

**GUÍAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA  
EFICACIA DEL ROCIADO ESPACIAL DE  
INSECTICIDAS PARA EL CONTROL DEL  
VECTOR DEL DENGUE**

***Aedes aegypti***

Por:

P. Reiter y M.B. Nathan

## **Ó Organización Mundial de la Salud 2003**

Se reservan todos los derechos.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La Organización Mundial de la Salud no garantiza que la información contenida en la presente publicación sea completa y exacta. La Organización no podrá ser considerada responsable de ningún daño causado por la utilización de los datos.

Las opiniones expresadas en la presente publicación son responsabilidad exclusiva de los autores cuyo nombre se menciona.

## **PREFACIO**

Este documento ha sido preparado para responder a una recomendación hecha en base a una consultoría informal para el fortalecimiento de la implementación de la estrategia global para la prevención y control del dengue y el dengue hemorrágico, llevada a cabo en la sede central de la OMS en Ginebra, del 18 al 20 de octubre de 1999, con la intención de estimular y guiar a las autoridades de salud pública a realizar evaluaciones entomológicas del impacto del rociado espacial de insecticidas sobre el principal mosquito vector del dengue, el *Aedes aegypti*. La OMS estará complacida de brindar ayuda a los países en adaptar estas pautas a sus necesidades locales. Se alienta a las autoridades nacionales a compartir los resultados de estos estudios y así poder asistir a la OMS en el desarrollo de estrategias regionales y globales para la prevención y el control del dengue.

Un documento complementario “Aplicación de insecticidas por rociado espacial para el control de vectores y pestes en salud pública” se publicará en el 2003. Este documento describe los procedimientos operacionales y consideraciones necesarias para asegurar el uso correcto y la aplicación de insecticidas por rociado espacial.

## **AGRADECIMIENTOS**

El Departamento de Control, Prevención y Erradicación de Enfermedades Transmisibles agradece la contribución del autor principal de este documento, Dr. Paul Reiter, entomólogo investigador del Centro de Prevención y Control de Enfermedades, área de dengue, San Juan, Puerto Rico. También agradecemos a las siguientes personas por hacer una revisión crítica y por la invaluable contribución en la preparación de este documento:

- Sr. Manuel Amador, Centro de Prevención y Control de Enfermedades, área de dengue, San Juan, Puerto Rico.
- Dr. Chang Moh Seng, Universidad de Malasia, Sarawak.
- Dr. Gary Clark, Centro de Prevención y Control de Enfermedades, área de dengue, San Juan, Puerto Rico.
- Dr. Dana Focks, Gainesville, Florida, USA.
- Dr. Christian Frederickson, Organización Panamericana de la Salud, Brasilia, Brasil.
- Dr. John Invest, División de Salud Ambiental, Aventis, Aylesbury, UK.
- Sr. Manuel Lluberas, H.D. Fabricaciones Hudson, Jacksonville, Florida, USA.
- Dr. Michael Nelson, Tampa, Florida, USA.
- Dr. Scott Ritchie, Unidad de Medicina Tropical en Salud Pública, Queensland Salud, Cairns, Australia.
- Dr. Tom Scott, Universidad de California, Davis, USA.
- Dr. Morteza Zaim, Plan OMS de Evaluación de Pesticidas (WHOPES), Ginebra, Suiza.

# ÍNDICE

Prefacio

Agradecimientos

1.	<b>Introducción</b>	<b>1</b>
1.1	<i>¿Qué es el rociado espacial?</i>	<b>2</b>
1.2	<i>¿Por cuánto tiempo permanece efectivo?</i>	<b>3</b>
1.3	<i>¿Por qué se usa el rociado espacial?</i>	<b>5</b>
2.	<b>Procedimientos de evaluación: monitoreo de la población de <i>Aedes aegypti</i> in situ</b>	<b>6</b>
2.1	<b><i>Ovitrapas de infusión olfativa atrayente</i></b>	<b>8</b>
2.1.1	<i>Descripción de las ovitrampas</i>	9
2.1.2	<i>Preparación de las ovitrampas</i>	11
2.1.3	<i>Áreas de captura y sitios de muestreo</i>	15
2.1.4	<i>Recambio del par de ovitrampas</i>	16
2.1.5	<i>Conteo de huevos e interpretación de los resultados</i>	17
2.2	<b><i>Captura de mosquitos adultos con aspiradores de tipo mochila en sitios de reposo internos</i></b>	<b>19</b>
2.2.1	<i>Aspiradores de tipo mochila</i>	20
2.2.2	<i>Rutina de campo</i>	21
2.2.3	<i>Procesamiento de la captura</i>	22
2.3	<b><i>Ventajas y desventajas de los dos métodos de muestreo</i></b>	<b>23</b>
3.	<b>Bioensayos de la jaula</b>	<b>26</b>
4.	<b>Resumen</b>	<b>29</b>

<b>Referencias seleccionadas</b>	<b>31</b>
<b>Anexo 1</b>	<b>33</b>
<b>Anexo 2</b>	<b>36</b>

## 1. Introducción

El *Aedes aegypti* es el principal vector del dengue en las áreas urbanas. La estrategia global para la prevención y control del dengue requiere un control vectorial selectivo, integrado a la participación intersectorial y comunitaria.

Durante las epidemias y períodos con un alto riesgo de transmisión, las autoridades locales usan frecuentemente el rociado espacial de insecticidas en el esfuerzo de controlar el mosquito adulto. Este tipo de rociado normalmente se aplica desde un equipo portátil (tipo mochila o aplicador manual), o desde un equipo montado en un vehículo, aunque también se han usado helicópteros y avionetas de ala fija. Su efecto adulticida es transitorio y tiene poco o ningún efecto en las fases acuáticas del vector.

La eficacia del rociado espacial es grandemente influenciada por una amplia gama de factores medio-ambientales y operacionales. Por esta razón, la Organización Mundial de la Salud recomienda que las autoridades de salud pública evalúen el impacto de estos tratamientos en la población del mosquito vector bajo *sus condiciones locales*. Estas valoraciones deben formar parte íntegra de las operaciones de control y pueden ser consideradas como un primer paso en la determinación de costo-efectividad relativa a otras estrategias de control.

El presente documento fue escrito para ayudar a los coordinadores o jefes de programas de control vectorial y a otros especialistas de salud pública a llevar a cabo tales valoraciones. No se intenta cuantificar las densidades del vector adulto y otros parámetros entomológicos relacionados a los umbrales requeridos para la interrupción o reducción de la transmisión del virus, ya que esto requiere conocimiento adicional de factores que

afectan la dinámica de transmisión del dengue bajo las condiciones locales, como la tasa de seroconversión en la población humana y la virulencia de las cepas de virus del dengue circulantes.

Los factores críticos para el uso efectivo del rociado espacial incluyen:

- La elección del insecticida, su formulación y la susceptibilidad de las poblaciones de mosquito a dicho insecticida<sup>1</sup>.
- Dosificación.
- El tamaño de las gotitas de aerosol.

Además es importante que los tratamientos sean hechos:

- A una velocidad de aplicación adecuada.
- Bajo condiciones meteorológicas óptimas.
- Durante los períodos de máxima actividad de vuelo de los mosquitos.

La discusión de estos factores está fuera del alcance de esta guía; sin embargo, pueden encontrarse detalles en los documentos pertinentes en la lista de Referencias Seleccionadas.

### **1.1 ¿Qué es el rociado espacial?**

El rociado espacial es técnicamente la aerolización de un insecticida líquido lanzado al aire en forma de centenares de millones de gotas diminutas. Los primeros equipos

---

<sup>1</sup> En muchas partes del mundo, el *Ae. aegypti* exhibe una susceptibilidad reducida a varios grupos de insecticidas, incluyendo aquéllos normalmente usados más comúnmente en el rociado espacial. Por esta razón, las pruebas de susceptibilidad a insecticidas deben preceder a las evaluaciones de campo. Se detallan los procedimientos de las pruebas estándares en el documento: WHO/VBC/81.806.



utilizados usaban insecticidas diluidos en grandes volúmenes de gasoil o agua. Un sistema movido a calor y presión fuerza a esta solución, a través de una boquilla atomizada en una explosión poderosa de aire caliente, a producir una densa “niebla blanca termal”. Estudios posteriores mostraron que dichos diluyentes no eran críticos para la eficacia del método, y se desarrollaron los nuevos generadores fríos de aerosol, para administrar cantidades pequeñas de insecticida altamente concentrado, por esta razón el término 'volumen ultra bajo' (VUB). Ambos métodos producen gotas que van de 1-50  $\mu\text{m}$  volumen diámetro medio (VDM).<sup>\*</sup> Las gotas más grandes tienden a caerse por gravedad mientras que las gotas más pequeñas no impactan efectivamente en las superficies sólidas<sup>2</sup> y permanecen suspendidas en el aire por períodos largos de tiempo. Las máquinas modernas de UVB están diseñadas para entregar el volumen del insecticida al tamaño de la gota óptimo de 8-15  $\mu\text{m}$  VDM.\*

## **1.2 ¿Por cuánto tiempo permanece efectivo?**

Después de la descarga de la máquina, la dispersión de las gotas es grandemente dependiente del movimiento natural del aire. En espacios abiertos, la distancia de la dispersión es esencialmente una función de la velocidad y dirección del viento, pero para aplicaciones al aire libre en zonas urbanas la situación se vuelve más compleja. Para las aplicaciones al aire libre, la orientación, el diseño y la forma de las calles, las características térmicas y la yuxta-

---

<sup>2</sup> Rociados húmedos o como gotas de rocío con un tamaño de la gota de 50-100  $\mu\text{m}$  puede producir un depósito del insecticida. Sin embargo, tales tratamientos no son estrictamente rociados espaciales, y no se discuten aquí. Además, su uso se prohíbe en algunos países.

\*NT: en la publicación número 548 de OPS “Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control”, se refieren al diámetro medio de la masa (DMM) para indicar esta medida.

posición de edificios y vegetación generan complejos patrones de corrientes de aire, transmisión y turbulencias que determinan la vía de dispersión y el destino final de las gotas. Los factores tales como el tamaño, diseño y ubicación de ventanas dictan la penetración de las gotas en los edificios. Los patrones complejos de corrientes de aire y ventilación en el interior gobiernan su movimiento entre y dentro de las habitaciones.

Las aplicaciones en ambientes internos usando el equipo portátil son menos dependientes de la dispersión ya que el operador puede dirigir el aerosol. No obstante, sitios protegidos del movimiento de aire reciben relativamente pocas gotas; por tanto los mosquitos que reposan en tales lugares, probablemente estén menos expuestos a entrar en contacto con el insecticida.

Las gotas que quedan flotando tienden a dispersarse, y esta dispersión reduce la probabilidad que un gran número de ellas impacten en el mosquito en vuelo de modo de descargar la dosis letal. El ancho eficaz de la franja de aspersión – o sea la distancia desde el punto de aplicación para que las gotas del aerosol permanezcan juntas en gran número para lograr la muerte del mosquito – es una función operativa de la máquina, el tipo de insecticida, la proporción de aplicación, el espectro de la gota y todos los factores referentes a la corriente de aire arriba mencionados.

Normalmente se descargan aerosoles desde las máquinas montadas en vehículos para cubrir una franja de 60-90 m. Así, en una área abierta con una gran corriente de aire sin impedimento y una velocidad media del viento de 5 km/hora (83 m/min), las gotas flotarán más allá de la franja normal en aproximadamente un minuto. En áreas urbanas donde la corriente de aire es más

compleja, la proporción y tendencia de la dispersión puede ser más lenta.

Los tratamientos son a veces más eficaces cuando los insectos están activos ya que las gotas probablemente impacten más sobre los mosquitos en vuelo que en aquéllos que están en reposo.

### **1.3 ¿Por qué se usa el rociado espacial?**

Se recomienda el uso del rociado espacial en situaciones donde la reducción de criaderos no ha limitado la producción de adultos del *Ae. aegypti*, y el riesgo de transmisión del dengue es alto. El objetivo es reducir la población hembra adulta y su longevidad tan rápidamente como sea posible.

En la práctica, el rociado espacial sólo puede reducir la transmisión del dengue si la población del vector está reducida en una densidad por debajo de un umbral hasta ahora no definido y variable, o si los mosquitos se exterminan antes de que los mismos alcancen un estadio en el cual pueden transmitir el virus (un mínimo de 8-10 días - período de incubación extrínseco).

En teoría, debe hacerse un mínimo de tres tratamientos sucesivos a intervalos máximos de 7 días si se desea que el virus sea eliminado tanto de humanos como de mosquitos<sup>3</sup>.

En la práctica es improbable que los tratamientos eliminen más de una porción de la población salvaje del *Ae. aegypti*, por tanto las aplicaciones deben continuar por más tiempo para lograr una supresión óptima de la transmisión. Los objetivos principales de la evaluación entomológica son valorar el grado de reducción de la población hembra adulta y su supervivencia que resulta de la(s) aplicación(es) del rociado espacial.

## **2. Procedimientos de evaluación: monitoreo de la población de *Aedes aegypti* in situ**

Ya que el efecto de la aplicación de insecticidas por rociado espacial es inmediato y transitorio, la población del mosquito adulto debe supervisarse diariamente.

---

<sup>3</sup> Es importante considerar los factores involucrados. Cuando una persona se infecta por la picadura de un mosquito, los síntomas de la enfermedad generalmente aparecen después de 4-7 días. Éste es el *período de incubación intrínseco*. Durante la incubación, la cantidad de virus en la sangre aumenta hasta alcanzar un nivel lo suficientemente alto para que el mosquito se infecte cuando se alimenta de ésta. El resultante *período de infectividad* empieza poco antes del inicio de síntomas, y generalmente permanece hasta pasados 4-5 días. Aun así, si se aplica el rociado para eliminar todos los mosquitos infectados, el virus sobreviviría en la población humana por un total de 7-12 días, y podrían infectarse mosquitos que surgieron y se alimentaron durante este período. Es más, cuando un mosquito ingiere el virus en una ingesta de sangre, un mínimo de 8-10 días debe pasar antes de que el insecto sea capaz de transmitir el virus - *el período de la incubación extrínseco*. Ciertamente, para el control eficaz del dengue, los insectos que surgen después del tratamiento inicial pero dentro de los 7-12 días del período de incubación o infectividad, deben eliminarse a intervalos menores que del período de la incubación extrínseco, de otra forma el virus pasará a nuevos huéspedes humanos.

El principio de las evaluaciones descrita en esta guía es que un monitoreo pre-tratamiento sea llevado a cabo en dos áreas durante por lo menos tres días; una área tratada y otra área no tratada; ambas áreas son diariamente monitoreadas durante una semana o hasta que la población de mosquitos en el área rociada recupere niveles encontrados en el pre-tratamiento. El impacto del tratamiento se evalúa comparando los cambios en el recuento diario de la población, y para las capturas de hembras adultas en reposo, también los cambios en la paridad, en el área tratada contra el área no tratada.

Las áreas tratadas y las no tratadas deben ser tan similares como sea posible con respecto al tipo de viviendas, características socio-económicas, diseño de las calles y otros factores que probablemente puedan afectar los mosquitos destinatarios y el movimiento del aerosol. Para minimizar el efecto de mosquitos que entran de los barrios no tratados, el área tratada debe incluir una 'zona buffer o de amortización', que se extienda idealmente 1000 m más allá del área central de evaluación entomológica. Las barreras naturales, como los ríos, espacios abiertos grandes, o bosques densos pueden sustituir la 'zona buffer o de amortización'.

En cualquier evaluación, es preferible usar más de un método de monitoreo. El nivel de conocimientos de los trabajadores y la disponibilidad de equipo y otros recursos influirá en la elección del método a ser utilizado.

Se recomiendan dos métodos para el *Ae. aegypti*:

- Ovitampas de infusión olfatoria atrayente que sirven para monitorear la presencia de huevos (oviposición).
- Aspiradores tipo mochila que sirven para monitorear la población de adultos en reposo.

Ambos métodos han dado resultados útiles en varios países bajo ciertas condiciones. Sin embargo, como en todas las técnicas de muestreo de campo, cada una tiene sus ventajas y desventajas que deben evaluarse antes de su uso bajo las condiciones locales.

Las capturas con sebo humano de hembras adultas de *Ae. aegypti* también han sido usadas para monitorear los cambios diarios en la abundancia de la población del vector. Sin embargo, el método es muy laborioso, ineficaz y muy dependiente de las habilidades del que realiza la captura así como también de cuán atrayente sea la sangre para los mosquitos. Es más, en la ausencia de una vacuna o profilaxis, el riesgo de infección con el virus del dengue es de suficiente preocupación para que en algunos países este método de captura sea considerado inaceptable éticamente. Por dicha razón, el método no ha sido incluido en esta guía.

## **2.1 Ovitrapas de infusión olfatoria atrayente**

En su hábitat natural en África, el *Ae. aegypti* se cría en los agujeros de los árboles, en las axilas de las hojas y otros sitios naturales pequeños donde el agua se acumula. Sin embargo, en las villas y las zonas urbanas a lo largo de las áreas tropicales y sub-tropicales la especie ha adaptado una amplia variedad de recipientes artificiales que le sirven como sitios de oviposición. Las hembras generalmente distribuyen sus huevos (ovispostura) entre varios sitios, simplemente pegados a la superficie sólida inmediatamente por debajo del nivel del agua.

Las ovitrampas son recipientes de un tamaño conveniente que se colocan en el campo para capturar los huevos del mosquito. Las jarras de vidrio pintadas de color negro, conteniendo agua limpia y una paleta de madera o de

'masonita', actúan como un substrato para la oviposición, el cual fue extensamente usado a mediados del siglo 20 durante la campaña de erradicación del *Ae. aegypti* en la región de las Américas. En situaciones donde se han reducido las poblaciones del vector a niveles bajos tales que la búsqueda de larvas resulte improductiva, dicho método era un indicador útil de la presencia o ausencia de las especies. Sin embargo, es impropio para supervisar la actividad de oviposición diaria ya que deben dejarse en el campo durante varios días (normalmente una semana).

Las infusiones de heno son mucho más atractivas a las hembras grávidas que el agua limpia; por consiguiente pueden desplegarse ovitrampas con infusión de heno en una base diaria. El promedio de huevos por trampa por día es una función del número de hembras presentes y su actividad de oviposición.

### *2.1.1 Descripción de las ovitrampas*

Se recomienda usar jarras o frascos de vidrio o plástico alrededor de 500 ml, preferentemente de color oscuro. Las dimensiones no son críticas, pero todas las jarras que se usan en un estudio particular deben ser idénticas.

La infusión debe hacerse empapando una cantidad fija de heno seco<sup>4</sup> en una cantidad fija de agua limpia de grifo o canilla (por ejemplo 500 g en 120 l).

---

<sup>4</sup> Otro material de plantas secas puede usarse, pero debe probarse su eficacia previamente en el campo. Algunos trabajadores de campo han encontrado que la alfalfa seca es inapropiada.

El *Ae. aegypti* prefiere oviponer en una superficie rugosa, por tanto la superficie interna de los frascos o las jarras se cubren con un papel rugoso absorbente que permanece duro aun cuando está húmedo<sup>5</sup>. Este papel se corta de un tamaño tal que encaje cómodamente dentro de la jarra, superponiéndolo de modo que tape toda la superficie interior de la misma para asegurar que los huevos sean puestos en el papel.

Las jarras se preparan en pares; una debe contener la infusión de heno y la otra una dilución al 10% de la misma infusión (una parte de infusión más nueve partes de agua) (Fig. 1). La infusión diluida usualmente recibe más huevos pero la presencia de la infusión pura agrega atractivo al par de ovitrampas.



Fig. 1. Jarras de ovitrampas. Las jarras o frascos son siempre preparadas en pares, una con la infusión pura y la otra con la dilución.

---

<sup>5</sup> Un producto satisfactorio es el papel #76 usado en la germinación de semillas, con un peso pesado extra, de la Anchor Paper Co, Box 65648, St. Paul, Minn. 55165, EE.UU. Pueden también usarse tiras de madera o masonita en lugar del papel, pero los frascos deben mantenerse escrupulosamente limpios para evitar que las hembras pongan sus huevos en la superficie del frasco. Pero es preferible el papel porque los huevos se encuentran uniformemente distribuidos y son por consiguiente más fáciles de contar.



### 2.1.2 Preparación de las ovitrampas

El procedimiento de la captura debe "estandarizarse" tanto como sea posible. Algunos puntos importantes son:

- Las infusiones deben hacerse en un lugar bajo sombra.
- Una nueva infusión debe prepararse siete días antes del día de la captura, para que el attractante tenga siempre el mismo tiempo de preparación que en su día de uso (Figs. 2, 3).
- El mismo lote de heno debe usarse para un estudio completo (la calidad de heno puede ser bastante variable).
- La infusión debe filtrarse, a través de un cedazo o colador antes de su uso, de modo de eliminar los restos sólidos flotantes (Fig. 4).
- La infusión diluida debe prepararse inmediatamente antes de llenar los frascos (Fig. 5).
- Los frascos deben colocarse en bandejas, apilados de forma tal que se impida vuelcos o derramamientos durante el transporte y deben ser llenados con dos tercios de la infusión o con la dilución, usando una taza u otra medida (Fig. 6).
- Deben arreglarse e identificarse claramente los pares de trampas en las bandejas de forma tal que se evite confusión.

- Después de agregar la infusión, se agrega el papel para capturar los huevos, previamente etiquetado y marcado con un lápiz, el número de sitio y la fecha. Éste debe insertarse cómodamente para encajar con las paredes del frasco (Fig. 7).
- Las bandejas con los frascos deben protegerse de la lluvia, la luz del sol directa y los mosquitos durante el transporte, el cual preferentemente debe ser en un vehículo cubierto.



Fig. 2. Preparación de la infusión. El heno seco es pesado en una balanza a escala.



Fig. 3. El heno es inmerso en un recipiente conteniendo agua de grifo; en este caso, 500 g de heno es añadido a 120 litros de agua.



Fig. 4. Luego de siete días el material sólido es removido usando un cedazo o un colador de cocina.



Fig. 5. La infusión diluida al 10% se prepara justo antes de llenar las jarras de ovitrampa.



Fig. 6 Llenado de las jarras de ovitrampa. La infusión se carga en las jarras hasta dos tercios del volumen, usando una taza u otra medida. Éstas deben colocarse en filas alternadas y claramente marcadas (no diluido/diluido) y apilados en la bandeja de forma tal que se evite derramamientos durante el transporte.



Fig. 7. Inserción del papel en la ovitrampa. Los papeles se pre-etiquetan con un lápiz escribiendo el número de sitio y fecha. El papel rugoso absorbente se corta a un tamaño tal que encaje y se superponga de forma que la superficie interior del frasco no sea expuesta.

### 2.1.3 Áreas de captura y sitios de muestreo

El objetivo de la captura es hacer muestreos en bastantes sitios para obtener una estimación válida estadísticamente del promedio de huevos por sitio por un período de 24 horas. Es difícil dar una cantidad específica pero la experiencia sugiere que por lo menos deben probarse 25-30 sitios. En una área de captura de 100 casas, aproximadamente en cada tercera o cuarta casa debe hacerse un muestreo. Ciertas consideraciones prácticas podrían afectar la selección de las casas en donde serán puestas las ovitrampas. Por ejemplo, los predios con portones cerrados con llave u otros obstáculos pueden impedir el trabajo de los colectores. Los sitios en donde hay niños pequeños, animales domésticos y pájaros deben evitarse porque pueden perturbar las ovitrampas.

El *Ae. aegypti* usa señales visuales para localizar sus sitios de oviposición, por lo que las ovitrampas deben colocarse en lugares en donde sean muy visibles. Es ideal

en la base de una pared protegida de la lluvia y la luz directa del sol. También es preferible un fondo pálido, para contrastar con el color oscuro de los frascos. Los operadores deben explicar el propósito de su trabajo al jefe de familia y solicitar su permiso para realizar el estudio. Se les debe explicar claramente que los pares de ovitrampas se reemplazarán al mismo tiempo, todos los días, que los frascos no deben interferirse de forma alguna, y que la infusión es completamente natural e inofensiva para las personas y los animales domésticos.

#### *2.1.4 Recambio del par de ovitrampas*

Dos operadores con un vehículo deben poder retirar cerca de 100-150 pares de ovitrampas cada mañana. El trabajo debe restringirse al período de menor actividad de oviposición, típicamente dos horas después de la salida del sol y por lo menos cinco horas antes del ocaso. El nuevo par de ovitrampas debe intercambiarse por el viejo en la misma posición y en el mismo momento del día como en el día anterior. La infusión del viejo par debe desecharse y no debe reusarse. Los operadores deben guardar un registro de su trabajo (vea ejemplos de formularios de campo y laboratorio en el Anexo 1). Si se han perturbado las trampas de forma alguna, esto debe ser anotado y el papel para huevos de ese sitio debe ser desechado. En el vehículo, deben quitarse los papeles, doblarlos por la mitad (con los huevos hacia adentro) y transferirlos a un contenedor cubierto (Fig. 8). Los mismos pueden ser apilados pero flojamente para permitir la circulación aérea, y protegerlos de la luz del sol y el calor excesivo.



Fig. 8. Capturando los papeles la infusión es descartada y el papel es removido, doblado con los huevos hacia la parte interior y transferido a un contenedor cerrado.

### *2.1.5 Conteo de huevos e interpretación de resultados*

Los huevos son visibles a simple vista pero, para tener exactitud, es mejor contarlos en el laboratorio con la ayuda de una lupa o un microscopio binocular con una amplificación de x10 (Fig. 9). Cuando muchos huevos están presentes, un contador manual es una herramienta útil para esta tarea. También es muy útil delimitar áreas en el papel con un lápiz y contar los huevos por sección.



Fig. 9. Contando los huevos. Un contador manual es útil en la tarea.

Si hay necesidad de eclosionar los huevos para que puedan surgir larvas para la identificación de la especie, los papeles deben guardarse húmedos durante 2-3 días, luego se cuelgan por unas líneas durante 1-2 días para secarse a temperatura ambiente (Fig. 10). Luego dichos papeles ya pueden ser guardados en cajas o en bolsas selladas hasta el momento del conteo. Los huevos permanecerán viables durante al menos dos meses siempre que éstos sean guardados en un ambiente fresco, ligeramente húmedo y protegido de cucarachas y hormigas.

El número de huevos por papel debe anotarse en el formulario de campo. En regiones donde los huevos de otras especies de *Aedes* probablemente serán capturados (por ejemplo *Ae. albopictus* o *Ae. polynesiensis*) deben criarse las muestras de larvas salidas de los huevos hasta alcanzar el tercer o cuarto estadio y examinarlas para determinar las especies presentes.



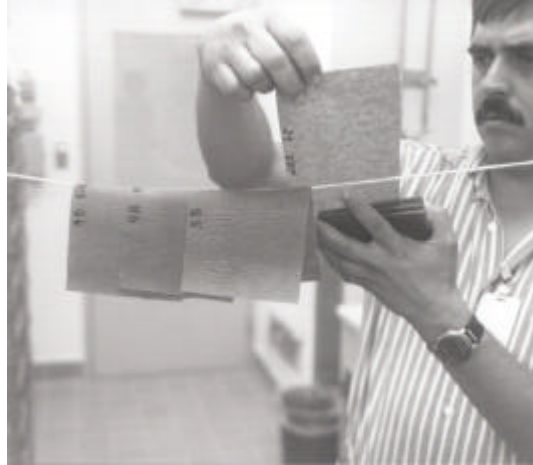


Fig. 10. Acondicionando los huevos para que puedan eclosionar para la identificación de la especie de la larva. Los papeles deben guardarse húmedos durante 2-3 días, luego se cuelgan por unas líneas durante 1-2 días para secarse a temperatura ambiente. Luego del secado se almacenan en contenedores cerrados hasta por 3 meses. Un pequeño pedazo de algodón embebido en agua puede ser incluido para mantener la humedad.

## **2.2 Captura de mosquitos adultos con aspiradores tipo mochila en sitios de reposo internos**

El *Ae. aegypti* raramente se encuentra lejos de las habitaciones humanas y rápidamente entra a los edificios. De hecho, la mayor actividad ocurre dentro de las habitaciones o en sitios al aire libre cubiertos cercanos a la vivienda. Los adultos pueden descansar en el interior en muchos sitios ecológicos, gran parte del día, en lugares oscuros y apartados. Los mosquitos en reposo pueden capturarse en tales sitios utilizando aspiradores portátiles de boca o a baterías o en vuelo con una red de mano. Sin embargo, ambos equipos consumen mucho tiempo al operador, son difíciles de usar en habitaciones oscuras, y son muy dependientes de la visión, habilidad y diligencia del operador.

### 2.2.1 Aspiradores de tipo mochila

Un dispositivo más eficaz es el aspirador de tipo mochila (Fig.11). Un aspirador impulsado por una batería de 12 voltios es bastante potente para capturar mosquitos que se encuentren a 10-15 centímetros de la boca del contenedor de captura, sin dañar o matar a los especímenes. El tubo flexible permite el acceso a sitios complicados. Los componentes usados en el armado del aspirador pueden comprarse en muchos sitios. El diseño y los detalles para el ensamblaje local fueron publicados por Clark *et al.* (1994).



Fig. 11. El aspirador tipo mochila. El dispositivo es fácil de construir usando como soporte una mochila, junto con un motor de aire acondicionado y un ventilador de automóvil, un mango flexible, y un tubo de PVC.

Los operadores trabajan mejor en pares, uno de ellos aspira metódicamente en los sitios donde es probable encontrar a los mosquitos reposando o en vuelo, mientras que el otro facilita el acceso moviendo mobiliario, ropa y otros artículos. Durante este esfuerzo el uso auxiliar de una red de mano para capturar los mosquitos puede agregar especímenes a la captura.

Los armarios, roperos de las áreas de dormitorios, detrás o entre la ropa colgada, son a menudo sitios muy productivos para la captura de los adultos en reposo. En viviendas con más de una habitación, es útil identificar las habitaciones más productivas antes de empezar una evaluación. Concentrándose en dos o tres de este tipo de habitaciones por casa, un par de operadores puede tomar muestras de 10-15 casas por mañana.

Como una alternativa al aspirador tipo mochila del CDC, algunos operadores han usado una modificación hecha en casa, la aspiradora 'tipo-barril'. Estos aparatos deben tener una succión suficientemente potente para poder capturar los mosquitos en vuelo 10-15 centímetros de la boca del recipiente de captura y además requieren una fuente accesible y fiable de electricidad en cada casa.

### *2.2.2 Rutina de campo*

Como en las capturas con las ovitrampas, el objetivo es obtener una muestra válida estadísticamente de la población de hembras adultas dentro de una área, expresada como el promedio de mosquitos por habitación o por casa. Un solo vaso colector puede usarse para la habitación, o para todas las habitaciones examinadas por casa. Como con las ovitrampas, la máxima confiabilidad se logra "estandarizando" el procedimiento tanto como sea posible. Algunos puntos muy importantes:

- Las capturas deben hacerse durante el período de mínima actividad de vuelo, normalmente desde la media mañana hasta principios de la tarde.
- El muestreo debe hacerse en las mismas habitaciones, en el mismo período de tiempo por los mismos operadores cada día.

Los recipientes de captura deben etiquetarse con la fecha y sitio de la captura. Los mismos deben transportarse al laboratorio con sus tapas bien cerradas, en frío para reducir la proporción de procesos fisiológicos y prevenir las pérdidas debido a otros insectos rapaces capturados (arañas, hormigas, etc.).

Es difícil dar una guía específica en cuanto al número de casas o habitaciones dentro de las casas que deben incluirse en el muestreo. Para tener una idea, por ejemplo, si se trabaja con dos habitaciones por casa y 25 casas tienen un rendimiento promedio de por lo menos 0.5-1.0 mosquitos por habitación, durante varios días, la muestra probablemente será adecuada para revelar los cambios en la densidad de hembras y las tasas de paridad como resultado del tratamiento con el insecticida.

### 2.2.3 *Procesamiento de la captura*

En el laboratorio, los mosquitos capturados pueden matarse poniendo los recipientes de la captura dentro de una bolsa plástica con una pequeña almohadilla humedecida con acetato de etilo, o en un congelador. Los mosquitos deben ser separados por sexo y las hembras de *Ae. aegypti* deben ser contadas.

Donde las habilidades técnicas y recursos sean disponibles, las hembras no alimentadas y frescas deben diseccionarse para determinar y comparar las tasas de paridad en las áreas rociadas y las no rociadas, usando el método de examinación ovárico-traqueolar (Anexo 2). Una reducción significativa en la tasa de paridad en un período de dos días siguientes al rociado lo cual no se observa en el área no rociada (mientras todos los otros factores permanecen iguales) es un indicativo de que el insecticida tuvo el efecto esperado; por tanto una gran proporción de

mosquitos que emergen después del rociado serán nulíparos.

### 2.3 Ventajas y desventajas de los dos métodos de muestreo

Cada uno de los métodos de muestreo de mosquitos tiene sus ventajas y desventajas que se resumen a continuación en la tabla 1.

Método	Ventajas	Desventajas
<p>(1) Ovitrapas de infusión olfatorio atrayente</p>	<p>Barato, equipamiento simple</p> <p>Mínimas aptitudes de conocimiento y diligencia requeridas al operador</p> <p>Mínima influencia subjetiva del operador sobre la captura</p> <p>Muestreo eficiente: dos operadores pueden manejar 100-150 ovitrampas diariamente</p> <p>No se necesita entrada en el interior de las viviendas. Mínima intromisión en la privacidad</p> <p>Conocimientos de laboratorio mínimos</p> <p>Riesgo mínimo para el operador durante el manejo de las ovitrampas</p> <p>Monitoreo de un componente de población epidemiológicamente importante (hembras grávidas)</p>	<p>No es una medida directa de la abundancia del mosquito: los resultados son una función del número de hembras grávidas presentes y su actividad de oviposición</p> <p>Si otra especie de <i>Aedes</i> diferente a <i>Ae. aegypti</i> está presente, la identificación consumiría más tiempo y requeriría un nivel más alto de habilidades</p>

Método	Ventajas	Desventajas
<p><b>Captura interior con aspirador</b></p>	<p><b>Muestreo directo de la población en reposo</b></p> <p><b>Captura de hembras en todos los estadios fisiológicos; puede ser estimada la relación paridad / longevidad</b></p>	<p><b>Las aptitudes, los conocimientos y diligencia del colector pueden ser altamente variables</b></p> <p><b>Trabajoso (dos operadores pueden hacer un muestreo de un máximo de 10-20 habitaciones por día)</b></p> <p><b>La entrada en la casa es necesaria; la presencia y colaboración de los dueños de casa es obligatoria, y las capturas requieren repetida intromisión en la privacidad</b></p> <p><b>Equipamiento relativamente caro y para su construcción local se requiere de conocimientos</b></p> <p><b>Las baterías necesitan un cuidadoso cargado y mantenimiento</b></p> <p><b>El ácido de las baterías puede ser peligroso</b></p>

**Tabla 1. Ventajas y desventajas de las ovitrampas de infusión atrayente y la captura de mosquitos adultos en reposo con aspiradores tipo mochila.**

La tabla 2 proporciona un ejemplo de los recursos necesarios para una evaluación de campo típica en la que se supervisan poblaciones de mosquito en una área tratada y en otra no tratada usando ovitrampas de infusión atrayente y aspiradores tipo mochila.

	Ovitrampas	Captura de adultos en reposo
<b>Operadores</b>	2	8
<b>Vehículos</b>	1	2
<b>Equipamiento básico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 240 ovitrampas</li> <li>• 12 bandejas plásticas</li> <li>• 7 contenedores de basura</li> <li>• colador de cocina (para eliminar desechos sólidos del heno)</li> <li>• 3 baldes o tamboras</li> <li>• los papeles de germinación de semilla (para los huevos)</li> <li>• 1 lente de aumento</li> <li>• heno</li> <li>• sitio sombreado para la preparación de infusiones</li> <li>• suministro de agua</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 4 aspiradores tipo mochila</li> <li>• 8 motores a batería (12 voltios)</li> <li>• 2 cargadores de batería</li> <li>• 60 contenedores de captura</li> <li>• 4 redes de mariposas</li> <li>• 4 conservadoras o cajas frías</li> <li>• 8 paquetes de hielo</li> <li>• sitio para cargar baterías</li> </ul>
<b>Sitios de muestreo por área</b>	30	10 casas por grupo, 3 habitaciones por casa
<b>Total de muestras</b>	60	120

**Tabla 2. Un ejemplo de los recursos necesarios para una típica evaluación de campo usando las ovitrampas de infusión atrayente y los aspiradores tipo mochila en una área tratada y en otra no tratada.**

### 3. Bioensayos de la jaula

Los bioensayos con mosquitos enjaulados se han usado ampliamente en los trabajos de rociado espacial contra un gran rango de especies de mosquito incluso el *Ae. aegypti*. El sitio de ubicación de las jaulas afecta grandemente la mortalidad, pero esto no es una medida del impacto global del rociado en la población del mosquito vector, por ejemplo, se observan grandes diferencias entre las proporciones de mortalidad en las jaulas colocadas en sitios al aire libre si se compara con aquellas jaulas ubicadas en la vegetación densa, y entre las jaulas suspendidas en el centro de las habitaciones comparando con aquéllas suspendidas en los armarios de ropa. Sin embargo, estas jaulas dan una indicación de la dispersión y penetración de las gotas. También son útiles para comparar la mortalidad de las cepas de *Ae. aegypti* local con cepas de referencia susceptibles.

El diseño de la jaula, los materiales y el tamaño de la malla influyen los resultados del ensayo. Las pruebas de túnel de viento indican que una pantalla cilíndrica con el eje longitudinal en posición perpendicular a la base es un diseño conveniente de jaula, sin tener en cuenta la dirección del viento. Un diseño de jaula simple puede construirse de una malla de nilón número 16 y 2 clavijas de 2.5 centímetros con un largo de 2 centímetros (Fig. 12).





Fig. 12. Bioensayo de jaula. El tubo se fabrica con una malla de nilón 16. Los extremos se tapan con una clavija de 2.5 cm con 2cm de largo aseguradas por un tarugo de caucho. Los mosquitos se introducen a través de un agujero en la parte de abajo a través de un tapón que es cerrado con un taco de lana de algodón empapado en el agua.

Los mosquitos para el bioensayo deben obtenerse de huevos capturados en el campo. Las larvas que emergen de los huevos eclosionados deben criarse sin hacinamiento y con un suministro de comida adecuado para asegurar uniformidad en el tamaño. Poco antes del tratamiento, 20-25 hembras de 24-36 horas de vida alimentadas en una solución de azúcar al 2.5%, deben transferirse a cada jaula del bioensayo. Las jaulas deben transportarse al campo en cajas protegidas del calor extremo. Por lo menos deben colocarse las jaulas en cinco casas dentro del área del tratamiento. Como un mínimo para la evaluación de rociado espacial aplicado al aire libre desde las máquinas montadas en los vehículos o

desde aviones, deben localizarse las jaulas en cada casa en los siguientes sitios: (a) patio de enfrente; (b) patio trasero; (c) en el interior de un sitio expuesto y (d) dentro en un sitio protegido. El mismo número de jaulas deben exponerse en estos mismos sitios en el área no tratada.

Treinta minutos después de la exposición, las jaulas deben quitarse y ser llevadas al laboratorio en sus cajas de transporte. Los mosquitos deben ser adormecidos o inmovilizados usando el anhídrido carbónico o poniéndolos durante unos minutos en un refrigerador; transfiriéndolos tan rápidamente como sea posible a una jaula de mantenimiento limpia y claramente marcada. En cada una de estas jaulas debe haber un trozo de algodón empapado en agua, y mantenerlas a temperatura ambiente (Fig. 13). La mortalidad en todas las jaulas debe determinarse 24 horas después de la aplicación del rociado.



Fig. 13 La jaula de mantenimiento. Después de la exposición en la jaula de bioensayo, se transfieren los mosquitos a una jaula de mantenimiento simple a temperatura ambiente. La mortalidad es determinada después de 24 horas.

#### 4. Resumen

Todos los métodos de captura de mosquitos tienen limitaciones prácticas e introducen sesgos en el muestreo. Los dos métodos recomendados en esta guía, las ovitrampas de infusión atrayente y la captura con aspiradores tipo mochila, muestran porciones diferentes de la población de mosquitos adultos. El primero monitorea selectivamente la gravidez y actividad de postura de huevos de las hembras, mientras que el segundo monitorea a la población de hembras dentro de los sitios de reposo interior en todas las fases de su ciclo gonadotrófico. Ambos métodos se desarrollaron para permitir a las autoridades de salud pública evaluar el impacto de la aplicación del rociado espacial de insecticidas monitoreando diariamente la población de *Ae. aegypti*.

Las ovitrampas de infusión atrayente son baratas y simples de operar, necesitan una mano de obra mínima y son menos dependientes de las habilidades y la diligencia del operador. Las capturas en los sitios de reposo con el aspirador tipo mochila monitorean a la población adulta de una manera más directa y proporcionan material adecuado para la determinación de la tasa de paridad. Sin embargo, son más laboriosas y requieren mayor habilidad y dedicación, además de la intromisión al interior de las viviendas. Si se dispone de recursos, el uso simultáneo de ambos métodos aumentará la confianza en los resultados.

Por el bioensayo de la jaula puede obtenerse información acerca del movimiento de los aerosoles en el área designada pero este método no debe considerarse sustituto para supervisar los efectos del rociado espacial sobre la población del vector.

El objetivo último de las evaluaciones operacionales es determinar si el rociado espacial es eficaz en las condiciones locales y, en caso afirmativo, con qué frecuencia deben aplicarse estos tratamientos para tener efectos en la transmisión del dengue. Las autoridades locales deben realizar dichas evaluaciones para determinar si el rociado espacial es una intervención de salud pública útil.

## Referencias seleccionadas

Clark, G. G., H. Seda, and D. J. Gubler, 1994: Use of the "CDC backpack aspirator" for surveillance of *Aedes aegypti* in San Juan, Puerto Rico. *J Am Mosq Control Assoc*, **10**, 119-24.

Detinova, T.S., 1962: Age grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria. *WHO Monograph Series*, No. 47, World Health Organization, Geneva.

Focks, D. A., K. O. Kloter, and G. T. Carmichael, 1987: The impact of sequential ultra-low-volume ground aerosol applications of malathion on the population dynamics of *Aedes aegypti* (L.). *Am J Trop Med Hyg*, **36**, 639-47.

Fox, I. and P. Specht, 1988: Evaluating ultra-low-volume ground applications of malathion against *Aedes aegypti* using landing counts in Puerto Rico, 1980-84. *J Am Mosq Control Assoc*, **4**, 163-7.

Gerberg, E., Barnard, D. and Ward, R., 1994. Manual for Mosquito Rearing and Experimental Techniques. (revised), American Mosquito Control Association.

Mount, G. A., 1998: A critical review of ultra-low-volume aerosols of insecticide applied with vehicle-mounted generators for adult mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc*, **14**, 305-34.

Newton, E. A. and P. Reiter, 1992: A model of the transmission of dengue fever with an evaluation of the impact of ultra-low-volume (ULV) insecticide applications on dengue epidemics. *Am J Trop Med Hyg*, **47**, 709-20.

Reiter, P. and D. J. Gubler, 1997: Surveillance and control of urban dengue vectors. *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*, D. J. Gubler and G. Kuno, Eds., CAB International, 425-462.

Reiter, P., M. A. Amador, and N. Colon, 1991: Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. *J Am Mosq Control Assoc.* **7**, 52-5.

Organización Mundial de la Salud, 1997. Dengue hemorrágico. Diagnóstico, tratamiento, prevención y control. 2<sup>da</sup>. edición. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

Organización Mundial de la Salud, 2003. Aplicación de insecticidas por rociado espacial, para control de vectores y pestes en salud pública. Una guía para el practicante. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2003.5.

## **Anexo 1**

### ***Formularios de campo y de laboratorio***

Los datos no tendrán ningún valor si éstos no son registrados con precisión. Cada método brinda datos basados en una rutina de 24 horas, por tanto diariamente debe utilizarse un nuevo formulario de registro tanto de campo como de laboratorio. Los formularios que se presentan a continuación son ejemplos que pueden adaptarse para su uso local.

Si hay datos perdidos, éstos deben registrarse cuidadosamente. En el caso de ovitrampas, los operadores de campo deben registrar la situación de las jarras y su captura al día siguiente. Si se han perturbado los datos de uno o ambos frascos, se deben omitir dichos datos de ese par para ese día y escribir una nota al efecto, registrando el hecho acontecido, en el margen de la hoja de datos de campo. Es altamente recomendable que los colectores apunten cualquier observación u otra información pertinente.

**OVITAMPAS. FORMULARIO DE CAMPO Y DE LABORATORIO**  
**Distrito y localidad: \_\_\_\_\_**

			Día de colocación	Día de captura	Número de huevos		
#	Calle	Número			Jarra A	Jarra B	Jarra A+B
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
<b>TOTAL</b>							

**Total de pares de ovitrampas** \_\_\_\_\_

**Promedio de huevos por par de ovitrampas** \_\_\_\_\_

**Notas:** \_\_\_\_\_



**ASPIRADORES TIPO MOCHILA.  
FORMULARIO DE CAMPO Y DE LABORATORIO**

**Distrito y localidad:** \_\_\_\_\_ **Fecha:** \_\_\_\_\_

			Cuarto 1	Cuarto 2	Cuarto 3	Número total de hembras	Disecciones	
			Número de hembras	Número de hembras	Número de hembras		Número de nulíparas	Número de paridas
#	Calle	Número						
		<b>Total</b>						

**Total de casas muestreadas** \_\_\_\_\_ **Total de cuartos muestreados** \_\_\_\_\_

**Total de hembras capturadas** \_\_\_\_\_ **Tasa de paridad (%)** \_\_\_\_\_

**Promedio de hembras por casa** \_\_\_\_\_

**Promedio de hembras por cuarto** \_\_\_\_\_

**Notas:** \_\_\_\_\_

## **Anexo 2**

### ***Disección de ovarios y determinación de la tasa de paridad***

#### **Propósito**

Determinar los cambios en la tasa de paridad de la población de hembras adultas debido al efecto mortífero del insecticida.

#### **Equipo esencial**

El microscopio de disección, el microscopio compuesto, bisturí, pinzas de disección, placas, el cuentagotas, agua destilada.

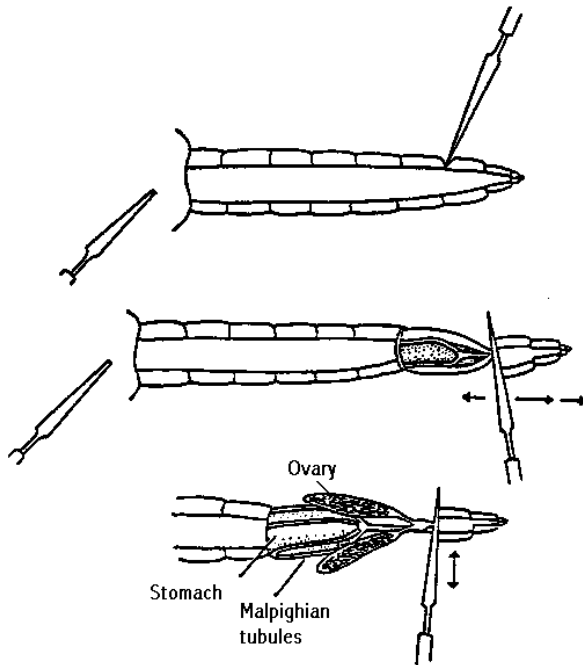
#### **Disección de los mosquitos hembras para obtener los ovarios para la determinación de la tasa de paridad**

Por examen de los ovarios, uno puede saber si un mosquito (hembra) es **parida** (ha puesto un lote de huevos por lo menos) o **nulípara** (no ha puesto ningún huevo)

Sólo las hembras que están sin alimentarse o recientemente alimentadas son convenientes para ser usadas en este método para determinar la paridad. Para diseccionar los ovarios el procedimiento es el siguiente:

- Remover piernas y alas de la hembra recién muerta.
- Colocar el mosquito en una placa y añadir una gota de agua destilada.

- Mientras sostiene el tórax con una pinza, estirar la punta del abdomen fuera del resto del cuerpo con otra pinza sostenida con la otra mano. Los ovarios saldrán entonces del abdomen.
- Cortar a través del oviducto común y separar los ovarios del resto del espécimen.
- Transferir los ovarios a otra placa, agregar una gota de agua destilada y dejar secar.



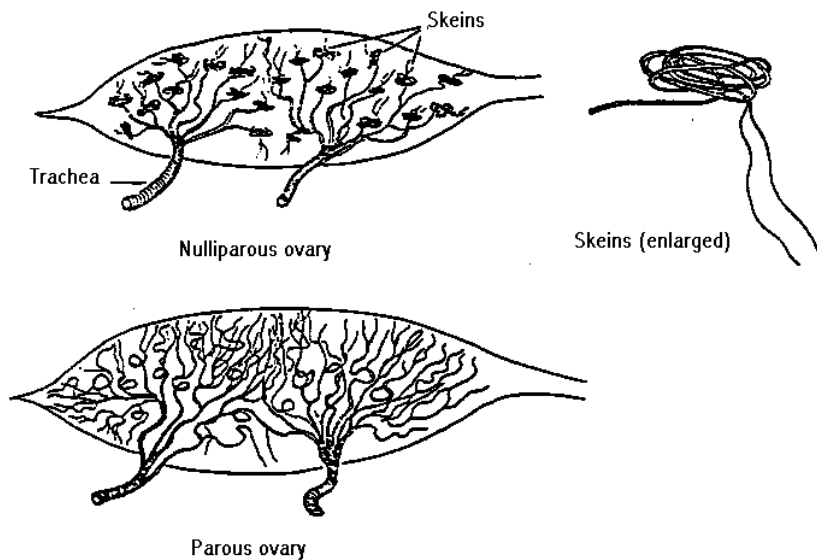
\***Ovary:** ovario

\***Stomach:** estómago

\***Malpighian tubules:** tubos de Malpigi

## Diferenciación entre ovarios paridos o nulíparos

- Examinar los ovarios secos bajo un microscopio compuesto usando el objetivo de x10, y si es necesario, confirmar con el objetivo de x40.
- Las hembras en las cuales en sus ovarios se han enrollado las traqueolas en forma de madejas son nulíparas.
- Los ovarios en los cuales las traqueolas se han agrandado son paridos.
- En algunas hembras no todos los huevos desarrollados se oviponen; si algunos huevos (normalmente menos de cinco) se retienen en los ovarios, la hembra es parida.



- \***Skeins:** madeja, ovillo
- \***Tracheal:** traqueolas
- \***Nulliparous ovary:** ovario nulíparo
- \***Enlarged:** distendido
- \***Parous ovary:** ovario parido