

Manual de Métodos para Capturar Anofelinos y otros Mosquitos (Diptera: Culicidae)



Manual de Métodos para Capturar Anofelinos y otros Mosquitos (Diptera: Culicidae)



República Bolivariana de Venezuela
Ministerio del Poder Popular para la Salud

Henry Ventura
Ministro del Poder Popular para la Salud

Asia Villegas
Viceministra de Salud Integral

Pedro Téllez
Director Ejecutivo (E) del Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon"

Oswaldo Flores S.
Director (E) de la Dirección de Gestión e Información del Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon"

Octubre 2015

Todos los derechos reservados.

©Sobre la presente edición: SA IAE "Dr. Arnoldo Gabaldon"

Depósito Legal: If90420156132256
ISBN: 978-980-6778-52-8

Autora: Yasmin Rubio-Palis

Fotografías: Yasmin Rubio-Palis

Montaje y Diagramación: Oswaldo Flores S.

Diseño de Portada: Oswaldo Flores S.

Esta obra se puede reseñar, reproducir o traducir con fines de investigación o académico, pero no para la venta u otro uso comercial. En todo uso que se haga de esta información, se deberá indicar su fuente.

CONTENIDO

Agradecimientos	5
Introducción	7
Capítulo I.	
Captura de estadios inmaduros	9
Métodos	12
Caracterización de hábitats larvales	13
Transporte de estadios inmaduros al laboratorio	14
Cría y preservación de estadios inmaduros	14
Estimación de densidad larvaria y/o abundancia	16
Estimación de densidad	16
Índice de hábitats larvales	17
Índice general de hábitats larvales	17
Índice relativo de hábitats larvales	17
Capítulo II.	
Captura de adultos	19
Captura sobre atrayentes humanos	19
Materiales necesarios	20
Método	20
Trampa CDC	23
Trampa de luz ultra violeta de flujo invertido	24
Trampa Mosquito Magnet®	25
Manipulación de mosquitos capturados	26
Preservación de mosquitos recolectados	26
Captura de mosquitos en reposo	27
Método de captura de mosquitos endofílicos	28
Métodos de captura de mosquitos exofílicos	28
Trampa con cebo animal	29
Referencias	31

Índice de Figuras

Fig. 1. Diferentes tipos de hábitats acuáticos	11
Fig. 2. Materiales necesarios para captura de larvas	13
Fig. 3. Captura de estadios inmaduros	13
Fig. 4. Metodología para la captura de estadios inmaduros	14
Fig. 5. Captura de estadios inmaduros en hábitats pequeños	15
Fig. 6. Actividades de identificación y cría de mosquitos en campo	16
Fig. 7. Colección de mosquitos para estudios taxonómicos	17
Fig. 8. Preservación de mosquitos para estudios moleculares	18
Fig. 9. Materiales básicos para la captura de hembras adultas	22
Fig. 10. Capturador manual	23
Fig. 11. Captura de mosquitos con atrayentes humanos	23
Fig. 12. Manipulación de mosquitos adultos capturados	24
Fig. 13. Trampa CDC	25
Fig. 14. Trampa de flujo invertido	26
Fig. 15. Trampa Mosquito Magnet®	27
Fig. 16. Preservación y transporte de mosquitos adultos	29
Fig. 17. Captura de mosquitos exo y endofílicos	30
Fig. 18. Trampa Shannon y trampa establo (Magoon) ...	32
Fig. 19. Trampa de salida y cortina colombiana	32
Tabla I. Métodos de captura de mosquitos	12

Anexos

Anexo 1. Planilla de registro de datos de capturas de estadios inmaduros	37
Anexo 2. Planilla de registro de desarrollo individual de estadios inmaduros	38
Anexo 3. Planilla de registro en campo de capturas de hembras adultas	39

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Investigación y al Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA), Servicio Autónomo Instituto de Altos "Dr. Arnoldo Gabaldon". A mis compañeros del Laboratorio de Entomología, Hernán Guzmán, Victor Sánchez, Yarys Estrada, Jesús González, William Anaya y a todas las personas que de alguna manera han estado involucradas en nuestras investigaciones.





INTRODUCCIÓN

El presente Manual surge de la necesidad de contar con un material impreso en español que sirva de apoyo a los estudiantes de los diversos cursos de Entomología en Salud Pública que se dictan para diferentes niveles en el Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldon”. El Manual contiene información básica, tanto para técnicos como para profesionales, de los materiales y métodos empleados actualmente para capturar mosquitos del género *Anopheles* y otros géneros de mosquitos de importancia en salud pública con bionomías similares en Venezuela. Este Manual no pretende ser una revisión exhaustiva de todos los métodos que se han empleado para capturar mosquitos por especialistas en distintas partes del mundo, sólo se incluyen las que utilizamos en forma rutinaria en nuestro país.

El Manual está dividido en dos partes. Capítulo I, describe los materiales y métodos empleados para capturar estadios inmaduros (larvas y pupas), así como las fichas que utilizamos en campo para el registro de la información relevante, transporte y preservación de mosquitos capturados. Capítulo II, describe diversos métodos, así como los materiales y equipos necesarios para captura de mosquitos adultos, preservación y transporte.





Capítulo I

Captura de estadios inmaduros

Las hembras de anofelinos depositan sus huevos en diversos tipos de hábitats acuáticos tales como lagos, lagunas, pantanos, humedales, ríos, caños, manantiales, pozos, cultivos de arroz, charcas y pequeñas huellas de animales; rara vez se encuentran en recipientes artificiales, y las especies del subgénero *Kerteszia* ovipositan exclusivamente sobre el agua que se almacena en bromelias (epífitas o terrestres) (Fig. 1).

La identificación y caracterización de hábitats larvales es una actividad fundamental en la vigilancia entomológica de malaria. Es importante conocer la ubicación y características de los hábitats larvales de las especies vectoras locales a fin de implementar medidas de control efectivas.

Figura 1. Diferentes tipos de hábitats acuáticos donde las hembras de anofelinos depositan sus huevos tales como: a) lagunas, b) ríos, c) humedales, d) bromelias.



La búsqueda de hábitats larvales y captura de estadios inmaduros permite obtener información relevante para alcanzar diversos objetivos tales como:

- 1) Identificar los hábitats larvales de las especies de vectores locales;
- 2) Evaluar medidas de control antivectorial mediante la determinación de la abundancia y/o densidad;
- 3) Determinar la distribución geográfica de anofelinos;
- 4) Capturar estadios inmaduros de anofelinos para estudios taxonómicos, para lo cual se requiere desarrollar las larvas hasta adultos en el laboratorio de campo o en el insectario.

Dependiendo del tipo y tamaño del criadero se selecciona el método y materiales necesarios (Tabla I). Para el trabajo de campo es fundamental tener un equipo básico que incluye: cucharón de cono truncado de 250 mL de capacidad, goteros pequeños y grandes, cucharón de cocina para hábitats larvales más pequeños, bolsas plásticas (100 mL), bandejas, recipientes plásticos de 250 mL, cavas de anime y/o fibra de vidrio; también se pueden emplear mallas o redes (Fig. 2). Estas últimas se emplean ampliamente para la captura de larvas y pupas de *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus* en recipientes artificiales grandes como toneles de 200 L. Para la localización y caracterización de hábitats larvales es necesario contar con un equipo mínimo que contenga un GPS, termómetro y pH-metro. De ser posible, se recomienda contar con un equipo portátil de análisis de agua. Para el registro de

Tabla I. Métodos de captura de mosquitos que se pueden emplear dependiendo de la población que se requiere estudiar.

POBLACIÓN	MÉTODOS
Estadios inmaduros (larvas y pupas)	Capturas con cucharón, goteros, mallas, otros
Hembras adultas antropofílicas	Capturas con atrayentes humanos + trampas (CDC, LUV, Mosquito Magnet®, otras)
Hembras adultas endofágicas	Capturas dentro de las viviendas con atrayentes humanos + trampas (CDC o LUV)
Hembras adultas exofágicas	Capturas fuera de las viviendas con atrayentes humanos o trampas (CDC, LUV, Mosquito Magnet)
Hembras adultas endofílicas	Aspirador manual, motomochila, otros
Hembras adultas exofílicas	Aspirador manual, aspirador mecánico, motomochilas, trampas
Hembras adultas endofágicas-exofílicas	Cortina colombiana, trampas de salida
Hembras adultas zoofílicas	Atrayentes animales, trampa establo, trampa corralito, otros

Figura 2. Materiales necesarios para captura de larvas: cucharon de cono truncado, goteros, bandejas, mallas, bolsas plásticas, GPS, pH-metro, planillas, lápices, tirro.



datos se emplean planillas (Anexo 1), lápiz de grafito, etiquetas, marcadores y tirro. Las personas que participan en la captura de larvas deben usar botas de goma y es recomendable que se protejan del sol con gorra y bloqueador solar. Para muestrear en hábitats larvales extensos y profundos, resulta muy valioso contar con un bote de goma inflable o disponer de una curiara (Fig. 3).

Figura 3. Captura de estadios inmaduros en diferentes tipos de hábitats, registro de datos en la planilla correspondiente.



Métodos

Cuando se trata de hábitats larvales grandes como ríos, lagunas y otros, el método estándar es utilizando el cucharón de cono truncado (Fig. 4), para lo cual hay que sujetarlo en ángulo de 45° con respecto a la superficie del agua y sumergirlo rápidamente o hundirlo con cuidado a fin de crear corriente que haga que las larvas que se encuentran allí sean arrastradas dentro del cucharón. Luego se procede a retirar las larvas y pupas con un gotero y colocarlas en bolsas plásticas con agua del hábitat acuático (*) y rotuladas con información relevante del mismo; para ello se utiliza una etiqueta pequeña de papel escrita con lápiz de grafito y colocada dentro de la bolsa. Luego se le hace un nudo a la bolsa dejando una cámara de aire de unos 3-4 cm para que las larvas y pupas puedan respirar.

Hay que tener en cuenta que al acercarse al hábitat larvario, el colector debe hacerlo con cuidado, sin mover el agua ni hacer sombra, puesto que esto hace que las larvas y pupas se sumerjan por algunos minutos.

A fin de sacar máximo provecho de las capturas, debe estandarizarse el muestreo. Esto dependerá del tipo y tamaño del criadero; si se trata de una laguna, en cada punto de muestreo se debe sumergir el cucharón 30 veces, en cada muestra se debe contar el número de larvas de cada instar (I, II, III y/o IV) y pupas. Este dato es sumamente valioso, no solo para preparar tablas de vida, sino para evaluar la aplicación de larvicidas. También es recomendable anotar el tiempo que se toma en muestrear cada punto, lo cual permite estimar el esfuerzo de captura.

Figura 4. Captura de estadios inmaduros con cucharón de cono truncado, mediante un gotero se retiran las larvas y pupas, se colocan en bolsas plásticas debidamente rotuladas y colocadas en cavas para su transporte al laboratorio de campo.



(*) Debe tener cuidado de descartar los insectos acuáticos, pequeños peces y otros depredadores de estadios inmaduros de mosquitos.

Cuando se trata de hábitats larvales pequeños, como huellas de ganado o vehículos, pequeños charcos y otros, se recomienda utilizar goteros grandes o cucharones pequeños (Fig. 5). En el caso de bromelias, si no se pueden desprender a fin de vaciar el contenido en recipientes plásticos (poncheras), se pueden usar goteros o sifones para succionar el agua y extraer las larvas.

Caracterización de hábitats larvales

Toda la información que sea posible recabar sobre los hábitats larvales debe ser registrada en planillas diseñadas para tal fin. En el Anexo 1 se presenta un modelo de planilla (modificada de Belkin *et al.*, 1965), donde se incluye información geográfica como localidad, municipio, estado, código, fecha, hora y colectores. Siempre que sea posible, se recomienda llevar un GPS para registrar las coordenadas y altitud. Otra información relevante incluye paisaje, tipo de hábitat, exposición a la luz solar, presencia de vegetación y características del agua. Es recomendable registrar datos físico-químicos del agua como color, profundidad, temperatura, pH y otros. También se debe incluir el número de veces que se sumerge el cucharón y el tiempo empleado en la captura. Todas las muestras tomadas deben estar debidamente identificadas con el código, localidad y fecha, y deben coincidir con la información registrada en las planillas.

Figura 5. En hábitats pequeños se utilizan goteros grandes y cucharones de cocina convencionales. Las bromelias son criaderos de anofelinos del Subgénero *Kerteszia* y para retirar las larvas se utilizan goteros o se bajan las plantas y se vacía el contenido en bolsas plásticas.



Transporte de las larvas al laboratorio

A fin de minimizar el impacto que se produce al transportar las larvas, se colocan las bolsas con las muestras debidamente rotuladas dentro de una cava de anime o fibra de vidrio con agua, lo cual amortigua el traqueteo que provoca la muerte de los estadios inmaduros. Cuando se transportan las larvas largas distancias, es importante destapar a intervalos las cavas para retirar las pupas. También destapar las cavas durante el viaje evita el sobrecalentamiento del agua, lo cual resulta letal para las larvas, por lo que se recomienda, de ser posible, colocar en la cava paneles de hielo.

Cría y preservación de estadios inmaduros

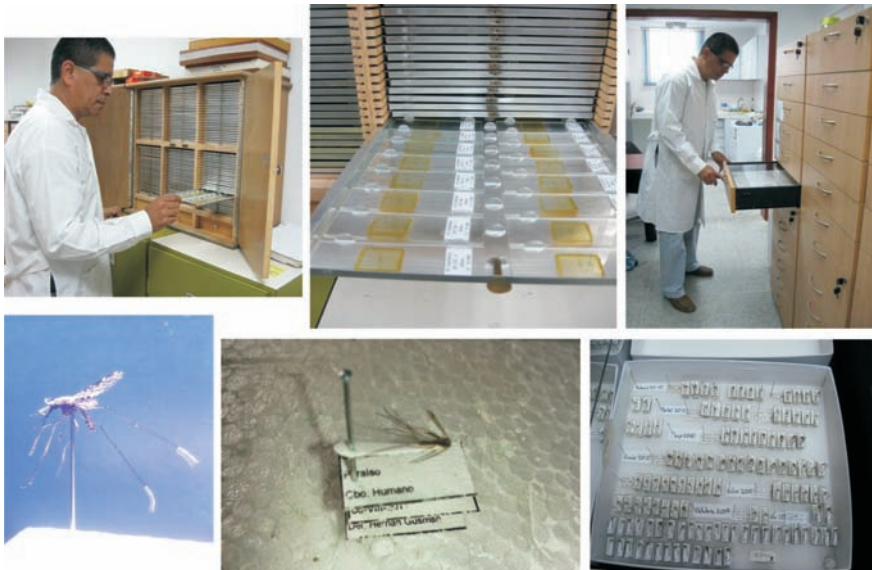
Una vez en el laboratorio de campo (Fig. 6) se procede a colocar las muestras en recipientes plásticos, se retiran las pupas y se colocan en viales de emergencia a fin de obtener el adulto para la identificación a nivel de especie. Las larvas de IV instar también se separan en recipientes debidamente rotulados y se procede a realizar la identificación preliminar de cada especie. Lo ideal es realizar la identificación a nivel de especie de todos los especímenes capturados, para lo cual es fundamental contar con crías individuales donde cada espécimen tiene asociado cada instar (larva-pupa-adulto) debido a las dificultades taxonómicas de algunos grupos y la existencia de complejos de especies. La

Figura 6. En el laboratorio de campo se separan las larvas, identifican y se colocan en viales de emergencia para obtener crías asociadas. Las exuvias se fijan en etanol para transportarlas al laboratorio de referencia.



información de crías individuales se registra en planillas (Anexo 2). Las exuvias de larvas y pupas se colocan en viales de vidrio o plástico con etanol 80% o cualquier otro medio para preservar como AGA: etanol: glicerina: ácido acético glacial: agua destilada en la proporción 9:1:1:5. Los especímenes así preservados se trasladan al laboratorio de base para su posterior montaje permanente, mientras que los adultos se montan en alfileres (Fig. 7). Todo debe ser debidamente etiquetado manteniendo el mismo código. También es recomendable preservar larvas de IV instar, para lo cual se matan con calor, se retira el agua y se fijan en etanol 80% o AGA. También es posible preservar de esta manera larvas de IV instar recién muertas en campo. Es recomendable preservar en sílica gel, isopropanol, etanol o nitrógeno líquido, al menos 10% de los adultos de las crías individuales para estudios moleculares posteriores (*) (Fig. 8). Siempre que sea posible, para estudios taxonómicos, se cortan el ala y la pata posterior derecha de cada adulto con cría asociada y se montan en una lámina portaobjeto y se sella el cubreobjeto con bálsamo del Canadá, dejando una cámara de aire y de esta forma preservar las escamas para estudios morfométricos posteriores, conservándose el espécimen o bien montando en alfiler con su respectiva etiqueta o en un vial con sílica gel.

Figura 7. Colección de mosquitos. Montaje permanente de estadios inmaduros en bálsamo de Canadá y adultos en alfileres.



(*) Se recomienda que para estudios moleculares se mantengan los mosquitos bien en sílica gel o etanol en el congelador a -20°C o en la nevera. De esta forma se preserva el ADN por tiempo indefinido.

Figura 8. Preservación de mosquitos adultos en silica gel, etanol o nitrógeno líquido para estudios moleculares posteriores para la identificación de especies.



Estimación de densidad larvaria y/o abundancia

Para evaluar medidas de control antivectorial, es importante estimar parámetros de abundancia de larvas y pupas antes y después de la aplicación de larvicidas. Existen varios métodos, algunos son más engorrosos que otros y requieren que el muestreo sea muy riguroso y estandarizado. A continuación se explican los más comúnmente utilizados.

Estimación de densidad

Este método es adecuado en hábitats larvales permanentes o semipermanentes de gran tamaño como lagunas, donde podemos estimar el promedio de larvas capturadas en 30 inmersiones del cucharón cuyo volumen de agua es conocido (250 mL) o el número de inmersiones que se hagan en distintos puntos de muestreo del mismo criadero que sean microhábitats adecuados, tales como remansos o pequeños pozos con vegetación marginal. También es posible estimar la densidad relativa de estadios inmaduros en un criadero; para ello se estima el tamaño del criadero y el volumen de agua que contiene.

Ejemplo:

Número de larvas total colectado (NL) = 100

Número de inmersiones del cucharón (NI) = 30

Volumen de agua del cucharón (V) = 250 mL

Densidad = (NL/NI)/V

Densidad = (100/30)/250mL = 0,013 larvas/mL de agua

Una forma más confiable de estimar la densidad de mosquitos, es utilizar como unidad de medida la superficie del cuerpo de agua en vez del volumen, puesto que es más fácil de calcular,

considerando que los mosquitos deben estar en la superficie del agua para respirar (a excepción de mosquitos del género *Mansonia*). Para estandarizar el número de inmersiones del cucharón que se deben realizar en función del área del cuerpo de agua se aplica la siguiente función derivada de modelos matemáticos.

Ejemplo:

Número de inmersiones: 1 en $<0,25 \text{ m}^2$ de superficie

2 en $0,26 - 1,0 \text{ m}^2$

3 en $1,1 - 3,0 \text{ m}^2$

4 en $3,1 - 5,0 \text{ m}^2$

y así sucesivamente.

Índice de hábitats larvales (IHL)

El índice de hábitats larvales es simple, siempre y cuando el muestreo sea estandarizado y contabilizado el número de inmersiones del cucharón y se estima de la siguiente forma:

Número total de larvas capturadas (NL)

Número total de inmersiones del cucharón (NI)

Número de sitios del hábitat muestreados (NS)

$$IHL = NL/NI \times NS$$

Existen otros índices de hábitats larvales que pueden ser de utilidad, particularmente en programas de control antivectorial. Estos son el índice general de hábitats larvales (IGHL) y el índice relativo de hábitats larvales (IRHL).

Índice general de hábitats larvales (IGHL)

El índice general de hábitats larvales nos permite conocer la proporción de cuerpos de agua en un área o localidad que son utilizados como hábitats larvales por las especies presentes en la localidad. Se calcula dividiendo el número de hábitats larvales positivos para mosquitos (larvas y pupas) entre el número total de hábitats larvales visitados.

Índice relativo de hábitats larvales (IRHL)

Este índice nos permite obtener información sobre la abundancia de hábitats larvales que son utilizados por una especie en particular. Para ello es importante identificar en el campo las especies de anofelinos de interés epidemiológico presentes en el área de estudio. Se calcula dividiendo el número de hábitats larvales positivos para una especie en particular entre el número total de hábitats larvales positivos para mosquitos.



Capítulo II

Captura de adultos

Para la captura de mosquitos adultos existen diversos métodos. Dependiendo de los objetivos del estudio y de la población de mosquitos que se desea muestrear, se seleccionará el método a emplear. En efecto, en un área determinada existen varias poblaciones de mosquitos que están integradas por diversas especies y cada especie exhibe diferentes comportamientos hematofágicos (endofágico y exofágico), de reposo (endofílico y exofílico), patrones de actividad hematofágica y zoofílicas (Tabla I). También el método a emplear dependerá no solo de la población de mosquitos que queremos muestrear sino también de los objetivos del estudio: evaluación de medidas de control, evaluación de susceptibilidad a insecticidas, vigilancia entomológica, bionomía, ecología y taxonomía, entre otros. La vigilancia entomológica es la captura de mosquitos a lo largo del tiempo a fin de detectar cambios en la abundancia y composición de especies. Es importante en la toma de decisiones para la aplicación de medidas de control.

Captura sobre atrayentes humanos

Este método es fundamental para determinar cuáles especies son atraídas hacia el hombre a fin de obtener una comida sanguínea y por consiguiente es una variable determinante en la transmisión de malaria.

Las capturas con atrayentes humanos nos permiten determinar:

- a) Cuáles especies de anofelinos pican al hombre
- b) Cuál(es) especies son vectores de malaria
- c) Tasa de ataque, esto es, el número de picadas que recibe una persona por unidad de tiempo (hora, noche, año)
- d) Patrón de actividad hematofágica, es decir, a qué hora pica cada especie de anofelino y a qué hora hay mayor actividad

- (mayor abundancia de hembras picando)
- e) Comportamiento hematofágico de especies vectores, es decir, si pican dentro de la vivienda (endofágico) o fuera de ella (exofágico).

Materiales necesarios

Aspirador de boca o capturador, linterna de mano o cabeza, baterías, vasos parafinados de fondo plano (*), tul, ligas, algodón, servilletas de papel, piceta, marcadores indelebles, lápiz, tirro (Fig. 9). El capturador manual se fabrica con un tubo de vidrio o plástico de 1 cm de diámetro y aproximadamente 20 cm de largo, al cual se le coloca en un extremo una malla fina de tul o cualquier otro material al fin de impedir que la persona que lo opera se trague los mosquitos capturados, y finalmente se le coloca la manguera de goma, preferiblemente de goma latex por ser más flexible; la unión de la manguera con el tubo se puede sellar con tirro o cualquier otro material adhesivo (Fig. 10). Se recomienda el uso de capturadores curvos exclusivamente de vidrio para manipular mosquitos adultos en pruebas de susceptibilidad a insecticidas (Fig. 10).

Figura 9. Materiales básicos para la captura de hembras adultas de anofelinos: capturador manual, vaso parafinado, linterna, tirro, marcador, servilletas, piceta, planillas y cava.



(*) Lo ideal es utilizar vasos de papel no parafinados de fondo plano para que los mosquitos se puedan posar mejor, sin resbalar, sobre las paredes del vaso. Sin embargo, estos vasos no están disponibles en el país. Hay que evitar utilizar vasos plásticos, ya que es difícil para los mosquitos posarse en sus paredes y por consiguiente, se maltratan perdiendo escamas y patas, haciendo difícil la identificación a nivel de especie.

Figura 10. A) Partes de un capturador manual: tubo de vidrio o plástico de aproximadamente 1 cm de diámetro y 20-24 cm de longitud, tela de tul o similar, tirro y manguera de goma látex. **B)** Capturadores recto y curvo.



Método

Para las capturas con atrayentes humanos, participan dos o más personas, una sentada fuera de la vivienda y otra adentro (Fig. 11). Para determinar el patrón de actividad de los anofelinos, es necesario contar con un equipo de al menos seis personas, trabajando en turnos de capturas de cuatro horas. Para ello se inician las capturas al atardecer (aproximadamente a las 5:30 pm, dependiendo de la región del país donde se encuentren) y se concluyen al amanecer (aproximadamente a las 6:30 am). Las personas se sientan y descubren las piernas hasta la rodilla, capturan con el aspirador manual a los mosquitos que intentan picar, luego los transfieren al vaso parafinado, soplando con cuidado para evitar maltratar a los mosquitos (Fig. 12). Cada hora de captura, se cambia el vaso y se rotula señalando hora, sitio (dentro o fuera de la vivienda) y nombre de la persona

Figura 11. Captura de mosquitos hembras adultas con atrayentes humanos fuera y dentro de la vivienda.



Figura 12. Vaso parafinado cubierto con una tela de tul y con un orificio en la parte inferior a través del cual se transfieren los mosquitos capturados. Para mantener los mosquitos vivos se pueden alimentar con solución azucarada al 10%.



que realizó la captura. Los vasos conteniendo los mosquitos se colocan dentro de una cava, se cubren con servilletas húmedas, se sella la cava con tirro y se pone en un lugar donde no exista peligro de que entren hormigas, ya que estas en pocos minutos se comen las partes blandas del cuerpo de los mosquitos. Una vez en el laboratorio de campo, se procede a matar a los mosquitos por distintos métodos para su identificación a nivel de especie y disección de los ovarios para determinación de paridad. Entre los métodos que comúnmente se emplean para matar los mosquitos adultos están: con frío, si hay disponibilidad de un congelador, cloroformo, éter o con etil acetato. Posteriormente se procede o bien a montar los mosquitos en alfileres, tal y como se describió previamente o se almacenan en tubos eppendorf y se mantienen secos en sílica gel para determinación posterior de infección con *Plasmodium* spp. mediante ELISA o PCR anidada. En caso de necesitar mantener vivos los mosquitos para estudios posteriores y/o evaluación de susceptibilidad a insecticidas, se debe alimentar los mosquitos con solución azucarada al 10%; dependiendo de la disponibilidad, es mucho mejor utilizar refrescos gaseosos para alimentar mosquitos, ya que como contienen preservativos, no crecen hongos en el algodón con el alimento. También es frecuente alimentarlos con sangre de paloma o ratón. Toda la información relevante a las capturas debe ser registrada en planillas diseñadas para tal fin (Anexo 3).

Es importante señalar que varía el grado de atracción de las personas hacia los mosquitos, por lo que para evitar que esto influya en los resultados de la captura, se deben rotar los recolectores cada hora o cada turno de captura. Además, existen

consideraciones éticas sobre el empleo de personas que actúan como atrayentes. En este caso, se debe contar para las capturas con personal de salud voluntario y debidamente informado sobre los riesgos de infectarse con los parásitos maláricos, así como ofrecer diagnóstico y tratamiento oportuno.

A fin de sustituir o complementar las capturas con atrayentes humanos, se han evaluado distintos tipos de trampas para capturar diferentes especies de anofelinos en varias áreas endémicas de Venezuela. El uso de estas trampas es recomendable para la vigilancia entomológica en áreas donde han mostrado eficiencia relativa para capturar las principales especies vectoras.

Trampa CDC

Las especies de mosquitos son atraídas hacia la luz, algunas con mayor intensidad que otros, por lo tanto se ha demostrado que para algunas especies la trampa CDC puede ser eficiente para capturar anofelinos. Esta trampa tiene un bombillo de tungsteno (luz amarilla) y es operada por una batería recargable de 6 V (Fig. 13). La trampa se coloca a aproximadamente una altura de 1,30m, teniendo cuidado de que no sea invadida por hormigas; en caso de haber hormigas en el sitio de captura, se recomienda untar con grasa la cuerda de donde se cuelga. El principio de acción de esta trampa es que al acercarse los mosquitos atraídos por la luz, son succionados por el ventilador, quedando atrapados dentro de la bolsa. Para incrementar la eficiencia de la trampa se puede utilizar en combinación con atrayentes químicos como dióxido de carbono y/o 1-octen-3-diol (octenol). Sin embargo, para capturar anofelinos endofágicos, se recomienda colocar esta trampa dentro de la vivienda cerca de una persona protegida por un mosquitero (Fig. 13). Este método se puede utilizar para vigilancia entomológica y cambiando la bolsa de la trampa a

Figura 13. Trampa CDC colocada dentro de la vivienda cerca de un atrayente humano protegido por un mosquitero.



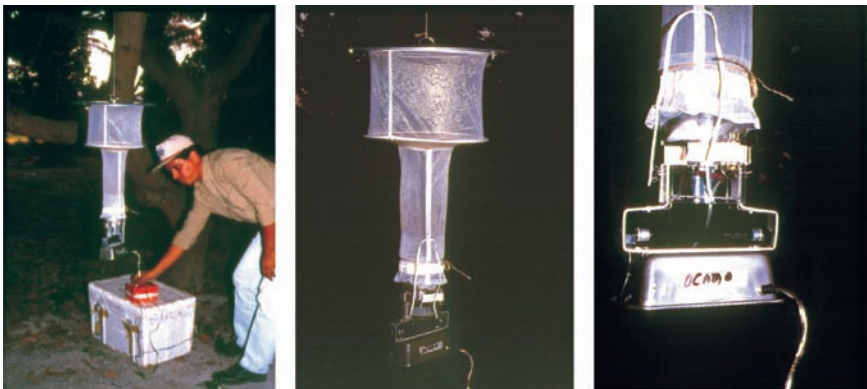
intervalos horarios, es posible determinar el patrón de actividad hematofágica de las especies más abundantes. Esta trampa tiene limitaciones, ya que su eficiencia, en comparación con capturas realizadas con atrayentes humanos, es menor y varía dependiendo de las especies de anofelinos presentes en un área determinada. Además, aproximadamente 20% de los mosquitos capturados no pueden ser identificados a nivel de especie debido a que sufren daños por las aspas del ventilador.

Al finalizar la captura, se procede a matar con frío, cloroformo, éter o etil acetato, los mosquitos capturados; para ello se introduce la bolsa de la trampa dentro de una bolsa plástica y se coloca un algodón impregnado con cloroformo, la cerramos y esperamos unos 5-10 minutos; luego se procede a vaciar el contenido de la bolsa en una bandeja y se procede a separar el material. En la trampa CDC caen, además de mosquitos, otros dípteros y diversos órdenes de insectos como Homóptera, Lepidóptera y Coleóptera, entre otros, por lo que se recomienda preservarlos y llevarlos a los especialistas en estas áreas. Los mosquitos capturados son identificados a nivel de especie, contados y preservados para estudios posteriores.

Trampa de luz ultra violeta de flujo invertido

Esta trampa utiliza un tubo de luz ultra violeta operada por una batería recargable de 12 V; funciona al revés de la trampa CDC, estando la luz abajo, luego el ventilador succiona los mosquitos hacia arriba, donde quedan atrapados en la bolsa (Fig. 14). También se puede utilizar en combinación con atrayentes químicos como dióxido de carbono y octenol. Al finalizar la captura, se procede de forma similar a la previamente descrita.

Figura 14. Trampa de flujo invertido con luz ultravioleta (LUV) operada con una batería de 12 V.



Tanto las trampas CDC como las de luz ultravioleta de flujo invertido presentan limitaciones para su uso en estudios longitudinales en áreas remotas, de difícil acceso, donde no se cuenta con energía eléctrica en forma continua y confiable, ya que se dificulta la recarga de las baterías. En fundamental contar además con una planta eléctrica y combustible.

Trampa Mosquito Magnet®

La trampa Mosquito Magnet® ha resultado un método alternativo a las capturas con atrayentes humanos efectivo para la vigilancia entomológica en áreas remotas con población indígena en la cuenca del río Caura, estado Bolívar, donde se utiliza desde 2008.

Esta trampa trabaja con baterías recargables de 4.8V y una bombona de gas propano, el cual es catalizado y convertido en el atrayente dióxido de carbono, además se combina con octenol a fin de imitar los gases que expele una persona al respirar (Fig. 15). También es posible utilizar otro atrayendo como el Lurex, sin embargo, su eficiencia aún no ha sido evaluada en el país.

Figura 15. Trampa Mosquito Magnet®.



La trampa se coloca fuera de las viviendas, alejada por lo menos 10 metros de casas, plantas y otros obstáculos; se orienta a favor de la dirección del viento. Las capturas se hacen

al menos diez días por mes, todos los meses, preferiblemente durante la fase de luna llena (cuando hay mayor actividad de los mosquitos), desde el atardecer (5:30 pm) hasta el amanecer (6:30 am), cambiándose la jaulita cada cuatro horas (5:30-9:30 pm; 9:30-1:30 am; 1:30-6:30 am), a fin de determinar el período de mayor actividad de los mosquitos. Dependiendo de la disponibilidad de personal de campo, es posible cambiar la jaulita cada hora para determinar el patrón de actividad horaria. Antes de retirar la jaulita de la trampa, ésta se cierra bien para evitar que se escapen los mosquitos. Luego de retirar la jaulita, se marca la hora de captura y se coloca en una cava con toallas húmedas, se sella bien la cava con tirro para que las hormigas no entren y se coman los mosquitos.

Manipulación de mosquitos capturados

En la mañana, se colocan las jaulitas en bolsas plásticas y se procede a matar los mosquitos colocando un algodón impregnado con cloroformo o etil acetato.

Importante: el algodón con cloroformo, etil acetato o éter **NO** debe tocar el plástico de la jaulita porque lo daña.

Pasados unos 10-15 minutos, se vacía el contenido de la jaulita en un recipiente plástico, y con ayuda de las pinzas se procede a identificar y contar los mosquitos, anotándose los resultados en la planilla de captura diseñada para tal fin. Los mosquitos se preservan y transportan al laboratorio de base tal y como ha sido previamente descrito, dependiendo de los objetivos del estudio.

Cuando la vigilancia entomológica es realizada por agentes locales en áreas remotas, se ha estandarizado el procedimiento de preservación y transporte tal y como se describe a continuación:

Preservación y transporte de mosquitos recolectados

Los mosquitos se colocan en cajitas plásticas (como las que se utilizan para muestras de heces) preparadas con algodón y papel, no más de 10 mosquitos en las cajas pequeñas (Fig. 16). Se cierran y se sellan con tirro, se coloca una etiqueta (tirro) con el nombre de la localidad, fecha, hora de captura, especie de mosquito (Culicino o Anofelino) y número de mosquitos. Luego se colocan las cajitas en un recipiente plástico con sílica, cerrándolo bien y sellando con tirro o parafilm la tapa para evitar que la sílica se hidrate (cambie de color). Este material es enviado a Maracay,

Figura 16. Preservación de mosquitos en silica gel para su transporte desde areas remotas al laboratorio de referencia.



donde son identificados a nivel de especies, contados y los resultados almacenados en una base de datos en el Laboratorio de Entomología del CEEESA. Estos resultados son posteriormente presentados a la comunidad. Cuando hay disponibilidad de conexión satelital, la transmisión de los resultados y la supervisión se realiza en tiempo real vía Skype.

Importante: si la sílica se hidrata, es decir, cambia de color, es posible deshidratarla simplemente colocándola en una olla pequeña al fuego hasta que vuelve al color original. Se coloca de nuevo en el frasco y se sella bien con tirro o parafilm.

Captura de mosquitos en reposo

Hay especies de mosquitos que se alimentan dentro de las viviendas (endofágica) pero reposan fuera de ella, y otras especies que se alimentan fuera (exofágicas) y reposan fuera. Las capturas de mosquitos en reposo se pueden realizar dentro de las viviendas o en el exterior, utilizando equipos adecuados como por ejemplo capturador manual, motomochila o aspirador de largo alcance operado por batería (Fig. 17). Por lo general, estas capturas se realizan en la mañana muy temprano entre 06:00 y 08:00 h, y permiten determinar las especies de vectores que son endofílicas (reposan dentro de la vivienda) o exofílicas (reposan fuera). Si se utiliza este método de forma rutinaria en la vigilancia entomológica, aporta información valiosa sobre cambios estacionales en la abundancia de anofelinos y permite evaluar la eficacia de la aplicación de insecticidas dentro de las viviendas.

Método de captura de mosquitos endofílicos

Con la ayuda de una linterna y un aspirador manual (Fig. 17) se procede a buscar los mosquitos que se encuentren reposando sobre las paredes y los muebles dentro de la vivienda. También se puede utilizar capturadores eléctricos como motomochilas, activados por una batería de 12V (Fig. 17), las cuales son ampliamente empleadas para la captura de *Aedes aegypti*. Los mosquitos capturados son depositados en vasos parafinados con tul y transportados al laboratorio de campo para su posterior identificación. Cabe señalar que en estudios longitudinales, realizados semanalmente durante 15 meses en el occidente de Venezuela, solo se capturaron tres anofelinos reposando en el interior de las viviendas, por lo que queda demostrado que, al menos en Venezuela, las especies de anofelinos vectores, no son endofílicos y por lo tanto hay que buscar sus sitios de reposo en el exterior de las viviendas.

Figura 17. Captura de mosquitos endo y exofílicos.



Métodos de captura de mosquitos exofílicos

Existen diversos equipos adecuados para capturar mosquitos en sus sitios naturales de reposo, como aspiradores mecánicos de fabricación casera (Fig. 17), motomochilas y trampas. Este método es adecuado utilizarlo en vigilancia entomológica ya que si se realizan las capturas de forma

sistemática, se obtiene información relevante sobre:

- a) ubicación de los sitios de reposo de especies vectoras
- b) abundancia estacional
- c) evaluación de aplicación de medidas de control antivectorial

Por otra parte, clasificando la condición abdominal de los especímenes capturados (vacía, llena, semi-grávida o grávida), es posible preservar en sílica gel las hembras alimentadas con sangre y posteriormente identificar la fuente de la comida sanguínea. Esta información es muy valiosa para determinar las preferencias alimentarias de las especies de anofelinos presentes en un área y también evaluar medidas de control antivectorial. Existen diversas técnicas para identificar comidas sanguíneas como serológicas (ELISA) y moleculares. Esta información permite estimar el índice de Sangre Humana, esto es, la proporción de hembras que se alimentan del hombre.

También es recomendable las capturas de mosquitos en reposo en vaquerías, corrales y cochinerías, ya que especies de anofelinos exofágicos y exofilicos, por lo general tienden a reposar cerca de los sitios donde se alimentan. Se recomienda hacer estas capturas durante las primeras horas de la noche, entre 18:00 y 20:00 h, con ayuda de una linterna y un aspirador manual. Los resultados de estas capturas, siempre y cuando sean sistemáticas, se pueden utilizar para evaluar medidas de control antivectorial. Este tipo de captura también es recomendable para obtener en poco tiempo, gran cantidad de mosquitos alimentados que se pueden utilizar para monitoreo de resistencia a insecticidas.

Trampa con cebo animal

Este método, si bien no es muy eficiente en comparación a la captura con atrayentes humanos, es recomendable utilizarlo en sitios donde es factible disponer de animales vertebrados grandes que se puedan utilizar como atrayentes y se cuente con poco personal técnico para realizar las capturas para vigilancia entomológica. Con relativo éxito se ha utilizado la trampa tipo establo (trampa Magoon y sus variantes) y la trampa de corral (trampa Shannon y sus variantes) (Fig.18). El método consiste en introducir al atardecer un animal dentro de la trampa, dejarlo toda la noche y en la mañana, luego de retirar el animal, proceder a capturar con un aspirador mecánico o manual, los mosquitos atrapados en la trampa. Estos mosquitos se transportan al laboratorio de campo en cavas de anime en un ambiente húmedo y se procede a matarlos, identificarlos y contarlos, registrando toda la información relevante en planillas diseñadas para tal fin.

Figura 18. Trampa Shannon con cebo animal y trampa tipo establo (Magoon) para capturar mosquitos zoofílicos.



Existen otros métodos de captura que son apropiados para estudiar el comportamiento endofágico/exofílico de los anofelinos vectores. Este tipo de estudio es indispensable realizarlo a la hora de diseñar e implementar medidas de control de vectores basados en aplicación de insecticidas residuales sobre las paredes dentro de las viviendas. Por tanto es fundamental determinar si los mosquitos reposan en las paredes lo suficiente como para obtener una dosis letal de insecticidas. Entre estos métodos están la Trampa de salida y la Cortina colombiana (Fig. 19), sin embargo no contamos con estudios rigurosos donde se evalúen la efectividad de estas trampas realizados en el país.

Figura 19. Para estudios del comportamiento hematofágico de mosquitos Endofágicos y exofílicos, se puede utilizar la trampa de salida o la más versátil Cortina colombiana.



Referencias

- Belkin J. N., Hogue C. L., Galindo P., Aitken T. H.G., Schick R. X. & Powder W. A. (1965). Mosquito Studies (Diptera: Culicidae). II. Methods for the collection, rearing and preservation of mosquitoes. *Contri. Amer. Ent. Inst.* **1(2)**: 19-78.
- Benedict M. (2009). *Methods in Anopheles research*. Malaria Research and Reference Reagent Center. Version 3. 264 p.
- Cova García P. (1951). *Distribución geográfica y datos bionómicos de los Anofelinos de Venezuela*. Publicación de la División de Malariología, Número 10. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Caracas, Venezuela. 226 p.
- Cova García P. (1961). *Notas sobre los Anofelinos de Venezuela y su Identificación*. Editora Grafos C.A. Caracas. 213 p.
- Elliott R. (1968). Studies on the man vector contact in some malarious areas of Colombia. *Bull. Wild. Hlth. Org.* **38**: 239-253.
- Hay S. I., Sinka M. E., Okara R. M., Kabaria C. W., Mbithi P. M., Tago C. C., Benz D., Gething P. W., Howes R. E., Patil A. P., Temperley W. H., Bangs M. J., Chareonviriyaphap T., Elyazar I. R., Harbach R. E., Hemingway J., Manguin S., Mbogo C. M., Rubio-Palis Y. & Godfray H. C. (2010). Developing global maps of the dominant *Anopheles* vectors of human malaria. *PLoS Medicine*. **7**: e1000209.
- Mendoza F., Ibáñez-Bernal S. & Cabrero-Sañudo F. J. (2008). A standardized sampling method to estimate mosquito richness and public health surveillance programmes. *Bull. Ent. Res.* **98**: 323-332.

- Moreno J., Rubio-Palis Y. & Acevedo P. (2000). Identificación de hábitats larvales de anofelinos en un área endémica del estado Bolívar, Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **40**: 21-30.
- Moreno J., Rubio-Palis Y., Pérez E., Sánchez V. & Páez E. (2002). Evaluación de tres métodos de captura de anofelinos en un área endémica a malaria del estado Bolívar, Venezuela. *Entomotropica.* **17(2)**: 157-165
- OMS (1993). *Técnicas entomológicas de campo para la lucha antipalúdica*. Parte I. Guía del alumno. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Switzerland. 77p.
- Osborn F. R., Rubio-Palis Y., Herrera M., Figuera A., Moreno J. E. (2004). Caracterización de los vectores de malaria en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **44**: 77-92.
- Rejmánková E., Rubio-Palis Y. & Villegas L. (1999). Larval habitats of anopheline mosquitoes in the Upper Orinoco River, Venezuela. *J. Vector Ecol.* **24(2)**: 130-137.
- Rubio-Palis Y. (1992). Influence of moonlight on light trap catches of the malaria vector *Anopheles nuneztovari* in Venezuela. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **8**: 178-180.
- Rubio-Palis Y. (1996). Evaluation of light traps combined with carbon dioxide and 1-octen-3-ol to collect anophelines in Venezuela. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **12**: 109-114.
- Rubio-Palis Y. (2005). Situación actual de la subfamilia Anophelinae (Diptera: Culicidae) en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **45**: 1-10.
- Rubio-Palis Y. (2009). *Manual para la Vigilancia Entomológica de la Malaria en la Cuenca del Río Caura, Estado Bolívar*. MPPS, ACOANA, BIOMED-UC, IDRC. Comunidad Europea, Kuyujani. 12p.
- Rubio-Palis Y. & Curtis C. F. (1992). Evaluation of different methods of catching anopheline mosquitoes in western Venezuela. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* **8**: 261-267.

- Rubio-Palis Y., Guzmán H. & Magris M. (1999). Evaluación de la eficiencia de trampas de luz vs cebo humano para capturar al vector de malaria *Anopheles darlingi* Root. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **29(1)**: 30-32.
- Rubio-Palis Y., Magris M., Ramírez Álvarez R., Guzmán H., Suárez A. & Navarro J. C. (2014). Abundancia y diversidad de especies de Culicinae (Diptera: Culicidae) del Alto Orinoco, estado Amazonas, Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* **54(2)**: 186-198.
- Rubio-Palis Y., Menare C., Quinto A., Magris M. & Amarista M. (2005). Caracterización de hábitats larvales de anofelinos (Diptera: Culicidae) vectores de malaria del Alto Orinoco, Amazonas, Venezuela. *Entomotropica.* **23(3)**: 29-38.
- Rubio-Palis Y., Moreno J. E., Bevilacqua M., Medina D., Martínez A., Cárdenas L., Guzmán H. & González J. (2010). Caracterización ecológica de los anofelinos y otros culícidos en territorio indígena del Bajo Caura, estado Bolívar, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb.* **50(1)**: 95-107.
- Rubio-Palis Y., Moreno J. E., Sánchez V., Estrada Y., Anaya W., Bevilacqua M., Cárdenas L., Martínez A. & Medina D. 2012. Can Mosquito Magnet® substitute for human-landing catches to sample anopheline populations? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **107**: 546-549.
- Rubio-Palis Y., Ramírez Álvarez R., Guzmán H. & Estrada Y. (2014). Evaluación de la trampa Mosquito Magnet con y sin octenol para capturar mosquitos (Diptera: Culicidae). *Bol. Mal. Salud Amb.* **54(2)**: 186-198.
- Silver J. B. (2008). *Mosquito Ecology. Field Sampling Methods.* Third edition. Springer, New York. 1477p.
- Sinka M. E., Rubio-Palis Y., Manguin S., Patil A. P., Temperley W. H., Gething P. W., Van Boeckel T., Kabaria C. W., Harbach R. E. & Hay S. I. (2010). The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites & Vectors.* **3**: 72.
- Williams J. & Pinto J. (2012). *Training Manual on Malaria Entomology.* For Entomology and Vector Control Technicians. USAID, CDC, PAHO. 78p.

WHO (1975). *Manual on practical entomology in malaria*. World Health Organization, Geneva Switzerland. 160p.

WHO (2006). *Malaria vector control and personal protection*. World Health Organization Technical Report Series, n° 936, Geneva, Switzerland. 62p.



Anexos





Anexo 1. Modelo de registro de datos de capturas de estadios inmaduros.

1. Estado:	2. Municipio:	3. Localidad:	4. Fecha:
5. Código:	6. Coordenadas:		
7. Altitud	8. Hora:	9. Punto de Referencia:	
10. Distancia a la casa más cercana:			
			11. Colectores:
AMBIENTE GENERAL		HABITAT LARVARIO	
1. Paisaje	1. Origen	8. Propiedades	
Montaña	Natural Artificial	Profundidad	cm
Altiplanicie	2. Luz	Temperatura	°C
Lomerío		Totalmente iluminado	Conductividad
Penillanura ondulada	Parcialmente sombreado	pH	
Planicie aluvial	Totalmente sombreado	O ₂	ppm
Valle	3. Área m ²	Materia orgánica	%
2. Forma de terreno	4. Tipo de criadero	Dureza	
Plano Inclinado	Laguna	Turbidez	
Banco	Río	TDS	
Cubeta de decantación	Caño	Otro:	
Línea de drenaje	Quebrada o arroyo	9. Vegetación hidrofita	
Depresión	Línea de drenaje esorrentía	Cobertura	%
Microrrelieve ondulado	Manantial	Enraizada emergente	%
Playa	Inundación por desastre	Enraizada sumergente	%
3. Vegetación general	Pantano	Enraizada flotante	%
Bosque	Charca	Flotante	%
Arbustal	Huero en el suelo	Nombre Común	
Matorral	Huero en el árbol	<i>Eicchornia</i> <i>Pistia</i> <i>Nymphaea</i>	
Herbazal	Huero en la roca	<i>Eleocharis</i> <i>Salvinia</i> <i>Wolffia</i>	
Sabana abierta	Bromelia	<i>Graminea</i> <i>Ludwigia</i> <i>Lemna</i>	
Sabana arbolada	Bracteas de Heliconias	<i>Utricularia</i> <i>Mayaca</i> <i>AVF</i>	
4. Flora	Recipiente artificial	Otra:	
Bromelia	Otro:	10. Densidad larvas	
Heliconias	5. Color aparente		
Palmas	Cristalina		
Helechos	Marrón Ambar		
Epifitas	Otro:		
Cultivos	6. Hidrperíodo		
5. Influencia humana	Permanente		
Áreas deforestadas ha.	Temporal		
Picas Carreteras	Estacional		
Casas	7. Dinámica hidrica		
Conucos distancia	Estancada		
Población hab.	Flujo lento		
	Flujo rápido		
Especie:			

Anexo 2. Modelo de registro de desarrollo individual de estadios inmaduros capturados (*).

CRIAS INDIVIDUALES

Localidad:	Código:	Fecha:	Colectores:
------------	---------	--------	-------------

✓ **Presente, 0 Perdido, † muerto, preservado en etanol**

FECHA	CÓDIGO	L	Ex L	P	Ex P	H	M	ESPECIE	OBSERVACIONES	DETERMINADO POR:
	-001									
	-002									
	-003									
	-004									
	-005									
	-006									
	-007									
	-008									
	-009									
	-010									
	-011									
	-012									
	-013									
	-014									
	-015									
	-016									
	-017									
	-018									
	-019									
	-020									
	-021									
	-022									
	-023									
	-024									
	-025									
	-026									
	-027									
	-028									
	-029									
	-030									

L= Larva; Ex L= Exuvia larva; P= Pupa; Ex P= Exuvia pupa; H= Hembra; M= Macho

(*) Se recomienda que esta planilla se fotocopie en el envés de la planilla de **Registro de capturas de inmaduros**, de tal manera que en una sola hoja se tiene toda la información relativa a la captura.

Impreso en el mes de abril de 2015
en los talleres de:

Maracay, Aragua. Venezuela

