

ARTÍCULO ORIGINAL

## ¿Existen condiciones que favorecen la reaparición del virus de la encefalitis equina venezolana en la Alta Guajira colombiana?

Cristina Ferro<sup>1</sup>, Jorge De las Salas<sup>1</sup>, Martha González<sup>2</sup>, Alberto Díaz<sup>1</sup>, Claudia Cabrera<sup>3</sup>, Zulibeth Flórez<sup>3</sup>, María Clara Duque<sup>1</sup>, Ligia Lugo<sup>1</sup>, Betsy Bello<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Virología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Laboratorio Departamental de Salud Pública de La Guajira, Secretaría de Salud Departamental, Riohacha, Colombia

**Introducción.** En los últimos 18 años, no se han vuelto a registrar epizootias de encefalitis equina venezolana en áreas con antecedentes históricos de epidemia (1925-1995) en la península de La Guajira.

**Objetivo.** Establecer si en la Alta Guajira colombiana se mantienen las condiciones que favorecen la reaparición de las cepas epizoóticas del virus de la encefalitis equina venezolana.

**Materiales y métodos.** La investigación se realizó en las localidades afectadas por la epidemia de 1995, y se evaluaron los siguientes aspectos: 1) abundancia y variación estacional de las poblaciones de los mosquitos vectores; 2) disponibilidad de mamíferos sensibles amplificadores del virus, y 3) conocimiento de los habitantes sobre la enfermedad y sus vectores.

**Resultados.** La mayoría de las especies de mosquitos, incluidas las de los vectores, se encontraron durante la estación lluviosa. *Aedes taeniorhynchus* y *Psorophora confinnis* presentaron relación con la precipitación y la temperatura. *Deinocerites atlanticus* estuvo siempre presente, independientemente de las condiciones climáticas. No se encontraron anticuerpos de tipo IgG en los sueros de humanos menores de 17 años, tampoco en los de los animales caprinos y bovinos analizados. En la encuesta sobre conocimientos, se detectó que la tercera parte de los encuestados recordaba la última epidemia y tenía conocimientos básicos sobre la enfermedad. Solamente 20 % de las familias poseía équidos y el 8 % estaba informado sobre la necesidad de vacunarlos.

**Conclusiones.** Se mantienen algunas condiciones epidemiológicas que eventualmente podrían favorecer la reaparición del virus, pero el número de equinos en riesgo es escaso, lo cual constituye el cambio más notable y lo que, aparentemente, ha impedido la reaparición del virus.

**Palabras clave:** virus de la encefalitis equina venezolana/epidemiología; encefalitis por arbovirus/prevención y control; vectores de enfermedades, estación climatológica, mamíferos, susceptibilidad a enfermedades, conocimientos, actitudes y práctica en salud.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2212>

### Do some conditions contribute to the reemergence of the Venezuelan equine encephalitis virus in the Colombian Alta Guajira?

**Introduction:** In the last 18 years, epizootics of Venezuelan equine encephalitis have not occurred in places with historic epidemic register (1925-1995) in the Guajira Peninsula, Colombia.

#### Contribución de los autores:

Cristina Ferro: diseño del estudio, codirección del proyecto, revisión de la literatura científica, participación en las actividades de campo y laboratorio, elaboración de la encuesta de conocimientos de la enfermedad, análisis de resultados, supervisión y confirmación de la determinación taxonómica de los mosquitos

Jorge De las Salas: determinación taxonómica de los mosquitos recolectados, estudio de formas inmaduras y análisis de datos

Martha González: evaluación serológica de la circulación viral en mamíferos sensibles y análisis de datos

Alberto Díaz: procesamiento de la información para análisis estadístico, construcción de modelos matemáticos y sugerencias para la discusión

Claudia Cabrera y Zulibeth Flórez: participación en las actividades de campo y análisis de la encuesta de conocimientos sobre la enfermedad

María Clara Duque: seguimiento de las muestras de suero tomadas para el estudio de evaluación serológica de la circulación viral y actualización de bases de datos y sugerencias para análisis de resultados

Ligia Lugo: participación en el diseño del estudio, codirección del proyecto, apoyo en el desarrollo de las actividades del estudio

Betsy Bello: diseño del estudio, participación en las actividades de campo y de laboratorio, apoyo en la elaboración y aplicación de la encuesta de conocimientos sobre la enfermedad, determinación y confirmación taxonómica de las especies de mosquitos

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

**Objective:** To assess if the Guajira Peninsula, Colombia, still maintains the epidemiological conditions for Venezuelan equine encephalitis virus reemergence.

**Materials and methods:** Research was carried out in places affected by the 1995 epidemic. We evaluated: 1) abundance and seasonal variation of vector mosquito populations; 2) availability of mammals that are potential amplifiers of the virus, and 3) knowledge among the community about the disease and its vectors.

**Results:** Most of the 16 mosquito species were found during the rainy season. *Aedes taeniorhynchus* and *Psorophora confinnis* showed direct relation with rainfall and temperature. In contrast, the dominant species, *Deinocerites atlanticus*, was always present in the collections, regardless of climatic conditions. No IgG antibodies were found in humans younger than 17 years old, goats or bovine sera. One third of those interviewed remembered the last epidemic and had basic understanding of the disease. Only 20% of the families were owners of equines, and 8% was informed of the importance of equine vaccination.

**Conclusions:** Some epidemiological conditions that eventually could help epizootic Venezuelan equine encephalitis virus reemergence are maintained. However, an abrupt decrease in the number of susceptible equines was found in the area. Apparently, this new condition has not allowed the virus reemergence and is the biggest observed change.

**Key words:** Encephalitis virus, Venezuelan equine/epidemiology; encephalitis, arbovirus/prevention & control; disease vectors; climatologic station; mammals; disease susceptibility; health knowledge, attitudes, practice.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2212>

Las epidemias de encefalitis equina venezolana (EEV) se han registrado solamente en el Nuevo Mundo, ocurren periódicamente y son causadas por el virus de la encefalitis equina venezolana (VEEV), miembro de la familia Togaviridae, género *Alphavirus* y complejo VEE. En este complejo también están incluidos los virus Mosso das Pedras, Cabassou, Everglades, Mucambo, Pixuna y Río Negro. Cada uno de estos virus es reconocido como un subtipo y presenta características ecológicas, epidemiológicas y de virulencia únicas. Estos virus afectan tanto a équidos como a humanos, y causan desde fiebre hasta encefalitis (1-3).

El VEEV es el subtipo I, con cuatro variedades antigénicas: IAB, IC, ID e IE. Los subtipos IAB e IC, tradicionalmente conocidos como cepas epizoóticas, son los únicos que han sido asociados con las epidemias que han afectado a cientos de équidos y a humanos. Estos subtipos utilizan a los équidos como amplificadores del virus y desaparecen en los períodos entre epidemias por muerte de los équidos sensibles o porque los sobrevivientes generan inmunidad. Por el contrario, los subtipos enzoóticos ID e IE tienen ciclos continuos entre roedores en hábitats de bosque húmedo tropical

o pantanoso, no son virulentos en équidos, pero en humanos producen una enfermedad similar a la causada por las cepas epizoóticas (1-8).

Sobre el origen de las cepas epizoóticas, la hipótesis más aceptada es que surgen de las cepas enzoóticas debido a cambios en ciertos aminoácidos en la glucoproteína E2 en la superficie del virus, lo cual mejora su amplificación en équidos (1,4,6). Una situación especial se registró con una cepa IE virulenta en équidos, que emergió en la década de los noventa en México y causó una epidemia (9) en la cual no se registraron títulos altos, por lo que, probablemente, los équidos no estuvieron involucrados como huéspedes importantes amplificadores del virus (10).

Los mosquitos mamófilos de la familia Culicidae son los vectores de todas las cepas de VEEV (1-3). Las cepas enzoóticas son transmitidas por los mosquitos del subgénero *Culex melanoconion*, sección *Spissipes* (7), y las cepas epizoóticas, por mosquitos de los géneros *Aedes* y *Psorophora*, principalmente por *Aedes taeniorhynchus* y *Psorophora confinnis*. Estos mosquitos transmiten rápidamente las cepas epizoóticas entre los équidos sensibles debido a su capacidad vectorial, sus preferencias alimentarias y la abundancia de sus poblaciones. Además, dado que los équidos desarrollan viremias muy altas, la circulación del virus aumenta y llega a los humanos, al ganado caprino y bovino, a los perros y a otros animales domésticos a través de los mosquitos infectados (3,5,8). En la epidemia de México en los noventa, el virus

Correspondencia:

Cristina Ferro, Grupo de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Avenida Calle 26 N° 51-60, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 220 7700, extensión 1533  
[crisferrovela@gmail.com](mailto:crisferrovela@gmail.com)

Recibido: 02/12/13; aceptado: 11/10/14

se diseminó tanto por medio del vector enzoótico natural *Culex (M) taeniopus*, como por el principal vector epizoótico, *Aedes taeniorynchus* (10).

Como lo indica su nombre, la encefalitis equina venezolana se asocia especialmente con los équidos, pero las cepas enzoóticas y epizoóticas del virus afectan la salud de los humanos. En los humanos la enfermedad es debilitante, inmunodepresora y, a veces, fatal (menos del 1 % de los casos). Los niveles de viremia en los humanos son similares a los registrados en los equinos, pero se considera que los humanos no son tan eficientes como amplificadores del virus porque están menos expuestos a las picaduras de los vectores (1,3,8). Sin embargo, los humanos podrían desempeñar un papel importante como amplificadores del virus en la transmisión urbana debido a la presencia de mosquitos alrededor de los domicilios, como es el caso de *Aedes aegypti*, especie en la cual se ha demostrado sensibilidad a la infección con VEEV después de alimentarse en humanos, además de que sus hábitos de alimentación, con múltiples comidas de sangre, mejora su competencia vectorial (1,3). A diferencia de los équidos, no hay una vacuna para los humanos debido al alto costo y a la poca demanda por el bajo número de casos diagnosticados (3). La vacunación de équidos con la vacuna TC-83 es la única medida preventiva, obligatoria en Colombia en zonas geográficas que se encuentran por debajo de los 1.200 msnm, la cual se debe aplicar cada dos años según la Resolución 026 de 1999 del Instituto Colombiano Agropecuario.

Entre 1938 y 1972, se registraron frecuentemente brotes de encefalitis equina venezolana en la península de La Guajira, causados por los subtipos epizoóticos IAB e IC, que involucraron varias localidades de Colombia y Venezuela (11). En Colombia, la enfermedad fue documentada por primera vez en 1954 (12). En ese lapso, los períodos entre epidemias oscilaron entre uno y diez años (1,9), pero a partir de 1973 su duración fue mayor. Desde 1995, cuando se presentó la última epidemia en el país (13), hasta la fecha, las cepas epizoóticas no se han vuelto a registrar, en tanto que sus progenitoras, las cepas enzoóticas, continúan circulando permanentemente en el Magdalena Medio (7,8,14,15), por lo que el riesgo de reaparición de las cepas epizoóticas sigue vigente.

Ante esta situación es válido preguntarse si estamos al final de un largo período entre epidemias. Para dar respuesta a esta inquietud se evaluó la

vulnerabilidad de transmisión del VEEV en áreas periurbanas y rurales de la Alta Guajira colombiana. La investigación se realizó por medio de: 1) estudios entomológicos, para establecer la presencia y variación estacional de los mosquitos vectores; 2) estudios serológicos, para evaluar la disponibilidad de huéspedes sensibles mediante la verificación de la ausencia o presencia de la inmunoglobulina IgG en muestras de suero de humanos y animales domésticos (caprinos y bovinos), y 3) encuestas sobre el conocimiento que tienen los habitantes sobre la encefalitis equina venezolana (EEV) y sus vectores.

## Materiales y métodos

### Área de estudio

La investigación se realizó en el municipio de Manaure, el cual se seleccionó por los altos porcentajes de infección registrados en humanos y equinos durante la epidemia de EEV de 1995 (13). Los sitios específicos de muestreo se seleccionaron en áreas periurbanas y rurales de los corregimientos o centros poblados de Mayapo (11° 38' 52,3" latitud norte, 72° 46' 33,2" longitud oeste, altitud: 3 msnm) y de El Pájaro (11° 42' 38,7" latitud norte, 72° 40' 22,9" longitud oeste, altitud: 24 msnm) y en algunas rancherías cercanas a las localidades mencionadas y en el entorno de la ciudad de Manaure (11° 46' 37" latitud norte, 72° 26' 58" longitud oeste, altitud: 15 msnm).

### Estudios entomológicos para establecer la presencia y la variación estacional de los mosquitos vectores (Diptera: Culicidae)

*Recolección de mosquitos y determinación taxonómica de las especies.* Inicialmente se realizaron algunas recolecciones durante los meses de agosto y septiembre de 2009, al comienzo de la estación lluviosa, cuando se esperaba encontrar la mayor diversidad de mosquitos. Se incluyeron 55 viviendas de las localidades seleccionadas cuyos moradores aceptaron la instalación de una trampa del tipo CDC en un dormitorio durante una noche, de las 18 a las 06 horas.

Se hizo la determinación taxonómica de las especies utilizando caracteres discriminatorios de la hembra y de la terminalia masculina, según las claves y descripciones de especie (16-22). Confirmada la presencia y abundancia de mosquitos vectores en las viviendas, se seleccionaron las casas que aportaban la mayor cantidad de mosquitos y se comenzó la segunda etapa.

Teniendo en cuenta las condiciones ambientales de sequía y lluvia extremas en la región, el estudio se realizó en las diferentes estaciones climáticas a partir de septiembre del 2009 y hasta agosto del 2012. Los muestreos se realizaron con trampas de luz del tipo CDC durante cuatro noches consecutivas. Se utilizó luz incandescente en el interior de las viviendas y luz ultravioleta e incandescente en el exterior.

*Búsqueda de formas inmaduras (larvas y pupas) de *Ae. aegypti*.* Teniendo en cuenta que en la vigilancia de *Ae. aegypti* la recolección de adultos mediante el uso de las trampas de luz del CDC es poco efectiva, la abundancia de esta especie en las viviendas se determinó por la presencia de larvas en estadio IV y de pupas (23,24). Para ello se inspeccionaron las viviendas de Mayapo y El Pájaro en las estaciones seca y lluviosa del 2012. Las formas inmaduras del mosquito se buscaron en criaderos artificiales, es decir, en recipientes que almacenaran agua: albercas, tanques, llantas y floreros, entre otros.

Para recolectar los especímenes se utilizaron pipetas, goteros, cucharones y redes entomológicas tipo mariposero, con un aro de 20 cm de diámetro, aproximadamente, y una red con un ojo de malla de 5  $\mu$ m. Ocasionalmente se buscaron formas inmaduras de mosquitos en huecos de cangrejo, en los manglares (16) y en charcas con agua poco profunda y protegida por la escasa vegetación existente en la región.

#### **Evaluación serológica de la circulación viral**

La evaluación serológica de la circulación viral se hizo en humanos y mamíferos domésticos, especialmente cabras y ovejas, mediante la determinación de anticuerpos IgG por inhibición de hemaglutinación (3). No se incluyeron équidos en razón del alto cubrimiento de la vacuna (Resolución 1026 de 1999 del Instituto Colombiano Agropecuario).

Las muestras en humanos fueron tomadas por bacteriólogas y auxiliares de enfermería en el hospital de Manaure, en los centros de salud de Mayapo y El Pájaro y, en algunas ocasiones, en las viviendas. Las muestras de los animales fueron obtenidas por veterinarios del Instituto Colombiano Agropecuario.

Se incluyeron personas de todas las edades que aceptaron participar en el estudio. En el caso de los menores de edad, se solicitó la aprobación de los padres. Únicamente se incluyeron aquellos

animales domésticos cuyos propietarios dieron autorización para tomar la muestra. En todos los casos se firmó el consentimiento informado.

#### **Evaluación del conocimiento de la enfermedad y de las medidas de prevención en las comunidades**

Este aspecto del estudio se llevó a cabo mediante la aplicación de una encuesta con preguntas encaminadas a conocer el impacto social y económico de la epidemia de 1995 y de la posterior ausencia de epidemias. Se incluyeron preguntas abiertas y cerradas sobre: a) el nombre de la enfermedad que causó epidemias en las cuales murieron muchos caballos y burros; b) la asociación entre las dolencias que sufrieron los humanos y la enfermedad en los equinos; c) la tenencia de caballos o burros; d) la vacunación de équidos; e) la forma de transmisión, y f) las medidas de prevención contra la picadura de los insectos.

#### **Análisis de los datos**

Para establecer las posibles relaciones entre la abundancia o densidad de las poblaciones de las especies de mosquitos y las variables climáticas, se calcularon los promedios de las hembras por especie en cada trampa del tipo CDC y por noche, así como por mes de muestreo. Dichos promedios se correlacionaron con la precipitación acumulada, la precipitación máxima, el número de días de lluvia y el promedio de la temperatura diaria entre los 7 y 28 días anteriores a la fecha del muestreo. Estas correspondencias permitieron definir el período más favorable para relacionar la abundancia de las poblaciones de los vectores con las variables climáticas, las cuales se observaron con ayuda de gráficas de dos ejes verticales. Se hicieron 11 modelos de regresión y correlación lineal simple para confirmar estadísticamente las relaciones observadas. Este mismo procedimiento se aplicó para los valores mensuales de los diversos años. Como criterios de selección de la mejor ecuación se emplearon el coeficiente de determinación ( $R^2$ ), el análisis de residuos y la gráfica de regresión. En todos los casos se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson (25).

Los datos de los parámetros de temperatura media y precipitación total se obtuvieron del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM), específicamente de la estación meteorológica Almirante Padilla: 11° 31' 34,20" N, 72° 55' 36,06" O, altitud: 13,08 msnm, ubicada a 20,63 km de Mayapo, a 33,66

km de El Pájaro y a 56,56 km de Manaure. Los datos de esta estación pueden extrapolarse a los sitios de muestreo en términos de precipitación y temperatura, pues estos tienen el mismo régimen pluviométrico por distancia y altitud (26).

Los resultados de los estudios sobre la evaluación serológica de la circulación del VEEV y el nivel de conocimiento de los habitantes del área de estudio sobre la enfermedad y las medidas de prevención se presentan en porcentajes.

### **Aspectos éticos**

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Salud. Se solicitó y obtuvo consentimiento informado por escrito, y se estableció la clasificación de riesgo según lo dispuesto en la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud.

### **Resultados**

#### **Diversidad y estacionalidad de las especies vectores (Diptera: Culicidae)**

En el estudio entomológico inicial realizado en Mayapo, el 62 % de las 55 viviendas muestreadas fueron positivas. Se encontraron seis especies de mosquitos, de las cuales *Deinocerites atlanticus* fue la especie dominante (91 % de 3.578 mosquitos recolectados) y la que mayor número de viviendas infestó. De los principales vectores del VEEV se registró en esta primera fase únicamente *A. taeniorhynchus* con una abundancia de 7 %. Las otras especies de mosquitos recolectadas fueron *Culex quinquefasciatus* (34 especímenes), *Anopheles albimanus* (2 especímenes), *Deinocerites melanophyllum* (3 especímenes) y *Ae. aegypti* (3 especímenes). Cuatro viviendas aportaron el mayor número de mosquitos: dos casas contiguas en la población de Mayapo y dos cabañas contiguas en el área turística conocida como "Mayapo Playa", que en conjunto aportaron más del 80 % de los mosquitos recolectados, por lo que fueron seleccionadas para hacerle seguimiento a la abundancia de los vectores en las diferentes estaciones climáticas.

En el corregimiento de El Pájaro, el 52 % de las 69 viviendas muestreadas fueron positivas, pero solamente se recolectaron 133 especímenes distribuidos en cuatro especies. *Deinocerites atlanticus*, con 53 %, fue la más abundante, seguida por *Cx. quinquefasciatus*, con 42 %. También se encontraron seis hembras de *Ae. taeniorhynchus* y un macho y una hembra de *Aedes scapularis*. Sin embargo, en El Pájaro no se encontraron viviendas

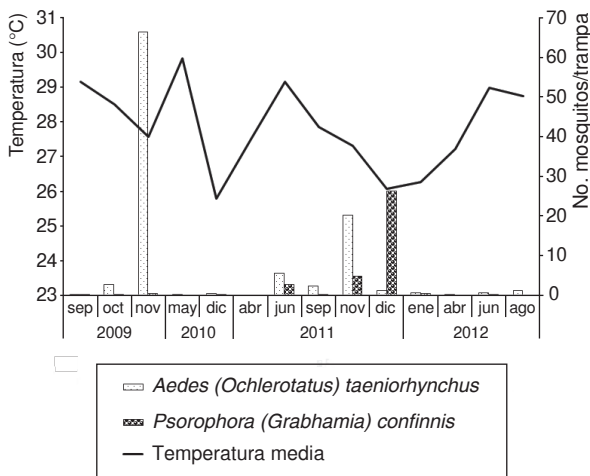
con altas densidades de mosquitos, razón por la cual este centro urbano se consideró únicamente para estudiar las poblaciones de *Ae. aegypti*.

**Análisis de los mosquitos recolectados en diferentes estaciones climáticas.** Los muestreos se realizaron en el corregimiento de Mayapo, en las casas preseleccionadas por su abundancia en los meses de septiembre, octubre y noviembre del 2009, en mayo y diciembre del 2010, en abril, junio, septiembre, octubre y diciembre del 2011, y en enero, abril, junio y agosto del 2012.

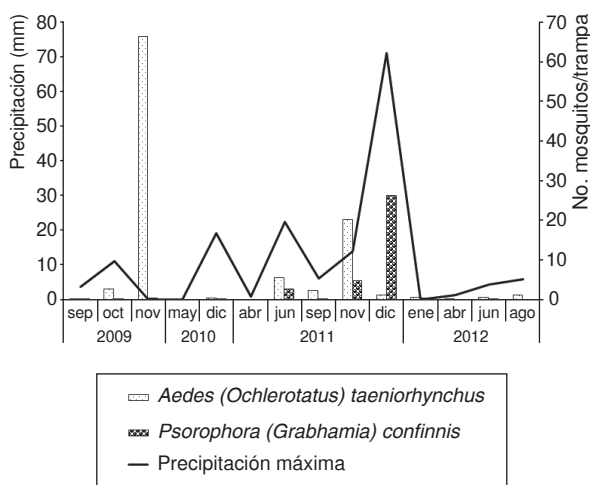
Se recolectaron 22.011 especímenes distribuidos en 17 especies. No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los dos tipos de luz de las trampas, los hábitats periurbano y rural y los microhábitats de intradomicilio y peridomicilio ( $p > 0,05$ ) para ninguna de las especies en el período de muestreo. Sin embargo, la densidad de las hembras varió significativamente por mes de muestreo en la mayoría de las especies: *De. atlanticus*,  $p < 0,05$ ; *Ae. taeniorhynchus*,  $p < 0,01$ ; *Cx. quinquefasciatus*,  $p < 0,01$ , y *A. albimanus*,  $p < 0,01$ . La especie *Ps. confinnis* no presentó diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Como no se presentaron diferencias en la abundancia entre tipos de trampa, hábitat y microhábitat, se estimó una sola densidad general de las hembras recolectadas por especie y noche en cada mes de muestreo.

La relación óptima entre la abundancia de las especies de mosquitos y las variables climáticas se registró con la precipitación acumulada: entre los 30 y 50 mm para *Ae. taeniorhynchus* y entre los 130 y 150 mm para *Ps. confinnis*. El número de días de lluvia requerido por las especies para alcanzar la densidad más alta fue de diez días para *Ae. taeniorhynchus* y de siete para *Ps. confinnis*. La temperatura promedio más favorable para las poblaciones de *Ae. taeniorhynchus* fue de 27,5 °C, y para *Ps. confinnis*, de 26° C. *Ae. taeniorhynchus* presentó las mayores abundancias en noviembre del 2009 y del 2011 y *Ps. confinnis* en diciembre del 2011 (figura 1). En épocas secas no precedidas por precipitaciones la abundancia de las poblaciones de los vectores *Ae. taeniorhynchus* y *Ps. confinnis* fue muy baja (figura 2).

La especie dominante *De. atlanticus*, con 16.978 especímenes, registró su más alta abundancia con valores de precipitación acumulada entre 2 y 48 mm. En términos generales, los requerimientos de pluviosidad de esta especie fueron bajos y los valores por encima de 100 mm de precipitación acumulada generaron descensos drásticos en la



**Figura 1.** Relación entre la abundancia de *Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus* y *Psorophora (Grabhamia) confinnis* y la temperatura media



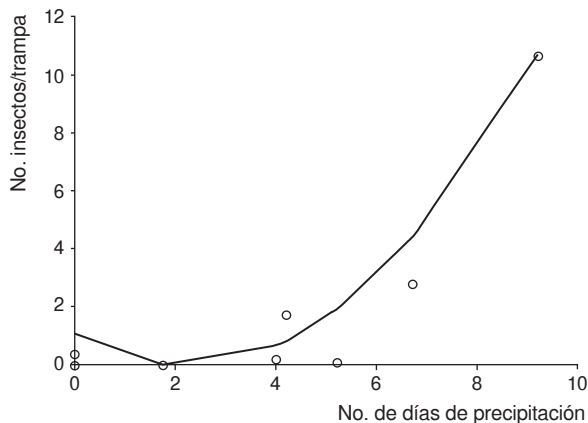
**Figura 2.** Relación entre la abundancia de *Aedes (Ochlerotatus) taeniorhynchus* y *Psorophora (Grabhamia) confinnis* y la precipitación máxima

abundancia. El rango de temperatura media más favorable estuvo entre 28,5 y 30,5 °C. La mayor abundancia de esta especie se presentó en octubre del 2009, mayo del 2010, y abril y junio del 2012.

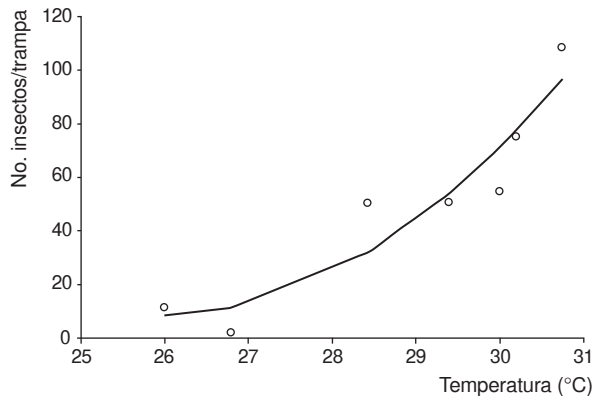
Las otras dos especies de importancia en salud pública por ser vectores relativamente frecuentes de otros patógenos, *An. albimanus* y *Cx. quinquefasciatus*, registraron altas densidades de población con valores de precipitación acumulada entre 100 y 148 mm. Para las dos especies, la temperatura media favorable fue alrededor de los 26 °C. Ambas especies presentaron la mayor abundancia en diciembre de los años 2010 y 2011.

En general, los valores extremos de escasez y exceso de lluvia generaron descensos drásticos en las poblaciones de todas las especies de mosquitos, lo cual no permitió establecer el modelo de comportamiento de algunas especies con relación a las variables climáticas. La confirmación estadística de las observaciones en las gráficas de comportamiento se logró al aplicar los modelos de regresión y correlación simple con los promedios mensuales de varios años de las variables climáticas y los promedios de abundancia de las especies. Se encontró asociación entre: 1) *Ae. taeniorhynchus* y la precipitación del día de muestreo ( $r=0,97$ ); 2) *Ps. confinnis* y la precipitación máxima ( $r=0,99$ ) y el número de días de lluvia antes del muestreo ( $r=0,97$ ) (figura 3); 3) *De. atlanticus* y la temperatura del día de muestreo ( $r=0,92$ ) (figura 4) y la temperatura media ( $r=0,96$ ); 4) *Cx. quinquefasciatus* y la temperatura media ( $r=0,90$ ), y 5) *An. albimanus* y la precipitación máxima ( $r=0,89$ ) y el número de días de lluvia antes del muestreo ( $r=0,95$ ).

En todas las asociaciones encontradas entre la abundancia de mosquitos y las variables climáticas, el mejor modelo de relación fue de tipo cuadrático: número de mosquitos / trampa =  $b_0 + b_1$  (variable climática) +  $b_2$  (variable climática)<sup>2</sup>, en donde  $b_0$  corresponde a la constante de la recta de regresión;  $b_1$ , a la tasa inicial de cambio de la abundancia de la especie involucrada, y  $b_2$ , a la tasa final de cambio de la abundancia de la especie involucrada. En el cuadro 1 se muestran los modelos de relación encontrados entre la abundancia de mosquitos y las variables climáticas. En estos modelos, cuando existe una relación directa, los cambios en niveles bajos de la variable climática producen aumentos pequeños en la abundancia de la especie estudiada,



**Figura 3.** Relación entre la abundancia de *Psorophora (Grabhamia) confinnis* y el número de días de precipitación antes de la fecha de muestreo ( $r=0,97$ )



**Figura 4.** Relación entre la temperatura del día de muestreo y la abundancia de *Deinoceritis* sp. ( $r=0,92$ )

y al presentarse cambios en los niveles altos de la variable climática, el tamaño de la población se incrementa notablemente. Por el contrario, cuando la relación es inversa, los cambios en los niveles bajos de la variable climática producen cambios notorios en la abundancia de la especie estudiada y los cambios en los niveles altos de la variable ocasionan cambios discretos en el tamaño de la población.

En cuanto a *Ae. taeniorhynchus*, los hallazgos llevan a concluir que habría una relación directa entre la abundancia de la población de la especie y los niveles de precipitación. En el caso de *Ps. confinnis* y *An. albimanus*, ambas especies presentaron una asociación directa con la precipitación máxima y el número de días de lluvia. Por último, *Cx. quinquefasciatus* presentó asociación inversa con la temperatura.

Las siguientes son otras especies registradas: *Culex (Melanoconion) erraticus* (Dyar & Knab 1906), *Culex (Mel.) pilosus* (Dyar & Knab 1906) *De.*

*melanophylum* Dyar & Knab, 1907, *Mansonia (Mansonia) indubitans* Dyar & Shannon, 1925, *Mansonia (Man.) humeralis* Dyar & Shannon, 1916, *Ae. (Och.) scapularis* (Rondani, 1848), *Culex (Cx.) nigripalpus* Theobald, 1901, *Cx. (Cux) quinquefasciatus* Say 1823, *Aedomyia (Aedomyia) squamipennis* (Lynch Arribalzaga, 1878), *Uranotaenia (Uranotaenia) pulcherrima* Lynch Arribalzaga, 1891, *Anopheles (Ano.) neomaculipalpus* Curry, 1931, y *Psorophora (Jan.) albipes* (Theobald, 1907).

**Búsqueda de formas inmaduras (larvas y pupas) de *Ae. aegypti*.** En los criaderos artificiales se recolectaron 9.100 formas inmaduras de ocho especies de mosquitos. *Aedes aegypti* fue la especie más representativa, con el 77 %, y presentó una abundancia mayor en Mayapo que en El Pájaro. *Culex quinquefasciatus* fue la segunda especie más abundante, con 15 %. Se registraron pocos especímenes de las otras especies, *Cx. nigripalpus*, *Cx. (Melanoconion) sp.*, *An. albimanus*, y *Ps. confinnis*. No hubo diferencias estadísticas significativas entre criaderos, localidades y época de muestreo ( $p>0,05$ ). En los dos centros poblados, los tanques de cemento y los plásticos mayores de 100 L fueron los criaderos más importantes. En los muestreos realizados en huecos de cangrejo del área turística de Mayapo Playa, se encontraron aproximadamente 200 larvas de *De. atlanticus* y unos pocos especímenes de *Culex (Mel)* sp. En los manglares se recolectaron únicamente unos pocos especímenes de *De. atlanticus*.

#### **Evaluación serológica de la circulación viral**

El 46 % ( $n=23$ ) de 50 muestras tomadas a personas mayores de 18 años que vivían en la Alta Guajira durante la epidemia de 1995 fue seropositivo, con títulos entre 1:20 y 1:160. Se encontraron siete

**Cuadro 1.** Modelos de relación encontrados entre la abundancia de mosquitos y las variables climáticas

Modelo de regresión	
<i>Aedes taeniorhynchus</i>	Número de insectos/trampa = $0,98-15,68$ (temperatura máxima) + $23,1$ (temperatura máxima) <sup>2</sup>
<i>Psorophora confinnis</i>	Número de insectos/trampa = $1,07-0,99$ (días de precipitación) + $0,22$ (días de precipitación) <sup>2</sup>
	Número de insectos/trampa = $3,49-2,29$ (temperatura máxima) + $0,005$ (temperatura máxima) <sup>2</sup>
<i>Anopheles albimanus</i>	Número de insectos/trampa = $2,02-1,66$ (días de precipitación) + $0,30$ (días de precipitación) <sup>2</sup>
	Número de insectos/trampa = $1010-70,74$ (temperatura máxima) + $1,24$ (temperatura máxima) <sup>2</sup>
<i>Deinoceritis atlanticus</i>	Número de insectos/trampa = $2606,1-200,1$ (temperatura día de muestreo) + $3,85$ (temperatura día de muestreo) <sup>2</sup>
	Número de insectos/trampa = $2606,4-211,4$ (temperatura media) + $4,24$ (temperatura media) <sup>2</sup>
<i>Culex quinquefasciatus</i>	Número de insectos/trampa = $691,31-48,33$ (temperatura media) + $0,85$ (temperatura media) <sup>2</sup>

personas seropositivas con edades entre 18 y 22 años, que eran niños pequeños en la época de la epidemia. Uno de los pacientes de 18 años registró títulos de 1:80. Las personas menores de 17 años (n=22) fueron negativas. Se evaluaron 19 muestras sin registro de edad, de las cuales ocho presentaron títulos de anticuerpos no mayores a 1:80. Siete sueros de humanos fueron desechados por presentar hemólisis o por cantidad insuficiente. Se muestrearon animales menores de 17 años y sus sueros no registraron seropositividad. Las cabras (n=124) correspondieron a 85,6 % de los animales muestreados. El 14,4 % de los animales restantes correspondió a 10 ovejas, 9 bueyes y 2 burros.

### **Evaluación del conocimiento de la comunidad sobre la enfermedad y las medidas de prevención**

De 158 familias encuestadas en el área de estudio se encontró que 148 vivían en La Guajira en 1995 cuando ocurrió la epidemia. Sin embargo, solamente 39,2 % de estas la recordaba y tenía presente la enfermedad que causó alta mortalidad en la población de equinos. Los encuestados identificaron la enfermedad con los nombres de EEV, peste loca y Aleyajawa (lengua wayunaiki). El 34,3 % recordó que las personas enfermaron en la misma época. El 36,2 % creía que la enfermedad que atacó a los équidos también afectó a las personas. El 16,7 % respondió que sabía que la enfermedad se transmite por la picadura de los mosquitos, insectos reconocidos por ellos como la plaga. El 79,3 % de los encuestados dijo protegerse de la picadura de los mosquitos utilizando diferentes medios: 33,3 % con fumigación, 7,8 % con toldillos, 38,2 % con otros medios, entre los cuales el humano es el más común. Con relación al número de familias que reconoció tener equinos en el momento de la encuesta, 152 de 158 familias encuestadas contestaron la pregunta y de éstas, 30 (19,74 %) poseían uno o más equinos y 8 estaban informadas sobre la importancia de la vacunación.

### **Discusión**

Desde el punto de vista de la vulnerabilidad, los resultados de los estudios entomológicos para establecer la abundancia de las poblaciones de los vectores del VEEV y de los estudios serológicos para conocer la disponibilidad de mamíferos no equinos sensibles, evidenciaron un alto riesgo de epidemia. Sin embargo, el análisis de la encuesta de conocimientos mostró que solo el 20 % de las familias encuestadas reportó tenencia de equinos y que, aproximadamente, la tercera parte estaba

informada sobre la necesidad de vacunarlos. Este último dato sobre la tenencia de equinos podría pasar desapercibido, pero si se considera el mayor cubrimiento de la vacunación de equinos por parte del Instituto Colombiano Agropecuario y el aparente reemplazo de estos animales por otros medios de transporte, tales como bicicletas, motocicletas y otros vehículos automotores, podría plantearse la posibilidad de una disminución de la población de equinos. En la época de la epidemia de 1995, el número de equinos estimado por el Instituto Colombiano Agropecuario era de 49.626 y el número actual es de 22.440 (13,27), situación que, aparentemente, ha generado cambios en las condiciones que favorecían la reaparición de las cepas epizoóticas (3,5) porque limita las posibilidades de amplificación del virus en equinos.

Por primera vez, el estudio entomológico aportó información sobre las condiciones específicas de precipitación y temperatura que favorecen el incremento de la densidad de población de los vectores *Ae. taeniorhynchus* y *Ps. confinnis* durante la estación lluviosa en el área epidémica de La Guajira. Para *Ae. taeniorhynchus*, las condiciones moderadas de precipitación, entre 30 y 50 mm, son las más favorables, en tanto que *Ps. confinnis* requiere valores más altos de precipitación, entre 130 y 150 mm (figura 2). La temperatura más favorable para *Ae. taeniorhynchus* es de 1,5 °C, más alta que la de *Ps. confinnis* (figura 1). Eventualmente, estas diferencias favorecen la reaparición de las cepas epizoóticas porque amplían el tiempo de riesgo de transmisión y amplificación del VEEV entre los mamíferos susceptibles. El desempeño de las especies *Ae. taeniorhynchus* y *Ps. confinnis* como vectores de VEEV durante las epidemias está asociado con sus altas densidades de población (3,13), así como con su capacidad y competencia vectorial, comprobada por las infecciones naturales y por los estudios experimentales (13,28,29).

*Deinocerites atlanticus*, la especie dominante en este estudio, se registró en todas las épocas climáticas muestreadas. Además, estadísticamente se demostró que su abundancia no depende de la precipitación, pero está relacionada directamente con la temperatura promedio y la del día de muestreo. La independencia entre la abundancia de esta especie y la precipitación se explica porque sus sitios de cría son los huecos de cangrejo y los manglares, los cuales tienen disponibilidad de agua durante todo el año, lo que favorece la densidad de población en épocas de mayor temperatura (figura 4).



Durante el desarrollo de esta investigación se observó que *De. atlanticus* es una molestia sanitaria para los habitantes en el área de estudio debido a su agresividad y a las múltiples picaduras nocturnas. Además, la especie se considera vector potencial del VEEV debido a su gran abundancia y a sus hábitos alimentarios (incluida la antropofagia) (2,3,30). Sumado a lo anterior, el hallazgo de vectores en el domicilio y en sus alrededores, incluido el dormitorio, permite considerar la posibilidad de la transmisión doméstica del VEEV.

Si hay transmisión doméstica, el mosquito *Ae. aegypti* podría estar involucrado, ya que puede infectarse con las cepas epidémicas y enzoóticas del VEEV después de alimentarse en humanos infectados (3,31). De acuerdo con los resultados de este estudio, la abundancia de este mosquito doméstico aumenta al comienzo de la estación lluviosa en los corregimientos de Mayapo y El Pájaro, época en que según los estudios entomológicos, existe riesgo de transmisión por la abundancia de los vectores *Ae. taeniorhynchus* y *Ps. confinnis*.

Con respecto a la distribución de estas especies vectores del VEEV en Colombia, *Ae. taeniorhynchus* está ampliamente distribuido en las costas Atlántica y Pacífica, y se ha encontrado en el área rural de Ambalema (Tolima) (32). *Psorophora confinnis* se ha encontrado en los departamentos de Arauca, Boyacá, Casanare, Córdoba, Cundinamarca, La Guajira, Huila, Magdalena, Meta, Norte de Santander y Santander (33). *Deinocerites atlanticus* se ha reportado en la costa Caribe (30,34).

Entre las especies de importancia en otros eventos de salud pública, se destaca *An. albimanus*, vector principal de malaria en las costas Atlántica y Pacífica (35), y de la cual se recolectaron especímenes en las viviendas de Mayapo en los meses con registros de precipitación de 100 mm. En este estudio se encontró relación directa entre su densidad y la precipitación. La otra especie con una densidad de población relativamente alta fue *Cx. quinquefasciatus*, vector del virus del Nilo occidental en otras partes del mundo (36). Se encontró una relación inversa entre la densidad de población de esta especie y la temperatura. El registro de 15 especies de mosquitos muestra la diversidad de la familia Culicidae en el área de estudio.

Los estudios serológicos demostraron que el VEEV no ha circulado en los últimos 17 años en el municipio de Manaure, Alta Guajira colombiana, ya que en los humanos menores de 17 años y en los mamíferos los resultados de los exámenes

serológicos fueron negativos, en tanto que se encontraron resultados positivos solamente en humanos mayores de 18 años. Los títulos de 1:80 y 1:160 registrados en 12 personas son altos para un área donde no ha circulado el VEEV desde 1995, lo cual podría explicarse por las características particulares de algunos individuos que tienen muy buena memoria inmunológica. El significado biológico de los hallazgos seropositivos es que dichas personas tuvieron contacto con el virus y tienen memoria inmunológica, por lo tanto, tienen algún tipo de protección contra el VEEV (37).

Con base en los resultados serológicos y entomológicos se concluyó que en la zona se presentan las condiciones para la reaparición de las cepas epidémicas. Por otro lado, un estudio paralelo realizado en un foco enzoótico de VEEV (ID) en el Magdalena Medio colombiano reveló la actividad permanente del subtipo ID (Duque MC, González M, Ramírez M, Gutiérrez M, Lugo L, Bello B, *et al.* Circulación periurbana del subtipo enzoótico ID del virus de la encefalitis equina venezolana en Barrancabermeja, Santander, Magdalena medio colombiano. *Biomédica*, 2013;33(Supl.2):47. Memorias, XIII Encuentro científico "Conocimiento, innovación y liderazgo en salud pública", Instituto Nacional de Salud). El subtipo ID es progenitor de cepas epizoóticas de los subtipos IAB e IC, y en cualquier momento las cepas del virus que emergen con potencial de amplificación en equinos podrían ser transportadas desde el Magdalena Medio, o desde otra área cercana con transmisión enzoótica, al área epidémica de La Guajira, (1-4,8). Sin embargo, como se mencionó previamente, las condiciones epidemiológicas que favorecerían este evento no se han mantenido, especialmente por la disminución de equinos sensibles debida a la alta cobertura de la vacuna aplicada a nivel nacional por el Instituto Colombiano Agropecuario y a la disminución de equinos detectada en la encuesta que se aplicó en el presente estudio.

A manera de consideraciones finales, vale destacar que el estudio aporta información útil para las políticas y estrategias agropecuarias y de salud, pues demuestra que el virus no ha circulado en el área de estudio en los últimos 17 años y que el riesgo de una nueva epidemia es bajo si se mantienen las condiciones descritas. Por otro lado, se diseñaron modelos predictivos de la abundancia de los mosquitos vectores de la encefalitis equina venezolana y otras enfermedades transmitidas por estos insectos a partir de variables meteorológicas. Dichos modelos pueden emplearse para diseñar

un sistema de alerta temprana con base en los datos de temperatura y precipitación de la región, lo que facilitaría la implementación de medidas de control de las poblaciones de mosquitos.

### Agradecimientos

A los funcionarios de la Secretaría de Salud Departamental de La Guajira, al técnico supervisor de ETV Domingo García Obediente, y a los auxiliares de entomología Aníbal Torres y Alexander Cantillo, por su apoyo en las actividades de entomología. De igual manera, agradecemos al doctor Germán Sánchez y a su equipo de trabajo en el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, por su colaboración en la toma de muestras sanguíneas en ganado caprino y bovino, así como a la enfermera Olga Rodríguez, del centro de salud de Mayapo, y a las enfermeras del hospital de Manaure, por su ayuda en la toma de muestras de sangre. También queremos expresar nuestros agradecimientos a los habitantes de Mayapo, El Pájaro y Manaure, por el apoyo para el desarrollo de las actividades de este estudio.

### Conflicto de intereses

En el presente trabajo no hubo conflictos de intereses por parte de los participantes en las actividades realizadas.

### Financiación

El estudio fue financiado por Colciencias, el Instituto Nacional de Salud y la Secretaría Departamental de Salud de La Guajira a través del proyecto de investigación de "Evaluación del riesgo de urbanización de los subtipos IC e ID, agentes causales de encefalitis equina venezolana (Togaviridae: alphavirus) como problema de salud pública en Colombia", código del proyecto: 210451929222

### Referencias

1. **Weaver SC, Reisen WK.** Present and future arboviral threats. *Antiviral Res.* 2010;85:328-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2009.10.008>
2. **Weaver SC.** Recurrent emergence of Venezuelan equine encephalomyelitis. In: Scheld WM, Hughes J, editors. *Emerging infections.* Washington, D.C.: ASM Press; 1998. p. 27-42.
3. **Weaver SC, Ferro C, Barrera R, Boshell J, Navarro JC.** Venezuelan equine encephalitis. *Annu Rev Entomol.* 2004;49:141-74. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123422>
4. **Powers AM, Oberste MS, Brault AC, Rico-Hesse R, Schmura SM, Smith JF, et al.** Repeated emergence of epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis from

¿Puede la encefalitis equina venezolana reaparecer en La Guajira?

a single genotype of enzootic subtype ID virus. *J Virol.* 1997;71:6697-705.

5. **Walton TE, Grayson M.** Venezuelan equine encephalomyelitis. In: Monath TP, editors. *Arboviruses: Epidemiology and Ecology.* Boca Raton, FL: CRC Press; 1989. p. 203-31.
6. **Anishchenko M, Bowen RA, Paessler S, Austgen L, Greene IP, Weaver SC.** Venezuelan encephalitis emergence mediated by a phylogenetically predicted viral mutation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:4994-9. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.05099611103>
7. **Ferro C, Boshell J, Moncayo AC, González M, Ahumada ML, Kang W, et al.** Natural enzootic vectors of Venezuelan equine encephalitis virus, Magdalena Valley, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:49-54. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0901.020136>
8. **Aguilar P, Estrada-Franco J, Navarro-López R, Ferro C, Haddow A, Weaver SC.** Endemic Venezuelan equine encephalitis in the Americas: Hidden under the dengue umbrella. *Future Virol.* 2011;6:721-40. <http://dx.doi.org/10.2217/FVL.11.5>
9. **Oberste MS, Fraire M, Navarro R, Zepeda C, Zárate ML, Ludwig GV, et al.** Association of Venezuelan equine encephalitis virus subtype IE with two equine epizootics in Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59:100-7.
10. **Brault AC, Powers AM, Ortiz D, Estrada-Franco JG, Navarro-López R, Weaver SC.** Venezuelan equine encephalitis emergence: Enhanced vector infection from a single amino acid substitution in the envelope glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci.* 2004;101:11344-9. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0402905101>
11. **Groot H.** The health and economic impact of Venezuelan encephalitis (VEE). Washington, D.C.: PAHO; 1972. p. 7-16.
12. **Sanmartín-Barberi C, Groot H, Osorno-Mesa E.** Human epidemic in Colombia caused by the Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Am J Trop Med Hyg.* 1954;3:283-91.
13. **Rivas F, Díaz L, Cárdenas M, Daza E, Bruzón L, Alcalá A, et al.** Epidemic Venezuelan equine encephalitis in La Guajira, Colombia. *J Infect Dis.* 1997;175:828-32. <http://dx.doi.org/10.1086/513978>
14. **Barrera R, Ferro C, Navarro JC, Freier J, Liria J, Salas R, et al.** Contrasting sylvatic foci of Venezuelan equine encephalitis virus in Northern South America. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67:324-34.
15. **Ferro MC, Olano VA, Ahumada M, Weaver SC.** Mosquitos (Diptera: Culicidae) en el caserío de Chingalé, Santander, donde se registró un caso humano de encefalitis equina venezolana. *Biomédica.* 2008;28:234-44. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v28i2.94>
16. **Adames AJ.** Mosquito studies (Diptera, Culicidae) XXIV. A revision of the crabhole mosquitoes of the genus *Deinocerites*. *Contrib Amer Ent Inst.* 1971;7:1-154.
17. **Clark-Gil S, Darsie RF.** The mosquitos of Guatemala: Their identification, distribution and bionomics. *Mosquito Systematics.* 1983;15:151-284.
18. **Lane J.** Neotropical Culicidae. São Paulo: Editora Universidad de São Paulo; 1953.
19. **Forattini OP.** Entomología Médica. 2. Culicini: *Culex, Aedes y Psorophora.* Editora Universidad de Sao Paulo; Brazil. 1965.

20. **Cova P, Sutil E, Rausseo JA.** Mosquitos (Culicinos) de Venezuela. Caracas: Ministerio de Sanidad y Asistencia Social; 1966.
21. **Mureb Sallum MA, Forattini OP.** Revision of the *Spissipes* section of *Culex (Melanoconion)* (Diptera: Culicidae). J Am Mosq Control Assoc. 1996;12:517-600.
22. **González R, Carrejo NS.** Introducción al estudio taxonómico de *Anopheles* de Colombia. Cali: Programa Editorial Universidad del Valle; 2009. p. 260.
23. **Ministerio de Salud y Protección Social, Instituto Nacional de Salud, Organización Panamericana de la Salud.** Protocolo para la vigilancia en salud pública del dengue. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2014. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/temas-de-interes/Dengue/01%20Protocolo%20Dengue.pdf>.
24. **Chadee DD.** A comparison of three *Aedes aegypti* sampling methods in Trinidad. WI Cah ORSTOM. Ser Entomol Med Parasitol. 1985;24:199-205.
25. **Draper NR, Smith H.** Applied regression analysis. New York: John Wiley & Sons editors Inc.; 1966. p. 133-77.
26. **Hijmans RJ, Cameron S, Parra J, Jones PG, Jarvis A.** Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. Int J Climatol. 2005;25:1965-78. <http://dx.doi.org/10.1002/joc.1276>
27. **Instituto Colombiano Agropecuario.** Consolidado Nacional por Especies 2013. Fecha de consulta: 17 de octubre de 2014. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiologia-Veterinaria/Censos-2013/Especies-Consolidado-Nacional.aspx>.
28. **Ortiz DI, Weaver SC.** Susceptibility of *Ochlerotatus taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) to infection with epizootic (subtype IC) and enzootic (Subtype ID) Venezuelan equine encephalitis viruses: Evidence for epizootic strain adaptation. J Med Entomol. 2004;41:987-93. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585-41.5.987>
29. **Ortiz DI, Anishchenko M, Weaver SC.** Susceptibility of *Psorophora confinnis* (Diptera: Culicidae) to infection with epizootic (subtype IC) and enzootic (Subtype ID) Venezuelan equine encephalitis viruses. J Med Entomol. 2005;42:857-63. [http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585\(2005\)042\[0857:SOPCDC\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585(2005)042[0857:SOPCDC]2.0.CO;2)
30. **Dickerman RW, Cupp EW, Groot H, Morales-Alarcón A, Cura E, Dickermann AW, et al.** Venezuelan equine encephalitis virus activity in Northern Colombia during April and May 1983. Bull Pan Am Health Organ. 1986;20:276-83.
31. **Ortiz DI, Kang W, Weaver SC.** Susceptibility of *Ae aegypti* (Diptera: Culicidae) to infection with epidemic (subtype IC) and enzootic (subtypes ID, IIC, IID) Venezuelan equine encephalitis complex alphaviruses. J Med Entomol. 2008;45:1117-25. [http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585\(2008\)45\[1117:SOADC\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585(2008)45[1117:SOADC]2.0.CO;2)
32. **Olano VA.** Hallazgo de *Aedes taeniorhynchus* (Wiedemann, 1821) en un lugar del municipio de Ambalema, Departamento del Tolima (Colombia) (Diptera: Culicidae). Biomédica. 1985;5:26-8. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v5i1-2.1898>
33. **Bello FJ, Rodríguez JA, Escovar J, Olano VA, Morales A, González M, et al.** A new continuous cell line from the mosquito *Psorophora confinnis* (Diptera: Culicidae) and its susceptibility to infections with some arboviruses. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001;96:1-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762001000600022>
34. **Morales A, Ferro C, Isaza de Rodríguez C, Cura E.** Encuesta sobre artrópodos de interés médico en La Guajira, Colombia, Sudamérica. Biomédica. 1987;7:87-94. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v7i3-4.1939>
35. **Olano VA, Brochero HL, Sáenz R, Quiñones ML, Molina JA.** Mapas preliminares de la distribución de especies de *Anopheles* vectores de malaria en Colombia. Biomédica. 2001;21:402-8.
36. **Salazar MJ, Moncada LI.** Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. Biomédica. 2004;24:385-92. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v24i4.1288>
37. **Valero N, Añez F, Larreal Y, Arias J, Rodríguez Z, Espina LM.** Evaluación de la inmunidad contra los virus de encefalitis equina venezolana y dengue en la población humana de San Carlos, Municipio Insular Almirante Padilla, Estado Zulia, Venezuela. Invest Clin. 2001;42:161-70.