

PRESENCIA DE *Anopheles (Nyssorhynchus) benarrochi* EN ÁREAS DE SELVA CON TRANSMISIÓN MALÁRICA*

Roberto Fernández L¹, George Schoeler¹, Jeffrey Stancil¹

RESUMEN

Objetivos: Demostrar la presencia de *An. (Nys.) benarrochi* en áreas de transmisión malárica, donde es frecuentemente identificado como *An. evansae*. **Materiales y métodos:** Se colectaron mosquitos en San José (Pucallpa), Muniches y Andoas (Alto Amazonas), localidades con transmisión de malaria. Con estos mosquitos se efectuaron crías biológicas en laboratorio con la finalidad de obtener material de estudio como son exuvias de larvas, pupas, adultos hembras y machos. Se efectuaron montajes de exuvias de larvas y pupas asociados con sus respectivos adultos, disecciones de las genitales de machos y biometría de los adultos machos y hembras. **Resultados:** Además de las verificaciones efectuadas en el campo, basadas en el estudio de inmaduros y adultos, las crías biológicas efectuadas confirmaron la presencia de *An. benarrochi* en las localidades mencionadas. Asimismo, confirmaron también la existencia de gran variabilidad de los caracteres morfológicos externos, que pueden inducir al error en las identificaciones. **Conclusiones:** En las áreas maláricas estudiadas, la especie identificada como *An. (Nys.) evansae* corresponde a *An. (Nys.) benarrochi*, demostrado con nuestros estudios. Dada la variabilidad de caracteres que dificultan la identificación de las especies afines, es necesario realizar estudios completos con la finalidad de conocer la fauna local de anofelinos.

Palabras clave: Malaria; *Anopheles*: Culicidae; Vector; Taxonomía; Perú (fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Objective: Determine the presence of *An. (Nys.) benarrochi* in those malaria transmission areas where it is often identified as *An. evansae*. **Material and methods:** Collections were conducted in San José (Pucallpa), Muniches and Andoas (Alto Amazonas), localities where malaria transmission occurs. Mosquitoes were reared in the laboratory where larval and pupal exuviae were preserved along with corresponding adults specimens, dissection of male genitalia and biometry of male and female adult mosquitoes was also conducted. **Results:** The presence of *An. benarrochi* in the above localities was confirmed with both field collected adults and laboratory-reared specimens. Considerable morphological variability was noted in the laboratory-reared specimens, which has likely contributed to previous incorrect identifications. **Conclusions:** Based on these studies, the species identified as *An. (Nys.) evansae* correspond to *An. (Nys.) benarrochi*, in these malaria-endemic areas. Morphological variability makes identification of similar species difficult, thus it is necessary to conduct thorough studies to know local fauna of anophelines.

Key words: Malaria; *Anopheles*: Culicidae; Vector; Taxonomy; Peru (source: DeCS BIREME).

INTRODUCCIÓN

En el Perú, hasta el año 1990, predominaba la ocurrencia de casos de malaria causada por *Plasmodium vivax* en más de 99%, las otras dos especies, *P. falciparum* y *P. malariae*, ocurrían en porcentajes inferiores. Instalada en la Amazonía peruana (regiones de salud de Loreto y Ucayali), la presencia de *P. falciparum*, la fórmula parasitaria para estas dos especies en los últimos cinco años se presenta de la siguiente manera: 1995: 43 178

casos (80% de *P. vivax*); 1996: 100 621 casos (70% de *P. vivax*); 1997: 89 485 casos (57% de *P. vivax*); 1998: 75 015 casos (69% de *P. vivax*); 1999: 50 447 casos (75% de *P. vivax*) y en el año 2000: 30 789 casos (75% de *P. vivax*). Es importante señalar que la presencia de *P. falciparum*, se encuentra en mayor porcentaje en la Región de Salud de Loreto, donde se registra para todos los años mencionados una ocurrencia promedio de 33% de casos; mientras que en la Región de Salud de Ucayali, mantiene una incidencia promedio de 2%¹.

¹ Instituto de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los Estados Unidos (NMRC).

* Este trabajo ha sido financiado por la Unidad de Trabajo (Work Unit 6000 RAD1 U B0303). Las opiniones y afirmaciones contenidas aquí son propias de los autores y no deben interpretarse como posición oficial o que reflejan la opinión del Departamento de Marina o del servicio naval de los Estados Unidos.

En un estudio longitudinal efectuado en los años 1990-1991, por el Instituto de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Marina de los Estados Unidos (NMRC) en Andoas y localidades vecinas de la cuenca del río Pastaza se identificaron varias especies de *Anopheles*² y se efectuaron algunas crías verificándose la presencia, entre otros, de *An. benarrochi* (Wilkerson, comunicación personal).

En la localidad de Andoas, endémica a malaria por *P. vivax*^{3,4}, se detecta en el mes de setiembre de 1992, un brote de casos de *P. falciparum*. Pese a las acciones de control efectuadas por la Región de Salud de Loreto, los casos de malaria por *P. falciparum* se incrementaron y extendieron a lo largo del río Pastaza y tributarios, llegando con el tiempo a otras localidades de la Amazonía.

Un estudio longitudinal sobre la malaria, realizado en Ecuador y Perú en el año 1993, señala entre otras especies, la abundancia estacional en Madre de Dios de *An. evansae*, con 59% del total colectado. Asimismo, hacen crías biológicas para determinar el ciclo biológico de *An. evansae* y *An. rangeli*, no dan caracteres de las larvas y señalan el valor de la capacidad vectorial de esta especie en 2,9. Igualmente, señalan la presencia de *An. benarrochi*, con una densidad de 5%⁵.

En el año 1994, en la localidad de Munichis (área hospitalaria de Yurimaguas), endémica a malaria, se efectuó un muestreo de anofelinos con investigadores del *United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases* (USAMRIID) con el propósito de realizar un ensayo de campo con ELISA (*dipstick*), identificando entre otros a *An. benarrochi*. Un año más tarde en esta misma localidad, se verificó la presencia de *An. benarrochi*. (C. Flores, comunicación personal).

En el año 1995, en apoyo a la Región de Salud de Ucayali, en el laboratorio del NMRC, se procesaron mosquitos para diagnóstico de circunsporozoitos de malaria. Los principales mosquitos identificados fueron *An. evansae* (60%), *An. rangeli* (18%), *An. nuneztovari* (16%) y otros (6%). En el año 1977, esta misma región de salud, como resultado de la "Vigilancia Anofelínica para el Control de la Malaria en el distrito de Campo Verde" realizada en áreas de brote de malaria por *P. falciparum*, identifica *An. evansae* 85,46%, *An. rangeli* 11,30% y otros 3,16 % (L. Sánchez, comunicación personal).

En el año 1997, en apoyo al área hospitalaria de Yurimaguas, personal del NMRC realizó la capacitación del personal técnico de campo en el Hospital Base de San Lorenzo (río Marañón). Los trabajos de campo se realizaron en localidades del río Pastaza, afluente del río Marañón, y la especie predominante en más de 70% fue *An. benarrochi*.

Es importante señalar que la identificación de las especies del género *Anopheles*, subgénero *Nyssorhynchus*, en la que se encuentran la mayoría de las especies vectoras, siempre han presentado mucha dificultad en la identificación de los mosquitos adultos, en razón de la gran similitud y variabilidad morfológica intraespecie que presentan.

Por otra parte, la distribución del *An. (Nys.) evansae* está siendo revisada; hasta hace algunos años su distribución estaba considerada en casi toda Sudamérica^{6,7} y en la actualidad esta especie estaría circunscrita al sudeste brasileño, norte argentino y sudeste boliviano⁸ (Wilkerson, comunicación personal) y no estaría presente en nuestro país; mientras que la distribución de *An. (Nys.) benarrochi* está circunscrita principalmente en el área amazónica del continente Sudamericano^{6,7,9,10}.

En nuestro país, el *An. (Nys.) benarrochi* está ampliamente distribuido en toda nuestra Amazonía^{11,12}, principalmente en la selva baja (río Marañón) y también se ha notificado en la selva alta de San Martín (Yantaló). Esta especie se caracteriza por ser la de mayor antropofilia, densidad y domesticidad y por ser de actividad bimodal¹²⁻¹⁴. Sin embargo, es necesario verificar su identificación con estudios completos principalmente en aquellas áreas donde se ha identificado *An. evansae*, motivo que llevó a realizar la presente investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

En abril del año 1999, se efectuaron colectas de anofelinos en la localidad de San José, región de salud de Ucayali, con el propósito de efectuar crías en laboratorio que nos permitieran contar con material de larvas, pupas, adultos machos y hembras para efectuar la verificación de la presencia del *An. benarrochi* en áreas donde frecuentemente es identificado como *An. evansae*.

Las hembras capturadas fueron alimentadas en el campo sobre gallina y luego transportadas al laboratorio del NMRC de Iquitos, donde personal técnico efectuó las crías respectivas de la siguiente manera: Después de 3 días de alimentados los mosquitos, se les somete a los vapores de acetato de etilo hasta que caigan aturridos, casi desmayados. En estas condiciones y bajo un microscopio de disección se les secciona un ala y luego se transfiriere a una placa petri conteniendo una capa de papel toalla humedecido donde se espera que se recuperen. Luego, con sumo cuidado se transfieren individualmente a vasos plásticos que se encuentran revestidos internamente con papel toalla y que, además, contienen un tercio de agua de su capacidad con la finalidad de obtener los

huevo-cillos de cada mosquito. Estos vasos fueron codificados convenientemente y en adelante este código identificará a la descendencia de una hembra en particular. Al eclosionar los huevo-cillos se les proporciona diariamente alimento para peces en polvo (*Tetra-Min*[®]) y luego se transfieren a bandejas más grandes hasta que su desarrollo alcance el IV estadio larval; estas larvas son individualizadas para conseguir exuvias de larva IV y de las pupas respectivas. Los adultos (machos y hembras) eclosionados se mantienen vivos por 24 horas, al cabo del cual son muertos con acetato de etilo y montados en triángulos de cartulina y rotulados con el código respectivo. Las exuvias fueron preservadas en montajes definitivos y los machos se preservaron junto con su genitalia¹⁵.

En cuanto a los machos y hembras adultos criados en laboratorio, en la identificación de la especie se consideró, entre otros caracteres, el color general de las escamas alares que por lo general son más amarillentas. Sin embargo, no consideramos como carácter diferencial el color oscuro de las escamas alares de la vena 4, generalmente vista por el envés, en razón de que muchas especies del subgénero presentan dicha característica. Igualmente, se efectuó la biometría de tres de los caracteres más predominantes en la identificación de los adultos hembras de los anofelinos como son: relación de la longitud de la mancha humeral clara respecto de la longitud de la prehumeral oscura (HP/PHD), relación de porcentaje de la subcosta clara, respecto de la mediana oscura (SCP/MD) y la relación de porcentaje de la mancha oscura del segundo tarso posterior, respecto de la longitud del segmento (III2). También se realizó estudios de la genitalia de los machos, los que corresponden con las descripciones que existen de la especie en la bibliografía disponible.

Los caracteres morfológicos de adultos e inmaduros responden a las nuevas concepciones que hay al

respecto¹⁶. Las larvas y adultos fueron identificados usando claves dicotómicas^{7,9,17-21}.

RESULTADOS

Se confirmó la presencia de *An. (Nys.) benarrochi* en ambos estadios en las localidades de Pucallpa, Yurimaguas y Andoas a partir de las verificaciones de campo que se efectuaron en dichas localidades, así como de las crías efectuadas, tomando en cuenta la coloración alar y los caracteres morfológicos externos de los adultos y de las larvas.

Los caracteres diferenciales más importantes en las larvas, detallados en la descripción de la especie^{9,22}, fueron corroborados en las crías efectuadas. Estos caracteres se refieren principalmente a la longitud del pelo antenal respecto a su punto de inserción, el cual es dos o más veces la longitud de la antena respecto de la longitud del punto de inserción para el caso de *An. benarrochi* y de uno o menos para el caso de *An. evansae* y de las otras especies del subgénero *Nyssorhynchus*, sección *Albimanus*, subgrupo *Oswaldo*⁸.

Pelos clipeales 2C o internos simples, pero con cerdocidad lateral, simples y cortos, que se implantan generalmente a lo largo de sus 2/3 apicales, separados por una distancia de 1,6 veces su longitud respecto de 3C. 3C es ligeramente más pequeño que 2C, con numerosas ramas que se disponen mayormente en la base del tercio medio; estas ramas pueden ser simples bifidas o trifidas, largas que pueden alcanzar el ápice como la palma de una mano. C4 bifido o trifido alcanza una longitud en promedio de 53% respecto de la longitud de C4-C3. Antenas con espículas espiniformes, dispersas, pelo antenal implantado en la base (28% de su longitud), pelo antenal midiendo más de 1,7 veces la longitud del ancho de la antena al nivel de su punto de inserción (Tabla 1, Figura 1).

Tabla 1. Estadística descriptiva de *Anopheles (Nyssorhynchus) benarrochi*, basado en caracteres morfológicos externos, importantes en la identificación de larvas.

Carácter	Número	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Stand	Varianza
C3/C2	32	1,1	2,2	1,6375	0,313091	0,0980
LC4(C4-C3)	27	40	86	53,5	10,58963	112,1346
LA/Papi	30	25	39	28,9	2,9867524	8,9206
Pa/pi	27	1,7	2,2	1,915185	0,187399	0,0351

C3/C2= Relación de distancia entre C3-C2/C2-C2.

LC4(C4-C3)= Relación de porcentaje entre long. C4 y long. (C4-C3)

LA/Papi= Relación de porcentaje long. Antena con punto de inserción de pelo antenal.

Pa/pi= Relación de long. de pelo antenal con long. de punto de inserción.

Tabla 2. Estadística descriptiva de *Anopheles (Nyssorhynchus) benarrochi*, basado en caracteres morfológicos externos, importantes en la identificación de adultos.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Stand	Varianza
Hembras						
HP/PHD	62	1,4	9	3,648	2,016	4,062
SCP/MD	62	7,7	38,9	24,013	7,289	53,125
IIHL	61	20,4	49,1	33,819	8,939	79,9
Machos						
HP/PHD	27	1	10	3,981	2,287	5,229
SCP/MD	27	17,5	57,9	42,108	10,216	104,358
IIHL	26	23,5	48,2	36,457	7,884	62,16

HP/PHD = Relación de longitud entre la mancha clara humeral y la pre humeral oscura.
 SCP/MD = Relación de porcentaje entre la mancha sub costa clara respecto de la mancha mediana oscura.
 IIHL = Porcentaje de la mancha oscura del tarso posterior 2 respecto de la long. del mismo.

Igualmente las pupas observadas demostraron correspondencia con las características diferenciales que se señalan para *An. benarrochi*, respecto de las otras especies afines.

En lo que a los adultos se refiere las crías demostraron la existencia de gran variabilidad en cuanto a los principales caracteres morfológicos utilizados para la identificación. En la tabla 2 se puede observar en detalle la biometría efectuada, hecho que marca diferencia sustancial con lo que señala la bibliografía disponible. Así la relación de HP/PHD en los ejemplares hembras da un rango de 1,4 -

9 y en los ejemplares machos de 1-10 respectivamente; mientras que la relación SCP/MD en las hembras da un rango de 7,7-38,9% y en los machos de 17,5 - 57,9%; finalmente la relación de III-2 de las hembras da un rango de 20,4 - 49% y para los machos de 23,5 - 48,2%.

La genitalia de los machos criados presenta la claspeta ventral pequeña, con el ápice rugoso, ligeramente ensanchado y de extremos levemente agudos, con el lóbulo basal angosto (Figura 2). Estas características diferencian a la especie de las otras y coinciden con las descripciones de *An. benarrochi* de otros autores^{9,10,22}.



Figura 1. Pelos clipeales, características de larva IV de *An. benarrochi*.



Figura 2. Genitalia de *An. benarrochi*, con el clasper ventral característico.

DISCUSIÓN

En la actualidad, en la Amazonía peruana existen áreas donde la malaria es transmitida por *An. darlingi* y otras donde la transmisión de la enfermedad está atribuida a otros vectores; según lo hallado, el *An. benarrochi* sería un probable vector en esta zona. Otros autores lo consideran como vector principal de la malaria por su gran antropofilia, densidad, domesticidad y susceptibilidad^{11,12,14}, cuyo centro de dispersión se encuentra en el bajo Marañón y afluentes y se extiende en focos aislados en los ríos Ucayali, Amazonas y tributarios. Señalan también su carácter endófago-exófilo, con dos picos de actividad crepuscular y con densidades de hasta 1300 picaduras hombre-noche. Esta interpretación de vector principal se basaba más en evidencias epidemiológicas y no en verificaciones científicas; a diferencia de lo que ocurre en Venezuela, donde la especie nunca se presenta en grandes densidades y, por lo tanto, no ha sido implicado como vector²¹.

Uno de los problemas al identificar las hembras del subgénero *Nyssorhynchus* sección *Albimanus*, grupo *Oswaldoi*, es la gran variabilidad y similitud de los caracteres morfológicos externos. Contribuye a ello también el hecho de que las claves disponibles son incompletas y no brindan información suficiente sobre esta variabilidad, lo que induce a cometer errores.

Uno de los caracteres más usados en la discriminación de las especies de la sección *Albimanus* es, sin duda, la proporción de la mancha oscura del tarso III-2 respecto de la longitud de éste; en este estudio se encontró con un rango de 20,4 a 49,1 diferente a lo señalado por Faran⁹ y Faran y Linthicum⁷, quienes señalan un rango de 0,36 a 0,55%; Delgado y Rubio-Palis¹⁸ señalan más de 40%, o Rubio-Palis²¹ que refiere > 45, o Calderón²⁰ que considera un rango de 40 a 55%, o Quiñonez¹⁰ que registra un rango de 0,17 a 0,33%. Llama la atención el rango mínimo que presenta Quiñonez¹⁰, inferior al que se halló en

este estudio y marcadamente inferior respecto a los demás, hechos que permiten concluir que en la actualidad en algunas zonas se está identificando al *An. benarrochi* como si fuera *An. oswaldoi*, principalmente en la cuenca del Putumayo. Sin embargo, también hay que resaltar que la descripción de los ejemplares aquí estudiados presentan un rango mayor, marcadamente diferente a la que presenta Quiñonez¹⁰, pero sí cercana a la de los demás autores mencionados, hecho que puede confundir con especies como *An. strodei*, que en la clave de Calderón²⁰ está junto a *An. benarrochi* y, por supuesto, con *An. evansae*, a quien se le asigna entre 20 y < 35% de oscuro basal. Igualmente, Delgado y Rubio-Palis¹⁸ consideran para *An. benarrochi* por encima del 40% de negro basal en el tarso III2 y por debajo consideran a *An. oswaldoi*, *An. nuneztovari* y *An. strodei*; o Rubio-Palis²¹ que considera > 45 de oscuro basal en el III2 para *An. benarrochi* y *An. aquasalis* (Tabla 3).

Las características de las manchas alares también presentan gran variabilidad. La relación HP/PHD varió entre 1,4 - 9, cuyo rango mínimo es menor que lo señalado por Quiñonez¹⁰ y mayor a lo señalado por Delgado y Rubio-Palis¹⁸ y Rubio-Palis²¹ y con el rango mayor marcadamente superior a lo señalado por los autores antes mencionados. Igualmente, la relación SCP/MD presenta un rango de 7,7 a 38,9 con rango mínimo menor y un rango máximo menor también a lo señalado por los otros autores. Es importante señalar las características de la coloración de las manchas claras del ala, las cuales tenían tendencia al amarillo, principalmente en las venas anteriores de los ejemplares estudiados.

Respecto a las larvas, las relaciones consideradas en el estudio, principalmente las de la cabeza, también presentan rangos de variación, pero que en términos generales corresponden a las características señaladas para la especie, por lo que es necesario siempre relacionar por ejemplo morfología de los clipeales 2 y 3 con las características de la relación longitud de pelo antenal con punto de inserción de este.

Tabla 3. Cuadro comparativo morfológico de tres caracteres importantes en la identificación de *Anopheles (Nyssorhynchus) benarrochi* según diferentes autores.

	Cova, Sutil ¹⁷	Rubio- Palis ²¹	Faran- Linthicum ⁷	Delgado- Palis ¹⁸	Calderón ²⁰	Consoli- Lorenzo ¹⁹	Quiñonez et al. ¹⁰	Fernández et al.
HP/PHD	Grande	0,7-2,5	2,5 o más	0,7 - 2,5	Grande	Grande	1,7 - 3,3	1,4 - 9
SCP/MD	-	-	< 0,5	-	-	< 0,5	0,10 - 0,55	7,7 - 38,9
III-2	< 1/2 basal	>45	0,36 - 0,55	> 40	40 - 55	más de 20	0,17 - 0,33	20,4 - 49,1

HP/PHD = Relación de longitud entre la mancha clara humeral y la prehumeral oscura.

SCP/MD = Relación de porcentaje entre la mancha sub costa clara respecto de la mediana oscura.

IIHL = Porcentaje de la mancha oscura del tarso posterior 2 respecto de la long. de este.

En conclusión, se demuestra que en las áreas de transmisión malárica, donde frecuentemente se identifica a *An. evansae*, esta especie corresponde a *An. (Nys.) benarrochi*, confirmado por estudios de genitalia de machos y quetotaxia de las larvas de IV estadio.

Se recomienda actualizar el mapa de distribución de los anofelinos basado en estudios completos que incluyan el estudio de adultos machos y formas inmaduras (huevos, larvas, pupas), la biometría de las diferentes características usadas en taxonomía y el estudio de la genitalia de machos.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Guillermo Calderón F., a la Dra. Carmen Flores, por sus observaciones y valiosas sugerencias que enriquecen el manuscrito. Al personal del laboratorio del NMRCD Iquitos, que colaboró con la cría de los mosquitos y al personal del MINSa-Pucallpa por su cooperación en las colectas de campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Ministerio de Salud del Perú.** Dirección General de Salud de las Personas - Estrategia Sanitaria Nacional Prevención y Control de Enfermedades Metaxénicas y otras Transmitedas por Vectores. Lima: MINSa; 2001.
2. **Need J, Rogers E, Phillips I, Falcón R, Fernández R, Carbajal F, et al.** Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Captured in the Iquitos area of Peru. *J Med Entomol* 1993; 30(3): 634-38.
3. **Franke ED, Lucas CM, San Román E.** Antibody response of humans to the circumsporozoite protein of *Plasmodium vivax*. *Infect Immun* 1991; 59(8): 2836-38.
4. **Franke ED, Lucas CM, San Roman E, Wirtz RA.** Prevalence of antibody to the variant repeat of the circumsporozoite protein of *Plasmodium vivax* in Peru. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 46(6): 708-10.
5. **Calderón FG, Ordóñez-González J, Kroeger A.** Ecología y comportamiento de vectores. En: Kroeger & Alarcón, editores. *Malaria en Ecuador y Perú y estrategias alternativas de Control*. Quito: Abya-Yala; 1993. 154-253.
6. **Knight LK, Stone A.** A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae). 2nd ed. Baltimore, Maryland: Edición Thomas Say Foundation Entomol Soc Am 1977; 6: 1-611.
7. **Faran ME, Linthicum KJ.** A handbook of the Amazonian species of *Anopheles (Nyssorhynchus) (Diptera: Culicidae)*. *Mosq Syst*, 1981; 13(1): 1-81.
8. **Peyton EL, Roberts DR, Pinheiro FP, Vargas R, Balderama F.** Mosquito collections from a remote unstudied area of southeastern Bolivia. *Mosq Syst* 1983; 15(2): 61-89.
9. **Faran ME.** Mosquito Studies (Diptera, Culicidae) XXXIV. A revision of the albimanus section of the subgenus *Nyssorhynchus* of *Anopheles*. *Contr Am Entomol Inst* 1980; 15(7): 1-215.
10. **Quiñonez ML, Harbach RE, Calle DA, Ruiz F, Erazo HF, Linton YM.** Variante morfológica de adultos hembras de *Anopheles benarrochi* (Diptera: Culicidae) en Putumayo, Colombia, *Biomédica* 2001; 21: 351-9.
11. **Calderón G, Curaca A, Llancari J, Napán M, Sipán F.** Distribución geográfica de los vectores de malaria en el Perú. *Rev Per Med Trop* 1974; 2(2): 88-91.
12. **Calderón FG, Fernández LR, Valle J.** Especies de la fauna anofelina, su distribución y algunas consideraciones sobre su abundancia e infectividad en el Perú. *Rev Per Epidemiol* 1995; 8(1): 5-23.
13. **Villanueva RC.** Identificación de cuatro especies de *Anopheles* en la selva peruana y breves observaciones experimentales sobre su ciclo evolutivo. *Rev Bras Ent* 1964; 11(1): 47-51.
14. **Ministerio de Salud del Perú.** Dirección General de Programas Especiales de Salud. Dirección de Erradicación y Control de Enfermedades Transmisibles. Programa Nacional de Erradicación de la Malaria en el Perú, Lima 1974.
15. **Pecor J, Gaffigan T.** Laboratory and field protocols. Washington, DC, USA: Walter Reed Biosystematic Unit, Smithsonian Institution; 1997, 4p.
16. **Harbach RE, Knight KL.** Taxonomists' Glossary of Mosquito Anatomy. New Jersey Plexus Publishing, Inc; 1980. 413pp.
17. **Cova-García P, Sutil E.** Claves gráficas para la clasificación de anofelinos de Venezuela. Maracay, Aragua, Venezuela: Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. División de Endemias Rurales, 1977.
18. **Delgado N, Rubio-Palis Y.** Identification of *Anopheles (Nyssorhynchus) (Diptera: Culicidae)* occurring in Western Venezuela. *Mosq Syst* 1993; 25(3): 222-30.
19. **Consoli RAGB, de Oliveira L.** Principais mosquitos de importancia sanitaria no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Fiocruz; 1994.
20. **Calderón FG.** Clave para identificar especies de *Anopheles (Diptera, Culicidae, Anophelinae)* del Perú (Adultos hembras). *Rev Per Ent* 1994; 37: 31-40.
21. **Rubio-Palis Y.** *Anopheles (Nyssorhynchus)* de Venezuela. Taxonomía, bionomía, ecología e importancia médica. Maracay Venezuela: Escuela de Malariología y Saneamiento Ambiental "Dr. Arnoldo Gabaldón" y el Proyecto Control de Enfermedades Endémicas; 2000.
22. **Gabaldón A, Cova-García P, López JA.** Estudios sobre Anofelinos. Serie II. *Anopheles (Nyssorhynchus) benarrochi*, una especie de la subserie *Triannulatus*. Ministerio de Salud. División de Malariología, 1941; 7: 3-24.

Correspondencia: Dr. Jeffrey Stancil
NMRCD, Programa de Vectores de Enfermedades.
Dirección: Av. Venezuela cuadra 36 s/n. Callao 2, Centro Médico Naval.
Teléfono: (511) 562-3848 anexo 133
Correo electrónico: stancil@nmrcd.med.navy.mil