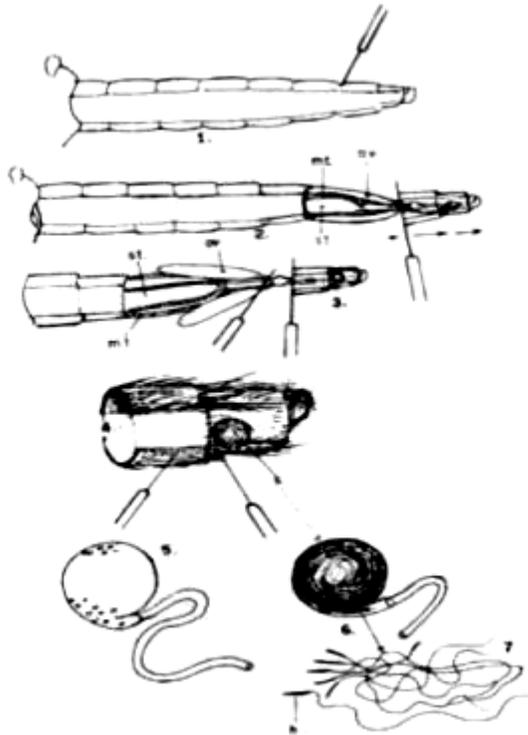


Figura 29. Pasos de la disección de ovarios.

Cuando el agua se seca el aire entra en el sistema traqueal incluso en los más finos ramos traqueolares, haciéndose entonces fácilmente visibles. No se debe hacer esta disección en solución fisiológica porque los cristales de sal se depositan' sobre los ovarios dificultando la visibilidad de las traqueolas.

Los ovarios al secar, se adhieren a la lámina y pueden así ser conservados en buenas condiciones durante años, sin ser montados ni cubiertos por una laminilla, únicamente deben ser guardados al abrigo del polvo.

Se puede disecar en serie un gran número de hembras, conservándose los ovarios de varias de ellas en una misma lamina, para examen posterior. Este examen se realiza

con el microscopio bacteriológico, primero con 50x y después con 200x como aumentos para observación.

Interpretación de los resultados (Tabla 6):

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
Se encontró un alto porcentaje de hembras nulíparas	Presencia de criaderos activos recientes y cercanos.
Se encontró un porcentaje similar de hembras nulíparas y multíparas.	Presencia de criaderos muy productivos y no recientes.
Se encontró un alto porcentaje de hembras multíparas	Indica longevidad en las poblaciones de mosquitos y un alto riesgo de transmisión.

Tabla 6. Interpretación de los estudios de paridad.

Los datos de esta actividad se registran en el cuadro correspondiente en el formato de registro **E-1A** clave **SIVA 0203004** empleados en las capturas correspondientes (Anexo V).

## Estudios de evaluación

Dentro de la entomología, se encuentran una serie de actividades que permiten la evaluación de medidas de control implementadas por el programa, entre las que figuran las evaluaciones antes descritas, realizadas posteriormente al término de las acciones de control.

Sin embargo existen un sin número de actividades de apoyo que permiten conocer

entre otras cosas la efectividad de insecticidas empleados en el control del vector así como el estado de susceptibilidad de las poblaciones de mosquitos frente a los insecticidas.

### ☀ **Capturas de Anofelinos en casas rociadas y no rociadas.**

La aplicación de insecticidas de acción residual como medida de control en las viviendas con persistencia parasitaria tiene como objetivo principal evitar la llegada de hembras de mosquito para alimentarse en estos sitios.

Por lo que la captura de anofelinos en casas rociadas y no rociadas brindara al entomólogo, información sobre los cambios en el comportamiento de llegada así como en los hábitos alimentarios de las hembras adultas, presentes en una localidad intervenida.

Consiste en la revisión de las paredes y piso tanto dentro como fuera de las viviendas, durante las primeras horas de la mañana en busca de hembras en reposo o caídas (muertas) que pudieran haberse alimentado durante la noche anterior; los ejemplares capturados serán colocados en vasos de recuperación

El registro de la actividad se realizará en el formato **E-1A-CR** clave **SIVA 0203005** (Anexo VI); en el que se registrara la condición de la vivienda revisada (rociada ó no rociada), así como el número de mosquitos capturados tanto con sangre

como sin sangre en superficies rociadas y no rociadas por especie colectada.

### ☀ **Capturas de Anofelinos en albergue animal.**

Para la realización de las diferentes pruebas de efectividad de los productos adulticidas empleados en el programa para el control de mosquitos, así como para la medición de los impactos obtenidos con las diferentes intervenciones implementadas, y su permanencia, será necesario el uso de lotes de entre 150 y 300 mosquitos hembras de *Anopheles* según la prueba a realizar.

Dichos lotes podrán ser conformados a partir de la captura de mosquitos en albergues de animales, principalmente en corrales de ganado bovino, caprino y ovino.

Los lotes deberán estar constituidos por hembras capturadas de una misma especie, preferentemente alimentadas con sangre y colocadas en vasos de cartón limpios en un número máximo de 30 mosquitos por vaso, para evitar se maltraten por la falta de espacio, serán colocados en una caja con algodones humedecidos con agua azucarada y cubiertos con una franela húmeda.

Las hembras colectadas por este medio deberán ser utilizadas en las pruebas dentro de las siguientes 12 horas, en caso contrario los lotes serán desechados. Esta actividad quedará registrada en el cuadro correspondiente en el formato **E-1A** clave **SIVA 0203004** (Anexo V).

## ☀ Pruebas Biológicas de Pared

Esta evaluación, permite al entomólogo medir el tiempo de efecto de un insecticida de acción residual, aplicado mediante las técnicas de rociado tradicional con bomba Hutson ó de rociado rápido con motomochila; sobre los diferentes materiales de construcción de las viviendas tales como adobe, madera, otate, concreto, tabique, etc. (Figura 30 y 31); así como sobre textiles impregnados como mosquiteros y pabellones (Figura 32), expresada mediante los porcentajes de mortalidad de mosquitos, obtenidos a diferentes edades del rociado ó impregnación.

La prueba consiste en la exposición de mosquitos a las diferentes superficies impregnadas ó rociadas en una vivienda, empleando para ello conos de acetato colocados sobre las diferentes superficies, con el cuidado de no provocar a las superficies agresiones de consideración ó bien contaminar los materiales empleados con insecticida.



Figura 30. Cono en viga de madera.



Figura 31. Cono en pared de tabique.



Figura 32. Cono en Pabellón impregnado.

El número de mosquitos requerido dependerá de los tipos de superficies a evaluar considerando la colocación de al menos cuatro conos por cada tipo de material existente en la vivienda, así como de un cono testigo por superficie evaluada.

Los mosquitos para las pruebas deberán ser hembras de la misma especie capturadas durante la noche anterior a la prueba en la misma fuente, en algún albergue animal, por medio de cebo-humano ó bien cuando las densidades son altas pueden capturarse durante la mañana hembras alimentadas en refugios naturales.

La vivienda para la prueba deberá ser seleccionada al azar considerando como único criterio la que presente el mayor número de materiales de construcción presentes en la localidad.

En el caso de la evaluación de pabellones, se seleccionaran una vivienda considerada palúdica y otra no palúdica en las que se seleccionara un pabellón mismo que será marcado ya que el seguimiento ya sea de superficie rociada ó de pabellón impregnado se realizara siempre en las mismas casas.

Una vez seleccionada la vivienda serán colocados en cada uno de los materiales cuatro conos, fijados de tal manera que no se provoque ninguna agresión sobre el rociado; así mismo, se colocaran cuatro conos sobre superficies no rociadas con el propósito de validar los resultados obtenidos sirviendo como testigos.

En el caso de los pabellones se colocarán cuatro conos, uno en cada una de las paredes del pabellón, tomando en cuenta que siempre se considere la pared por donde la gente entra al pabellón la cuál por el uso presenta la mayor agresión, de igual manera será colocado un cono sobre una maya de tul sin exposición a insecticida como testigo.

En el formato de registro **E-BP** (Anexo VII), se anotaran los datos básicos de la localidad de estudio, el número de identificación de la vivienda evaluada, así como los datos correspondientes a las condiciones ambientales, la fecha del rociado y su edad en días ó en su defecto, la fecha de instalación en el caso de mallas ó pabellones.

Para estos últimos se anotará también si el pabellón ha sido lavado, el número de veces y la fecha aproximada del último lavado.

En cada uno de los conos instalados, se introducirán diez mosquitos (Figura. 33), registrando la hora exacta de la entrada del último de ellos en cada cono, a partir de ese momento se contarán 30 minutos de exposición para cada uno de tal manera que casi al cargar el ultimo cono se iniciara la extracción de los mosquitos del primero de ellos.

De la misma manera serán introducidos diez mosquitos en los conos colocados como testigos, es recomendable no utilizar los mismos materiales (tubo suctor y conos) empleados en la exposición de mosquitos a las superficies tratadas, para evitar contaminación ya que no debe registrarse mortalidad en los mosquitos de los grupos testigos, de ser así la prueba será invalidada y tendrá que repetirse.



Figura. 33. Colocación de mosquitos en los conos.

Transcurridos los 30 minutos, todos los mosquitos incluyendo los caídos serán sacados de los conos y colocados en vasos de recuperación debidamente rotulados, señalando en el vaso el número de cono al que corresponde, así como la superficie evaluada (Figura 34).



Figura. 34. Colocación de mosquitos en vasos de recuperación.

El número de mosquitos caídos por cono será registrado también en el formato E-BP; la mortalidad final será establecida diez horas posteriores a la realización de la prueba.

## BIBLIOGRAFIA

Dantur Juri, María Julia., Zaidenberg Mario y Almirón Walter. 2003. Fluctuación Estacional de *Anopheles (Anopheles) pseudopunctipennis* (Diptera:Culicidae) en un área Palúdica de Salta, Argentina. *Entomol. Vect.* 10(4):457-468.

Fleming, Glenn., 1998. *Biología y Ecología de los vectores de la Malaria en las Américas*. O.P.S 54 pp.

González Obando Ranulfo. 2005. Efecto del criadero sobre la duración del ciclo de vida y productividad de *Anopheles albimanus* Wiedmann (Diptera: Culicidae). *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*. 6(1):1-6.

Llorente Bousquets J. et all., 1996., *Biodiversidad, taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una Síntesis de su Conocimiento*. U. N. A. M. 9 Instituto de Biología. 660 pp.

Manguin S., D. R. Roberts, E. L. Peyton, E. Rejmankova and J. Pecar. 1996. Characterization of *Anopheles pseudopunctipennis* larval habitats. *J.Am. Mosq. Control. Assoc.* 12(4):619-626.

Morón M. A. y Terrón R. A., 1988., *Entomología Práctica*. Publicación 22. Instituto de Ecología, A. C. 504 pp.

N. R. H. Burgess and G. O. Cowan, 1993., *Medical Entomology*. Chapman and may Medical 144 pp.

O.P.S. 1988., *Necesidades para la Educación y el Adiestramiento de Entomólogos Médicos en las Américas*. Cuaderno Técnico No.16 Organización Panamericana de la Salud 36 pp.

O.P.S. *Procedimientos e indicadores entomológicos para la toma de decisiones en control vectorial en malaria en localidades seleccionadas*. Anexo 11.

Pratt, H.D. et all., 1964. Estudio y Control de Mosquitos de Importancia en Salud Publica. O.P.S. Publicaciones Científicas No. 107 39 pp.

Rejmankova E., Y. Rubio-Palis and L. Villegas. 1999. Larval hábitats of Anophelinae mosquitoes in the upper Orinoico, Venezuela. Journal of Vector Ecology. 24(2):130-137.

Richard F. Darsie, JR. 1996. A Survey and Bibliography of the Mosquito Fauna of Mexico (Diptera: Culicidae). Journal of the American Mosquito Control Association, 12(2):298-306.

Secretaria de Salud. 2008. Programa de Acción Específico 2007-2012 Paludismo. Primera Edición. Secretaria de Salud. Lieja 7, Col. Juárez

Wilkerson, Richard C. et all., Clave Ilustrada Para la Identificación de las Hembras de Mosquitos Anofelinos de México y Centroamérica. 47pp.

Yasmín Rubio-Palis, Cristóbal Menare, Andrés Quinto, Magda Magris, Manuel Amarista. 2005. Caracterización de criaderos de anofelinos (díptera: Culicidae) vectores de malaria del Alto Orinoco, Amazonas, Venezuela. Entomotropica Vol. 20(1):29-38.



## **ANEXOS**

Los formatos incluidos corresponden a imágenes de los formatos originales, por lo que solo son ilustrativos.

	Localidad de Referencia		Río
	Escuela		Arroyo Permanente
	Iglesia		Arroyo Temporal
	Panteón		Laguna
	Unidad de Salud		Manantial
	Notificante		Pozo a Cielo Abierto
	Cancha Deportiva	<b>C-1</b>	Criadero y Numero.
	Carretera Pavimentada		Criadero positivo
	Camino de Terracería		Refugio Natural Negativo
	Brecha		Refugio Natural Positivo
	Cerro		Casa Numero
	Campos de Cultivo		Num. Casos por Año

Anexo I. Simbología comúnmente empleada en la elaboración de Croquis de localidades palúdicas.





<p><b>(POSS) Persona Operativa de los Servicios de Salud que realiza el servicio</b></p> <p>Código FOSS (CLUES o Brigada): <input type="text"/></p> <p>Código POSS: <input type="text"/></p> <p>Nombre: <input type="text"/></p> <p>Nombre: <input type="text"/></p>	<p>_____ Firma</p>
<p><b>(POSS) Persona Operativa de los Servicios de Salud que realiza el servicio</b></p> <p>Código FOSS (CLUES o Brigada): <input type="text"/></p> <p>Código POSS: <input type="text"/></p> <p>Nombre: <input type="text"/></p> <p>Nombre: <input type="text"/></p>	<p>_____ Firma</p>
<p><b>(POSS) Persona Operativa de los Servicios de Salud que supervisa el servicio</b></p> <p>Código FOSS (CLUES o Brigada): <input type="text"/></p> <p>Código POSS: <input type="text"/></p> <p>Nombre: <input type="text"/></p> <p>Nombre: <input type="text"/></p>	<p>_____ Firma</p> <p>Supervisión: Directa <input type="radio"/> Indirecta <input type="radio"/></p>



SIVA 0203003 E-1C

Secretaría de Salud 09  
 Programas Preventivos y Control de Enfermedades 02  
 Paludismo 02

02 Servicio o Intervención por Vectores y otros Artrópodos  
 03 Vigilancia Entomológica  
 003 Estudio de Larvas y Pupas de Anopheles en Criaderos

FOLIO SIVA E-1C: —

Municipio: \_\_\_\_\_ Código: [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Localidad: \_\_\_\_\_ Código: [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

**Datos ambientales**

Fecha: día / mes / año      Temperatura: Mínima: \_\_\_\_°C      Humedad relativa: \_\_\_\_hs. \_\_\_\_%      Lluvia durante: El día  / El estudio   
 Máxima: \_\_\_\_°C  
 Media: \_\_\_\_°C

**Captura de larvas por calada**

No. de calada	No. del criadero						
1		31		61		91	
2		32		62		92	
3		33		63		93	
4		34		64		94	
5		35		65		95	
6		36		66		96	
7		37		67		97	
8		38		68		98	
9		39		69		99	
10		40		70		100	
11		41		71		101	
12		42		72		102	
13		43		73		103	
14		44		74		104	
15		45		75		105	
16		46		76		106	
17		47		77		107	
18		48		78		108	
19		49		79		109	
20		50		80		110	
21		51		81		111	
22		52		82		112	
23		53		83		113	
24		54		84		114	
25		55		85		115	
26		56		86		116	
27		57		87		117	
28		58		88		118	
29		59		89		119	
30		60		90		120	

**Resumen**

No. de criadero	Caladas			Total de larvas capturadas	Promedio de larvas por calada positiva	Presencia de pupas			
	Totales	Positivas	Positivas (%)			Nulla	Escasa	Moderada	Abundante
						<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
						<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
						<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Anexo III. Formato E-1C clave SIVA 0203003 Registro de captura de larvas de Anofelinos (Anverso).



 SECRETARÍA DE SALUD		<b>SIVA 0203007 - E-1A-RN</b>	Secretaría de Salud 09 Programas Preventivos y Control de Enfermedades 02 Paludismo 02													
00 Servicio o Intervención por Vectores y otros Artrópodos 02 Vigilancia Entomológica 007 Captura de Adultos de Anopheles en Refugios Naturales		<b>FOLIO SIVA E-1A-RN: —</b>														
Municipio: _____		Código: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>														
Localidad: _____		Código: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>														
<b>Datos ambientales</b>																
Temperatura: Mínima: _____°C		Humedad relativa: _____ hrs. _____ %														
Máxima: _____°C		Lluvia durante: El día <input type="radio"/>														
Media: _____°C		La captura <input type="radio"/>														
<b>Captura en refugios naturales</b>																
No. de refugio	Fecha	Evaluado		Hora de inicio	Hora final	Horas empleadas	An. alb.		An. pp.		Con sangre		Sin sangre		Total especie	Total refugio
		Positivo	Negativo				Captura	%	Captura	%	Captura	%	Captura	%		
		<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	hh. : mm.	hh. : mm.		<input type="radio"/>									

Anexo IV. Formato **E-1A-RN** clave **SIVA 0203007** Captura de Anofelinos Adultos en Refugios Naturales (Anverso).











**SIVA 0203005 - E-PB** **FOLIO SIVA E-PB:** -

02 Servicio o Intervención por Vectores y otros Artrópodos  
 04 Control Vectorial  
 002 Pruebas Biológicas y Residualidad

**Secretaría de Salud** 09  
 Programas Preventivos y Control de Enfermedades 02  
 Paludismo 02

---

Municipio:  Código:  Localidad / Colonia:  Código:

Código DDSS/CNEP:

**Datos ambientales**

Temperatura: Mínima:  °C  
 Máxima:  °C  
 Media:  °C

Humedad relativa:  hrs.  %  
 Lluvia durante: El día  La prueba

**Anopheles utilizados**

Especie:   
 Procedencia:   
 Localidad / Colonia:

**Fuente de captura:**

Cebo humano   
 Albergue de animales

Insecticida:  Dosis:

Superficie a evaluar	Fecha de instalación	Uso en días	Lavado		Mosquitos expuestos				Registro de mortalidad			
			Número de veces	Último lavado	Tiempo de exposición				Tiempo de mortalidad			
	dd. / mm. / aaaa.			del. / mm. / aaaa.								
Téjago o hilito	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Piedra	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Adobe o barro	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Palma o bambú	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Madera	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Cartón	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Metal	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Albano	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Lámina	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Papelón	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
Mosquitero	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>								
<b>Total</b>												
<b>1</b>												
<b>2</b>												
<b>3</b>												
<b>4</b>												
<b>Total</b>												
<b>1</b>												
<b>2</b>												
<b>3</b>												
<b>4</b>												
<b>Total</b>												
<b>1</b>												
<b>2</b>												
<b>3</b>												
<b>4</b>												
<b>Total</b>												
<b>1</b>												
<b>2</b>												
<b>3</b>												
<b>4</b>												
<b>Total</b>												

Anexo VII. Formato **E-PB** Formato de registro de Pruebas Biológicas de Pared.

