Manual de Capacitación en Entomología de la Malaria

Para Técnicos en Entomología y Control Vectorial (Nivel Básico)

Septiembre de 2012

Esta publicación fue elaborada para la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional por RTI International.

USAID FROM THE AMERICAN PEOPLE

PRESIDENT'S MALARIA INITIATIVE

CDC Centers for Disease Control and Prevention

RTI INTERNATIONAL

Pan American Health Organization

Regional Office of the World Health Organization

Manual de Capacitación en Entomología de la Malaria

Para Técnicos en Entomología y Control Vectorial (Nivel Básico)

Manejo integrado de vectores (MIV) Orden de tarea 2
Contrato GHA-I-02-04-00007-00

Producido para
La Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos de América

Autores
Jacob Williams
RTI International
3040 Cornwallis Road
Post Office Box 12194
Research Triangle Park, NC 27709-2194

y

João Pinto
Unidade de Parasitologia Médica/CMDT.LA
Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa
Rua da Junqueira 100, 1349-008 Lisboa, Portugal

Traducido al español por

Norma Padilla y Renata Mendizabal de Cabrera

RTI International se dedica a la investigación y desarrollo para mejorar la condición humana al convertir los conocimientos en prácticas. Su personal es de más de 2.500 personas y ofrece investigación innovadora y soluciones técnicas a gobiernos y empresas de todo el mundo en temas de salud y productos farmacéuticos, educación y capacitación, encuestas y estadísticas, gobernanza en democracia, desarrollo social y económico, tecnología de punta, energía y ambiente. RTI Es la segunda organización sin fines de lucro más grande de los Estados Unidos y mantiene nuevo oficinas en ese país, cinco oficinas y una subsidiaria internacional, al igual que oficinas de proyectos alrededor del mundo.

RTI Internacional es el nombre comercial del Research Triangle Institute

La opinión de los autores que hacen parte de esta publicación no refleja necesariamente el punto de vista de la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional ni del Gobierno de los Estados Unidos.

Agradecimientos

J. Derek Charlwood (Liverpool School of Tropical Medicine) y Carla A. Sousa (Instituto de Higiene e Medicina Tropical-IHMT), por las fotografías aportadas para el manual.

A los siguientes por su revisión critica del contenido del manual: Maria Paz Ade (Organización Panamericana de la Salud-OPS/OMS), Allison Belemvire (USAID), Keith Carter (Organización Panamericana de la Salud-OPS/OMS), Gracella W. Cooper Programa Nacional de Control de Malaria, Liberia), Rainier Escalada (Organización Panamericana de la Salud-OPS/OMS), Christen Fornadel (USAID), Christian Frederickson (Organización Panamericana de la Salud-OPS/OMS), John Githure (RTI International), Michael Macdonald, Jake O'Sullivan (RTI Internacional), Norma Padilla (Centro de Estudios en Salud, Universidad del Valle de Guatemala), Carla A. Sousa (IHMT), Marco Fidel Suarez, Kathryn Welter (RTI Internacional), y Susan Youll (USAID).

CONTENIDOS

Page

Agradecimientos iii

Lista de Figuras vi

Lista de Tablas vii

Introducción 1

Propósito del manual 1

Audiencia a la que se dirige el manual 2

Lista de Términos Útiles 4

Unidad 1 El Control de la Malaria y el Rol de la Entomología 6

1.1 Componentes principales de un programa de control de malaria 6

1.2 Educación Comunitaria 9

1.3 Principios básicos de planificación del control de los vectores de malaria y el rol de la entomología 9

Unidad 2 Biología de los Vectores de la Malaria 12

2.1 Malaria 12

2.2 Ciclo de vida del mosquito *Anopheles* 12

2.3 Hábitats larvarios y factores que afectan la producción de adultos en ambientes hábitats acuáticos 15

2.4 Características de importancia médica de los adultos 17

Unidad 3 Anatomía e Identificación de los Mosquitos 19

3.1 ¿Cómo distinguir los huevos de anofelinos de otros culícidos? 19

3.2 ¿Cómo distinguir las larvas de anofelinos de las de otros culícidos? 20

3.3 La pupa 21

3.4 ¿Cómo distinguir un adulto de anofelinos y culícido? 22

3.5 Métodos para la identificación de especies de mosquitos 24

Unidad 4 Diversidad de los Vectores de la Malaria 26

4.1 Complejos de especies crípticas 26

4.2 Vectores de Malaria en las Américas 27

4.3 Vectores de Malaria en Africa 28

4.4 Vectores de malaria en Asia 30

Unidad 5 Colecta de Mosquitos (Larvas) 32

5.1 Métodos de muestreo 33
5.2 Registros de la colecta 35
5.3 Transporte de larvas vivas 36
5.4 Preservación de muestras 36
5.5 Estimación de parámetros larvarios 36
Unidad 6 Colecta de Mosquitos (Adultos) 38
6.1 Métodos de colecta de mosquitos adultos 38
6.2 Registro de las capturas 45
6.3 Almacenamiento de las muestras 45
Unidad 7 Preparación y Almacenamiento de Muestras de Mosquitos 46
7.1 Principales técnicas de laboratorio 46
7.2 Preparación de muestras de mosquitos 48
7.3 Materiales y equipo esencial 49
7.4 Buenas prácticas de laboratorio 50
Unidad 8 Índices y Factores Que Afectan la Transmisión de la Malaria 51
8.1 Determinando qué mosquitos transmiten la malaria (incriminación vectorial) 51
8.2 Técnicas para la incriminación vectorial 52
8.3 Estimación de los índices de transmisión 53
8.4 Factores que afectan la transmisión de la malaria 57
Unidad 9 Aspectos Básicos de la Crianza de Colonias de Mosquitos en el Laboratorio 59
9.1 El insectario y su funcionamiento básico 59
9.2 Condiciones generales para criar mosquitos 61
Unidad 10 Susceptibilidad a Insecticidas y Pruebas del Bioensayo de Conos 65
10.1 ¿Por qué determinar la susceptibilidad de los vectores de malaria a los insecticidas? 65
10.2 Preparación de vectores para evaluaciones de susceptibilidad y bioensayo de conos 66
10.3 Determinación de la susceptibilidad de mosquitos adultos 66
10.4 Eficacia residual de insecticidas en superficies rociadas (OMS 1998, 2005) 70
Anexo I Ejemplo de un Currículo de Capacitación y Agenda para un Curso Entomológico Básico para Técnicos 72
Anexo II Ejemplos de Formularios de Recopilación de Datos para las Encuestas de Larvas y Mosquitos Adultos 80

Lista de Figuras

Figura 1. Estadios del ciclo de vida del mosquito *Anopheles* 13
Figura 2. . Machos de *Anopheles* al atardecer, formado un enjambre para aparearce 15
Figura 3. Tipos de criaderos de mosquitos 17
Figura 4. Ejemplos de huevos de *Aedes*, *Culex* y *Anopheles* 20
Figura 5. Anatomía de las larvas de *Anopheles* 20
Figura 6. Diferencias entre las larvas de anofelinos y culícidos 21
Figura 7. Pupa de *Anopheles* 22
Figura 8. Anatomía de un mosquito adulto 23
Figura 9. Diferencias en la cabeza de anofelinos machos y hembra y mosquitos culícidos ... 23
Figura 10. Posición de reposo de mosquitos adultos, culícidos y anofelinos 24
Figura 11. Principales materials para la colecta de larvas 33
Figura 12. Colecta de larvas por sumersión 34
Figura 13. Colecta de larvas utilizando una pipeta 35
Figura 14. Principales materiales para la colecta de mosquitos 39
Figura 15. Captura de mosquitos por atracción humana 40
Figura 16. Captura de barrido con piretro 42
Figura 17. Captura de mosquitos en reposo en el peridomicilio 43
Figura 18. Captura manual intradomiciliar de mosquitos en reposo 44
Figura 19. Trampa de salida 44
Figura 20. Condición del abdomen de un mosquito hembra de acuerdo al estado gonotrópico 52
Figura 21. Imagen de un insectario mostrando las bandejas para las larvas y las jaulas para adultos 60
Figura 22. Bandeja para larvas con huevos y larvas del 1er instar 62
Figura 23. Separación de pupas y larvas con una pipeta 63
Figura 24. Selección de resistencia a insecticidas en una población de vectores 66
Figura 25. Tubos de la OMS para evaluar susceptibilidad 67
Figura 26. Recubrimiento de tubos con papeles impregnados 68
Figura 27. Conos del bioensayo de la OMS sobre una pared 70
Figura 28. Bioensayo de conos de la OMS en un mosquitero tratado con insecticida 71

Lista de Tablas

Tabla 1. Medidas de control de los vectores de la malaria (adaptado de la OMS, 2006) 7

Tabla 2. Requerimientos para la implementación exitosa de las principales intervenciones de control vectorial (adaptado de WHO, 2006) 9

Tabla 3. Tipo de método de conservación de partes del cuerpo de un mosquito para ser utilizadas en técnicas de laboratorio..... 49

Introducción

La malaria continua siendo una causa importante de muerte en la mayoría de regiones tropicales del mundo, donde es endémica en 106 países. En el 2010, cerca del 81% del total de los 216 millones de casos de malaria ocurrieron en África, y 13% de los casos ocurrieron en el sureste de Asia[1]. La proporción más grande (91%) del estimado de 665,000 muertes anuales por malaria ocurre en África, afectando principalmente a niños menores de cinco años de edad (86%). En la región de las Américas, en el 2010 ocurrieron más de 670,000 casos de malaria confirmada, con 133 muertes atribuidas a la malaria. La malaria impone impedimentos serios al desarrollo económico y es una causa importante de pobreza en muchos países endémicos.

A pesar del marcado aumento en el financiamiento para el control de la malaria, la meta de reducción de casos propuesta por la incitativa Hacer Retroceder la Malaria[2] y los Programas Nacionales para el Control de la Malaria aun están lejos de alcanzarse en muchos países. Esto se debe en parte a la falta de capacidad en generar conocimiento local adecuado sobre la epidemiologia de la enfermedad que sea útil para una implementación costo-efectiva y para la gerencia del programa. En particular, la capacidad para el monitoreo y vigilancia entomológica es aun rudimentaria en muchos países endémicos. Existe una necesidad urgente en los Programas Nacionales para el Control de la Malaria de crear un número adecuado de personal capacitado para que puedan participar de manera efectiva en las actividades de control de la malaria.

Propósito del manual

Se ha desarrollado un curso de capacitación de dos niveles para técnicos en entomología, con el objetivo de facilitar el fortalecimiento de las competencias básicas para el monitoreo y la vigilancia entomológica en países endémicos para la enfermedad. Este manual está dirigido a servir de guía al curso entomológico de nivel básico (Nivel 1) cubriendo:

1. El ciclo de vida y la bionomía de los mosquitos;
2. Muestreo de larvas y adultos, identificación de mosquitos e incriminación de vectores de malaria;
3. Principales índices de la transmisión de la malaria y que representan;
4. Control de vectores para malaria y las principales intervenciones en la actualidad;
5. El papel de la entomología en el control de vectores;
6. Principios básicos para la crianza de mosquitos en el laboratorio;

[1] WHO (2009). World Malaria Report 2011. World health Organization. Geneva, Switzerland (http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2011/en/)
[2] Roll Back Malaria – Global Malaria Partnership (http://www.rbm.who.int/index.html)

7. Ensayos de susceptibilidad y eficacia residual de los insecticidas utilizados en el control de vectores.

Este manual presenta los temas básicos que son críticos para comprender el objetivo educacional primario de cada área temática. Sin embargo, se anticipa que el curso de capacitación proporcionará mejores oportunidades para el trabajo de campo y asegurará una experiencia de aprendizaje completa y afianzará las destrezas/competencias prácticas. Se prevé un aprendizaje para adultos y un formato participativo, en el que los alumnos deben ser alentados a encontrar las cosas por si mismos y de los demás. En el Anexo 1 se encuentra un ejemplo del currículo y horario para el curso básico en entomología para técnicos.

Audiencia a la que se dirige el manual

Este manual básico está destinado al personal de malaria a nivel distrital o municipal en países endémicos para malaria. Este personal es quién normalmente conforma el equipo que colecta y reporta a nivel local los indicadores entomológicos en apoyo a los programas de control de vectores. Normalmente tiene educación secundaria o un diploma en un área temática que se presta a la capacitación en entomología.

Lecturas adicionales

Este manual ha sido elaborado a partir de guías existentes, manuales y artículos publicados, entre ellos:

1. Benedict M (2009). *Methods in Anopheles research*. Malaria Research and Reference Reagent Center. Version 3. 264 pp
2. Hay SI, Sinka ME, Okara RM, Kabaria CW, Mbithi PM, Tago CC, Benz D, Gething, PW, Howes RE, Patil AP, Temperley WH, Bangs MJ, Chareonviriyaphap T, Elyazar IR, Harbach RE, Hemingway J, Manguin S, Mbogo CM, Rubio-Palis Y, Godfray HC (2010) Developing global maps of the dominant *Anopheles* vectors of human malaria. *PLoS Medicine* 7: e1000209.
3. Manguin S, Garros C, Dusfour I, Harbach RE, Coosemans M (2008). Bionomics, taxonomy, and distribution of the major malaria vector taxa of *Anopheles* subgenus *Cellia* in Southeast Asia: an updated review. *Infection, Genetics and Evolution* 8: 489-503.
4. Service MW, Townson H (2002). The *Anopheles* vector. In: *Essential Malariology*. Eds: DA Warrell and HM Gilles. 4th Ed. Arnold Publishers, London. 348 pp.
5. Sinka ME, Rubio-Palis Y, Manguin S, Patil AP, Temperley WH, Gething PW, Van Boeckel T, Kabaria CW, Harbach RE, Hay SI (2010). The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in the Americas: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites & Vectors* 3: 72.
6. Sinka ME, Bangs MJ, Manguin S, Coetzee M, Mbogo CM, Hemingway J, Patil AP, Temperley WH, Gething PW, Kabaria CW, Okara RM, Van Boeckel T, Godfray HC, Harbach RE,

Hay SI (2010). The dominant *Anopheles* vectors of human malaria in Africa, Europe and the Middle East: occurrence data, distribution maps and bionomic précis. *Parasites & Vectors* 3: 117.

7. WHO (1975). *Manual on practical entomology in malaria.* World Health Organization, Geneva Switzerland. 160 pp.
8. WHO (1992). *Entomological Field Techniques for Malaria Control. Part I: learner's guide*. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 77 pp.
9. WHO (1998). *Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, Bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces*. World Health Organization, Geneva Switzerland. WHO/CDS/CPC/MAL/98.12
10. WHO (2002). *Manual for residual spraying: Application of residual sprays for vector control.* World Health Organization, Geneva Switzerland. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000.3
11. WHO (2003a). *Malaria control in the African Region*. WHO Regional Office for Africa, Harare, Zimbabwe.
12. WHO (2003b). *Malaria Entomology and Vector Control: Learner's Guide*. World Health Organization, Geneva, Switzerland WHO/CDS/CPE/SMT/2002.18 Rev.1
13. WHO (2005). *Guidelines for laboratory and field testing of long-lasting insecticidal mosquito nets.* World Health Organization, Geneva, Switzerland. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.11
14. WHO (2006). *Malaria vector control and personal protection*. World Health Organization Technical Report Series, n° 936, Geneva, Switzerland. 62 pp.
15. WHO (2009). 2008 World Malaria Report. World health Organization. Geneva, Switzerland. WHO/HTM/GMP/2008.1

Lista de Términos Útiles

En este manual las abreviaturas de los índices entomológicos y métodos de captura se presentan en inglés, con la finalidad de uniformar la terminología a nivel global y que la misma pueda reconocerse, independiente de la ubicación geográfica o idioma.

Estivación: Un estado de letargo e inactividad que los organismos experimentan para sobrevivir a temperaturas extremadamente altas y a las condiciones áridas ocasionadas por la temporada de calor.

Antropogénico: Se refiere a cualquier efecto que se relacione con, o es resultado de, el impacto de la actividad humana en la naturaleza.

Anticuerpos: Son proteínas particulares (llamadas inmunoglobulinas) que el sistema inmune utiliza para reconocer y neutralizar sustancias extrañas en el interior del cuerpo, tales como virus, bacterias o parásitos.

Especie biológica: Un grupo de poblaciones, u organismos en una población, que tiene la capacidad real o potencial de cruzarse en la naturaleza y producir descendencia fértil.

Bionomía: cuando se hace referencia a los mosquitos, este término se refiere a las características biológicas, ecológicas y de comportamiento de una especie o población, que influyen en su capacidad para actuar como un vector de la enfermedad.

Ciclo esporogónico: Esta es la parte del ciclo de vida del parásito de la malaria que se desarrolla en el interior del mosquito. Se inicia cuando el mosquito ingiere sangre de un hospedero humano infectado (u otro vertebrado). Dentro del estómago del mosquito, los estadios sexuales del parásito (gametocitos) se unen para formar un huevo (oocineto) que se mueve a la pared celular del estómago. El oocineto se desarrolla en un oocisto en la cara externa de la pared del estómago. En el interior del oocisto, se forman los esporozoitos por un proceso de división celular (meiosis). Luego los oocistos estallan, liberando los esporozoitos, que se mueven hacia las glándulas salivales, invadiéndolas. Una vez en las glándulas salivales, los esporozoitos pasan a un hospedero humano la próxima vez que el mosquito pique y se alimente de sangre. Hay algunos medicamentos antimaláricos que atacan estadios específicos del parásito durante el ciclo esporogónico. Los medicamentos gametocitocidas matan a los gametocitos y las drogas esporontocidas matan a los esporozoitos. Un ejemplo de estos fármacos es primaquina.

Citogenética: Estudio de la estructura y función de los cromosomas (estructuras heredadas que portan los genes que determinan el sexo y las características de un organismo). Cuando la citogenética se aplica a la identificación y el estudio de las relaciones entre las especies biológicas, se conoce como citotaxonomía.

Cromosomas politénicos: Estos son cromosomas gigantes formados por múltiples copias del material genético del cual están compuestos. Estos cromosomas gigantes ocurren sólo en ciertas células de insectos. Debido a su tamaño, los cromosomas politénicos son muy útiles para el análisis citogenético.

Dimorfismo sexual: Diferencias características entre machos y hembras de la misma especie.

Epidemiología: Estudio de la distribución, patrones y los determinantes de las características de salud y los eventos de salud (como enfermedades) en las poblaciones, y cómo se aplica para el control de enfermedades y problemas de salud.

Espiráculos: Aberturas circulares en el cuerpo de los insectos que permiten que el aire entre al interior del cuerpo.

Esporozoito: Esta es la etapa del ciclo de vida del parásito de la malaria en el mosquito que es capaz de producir una infección en el humano (u otros hospederos vertebrados). Por lo tanto, es la etapa del parásito de la malaria que es **infectiva** para los seres humanos. Los esporozoitos se encuentran en las glándulas salivales de los mosquitos. La pared celular externa del esporozoito está cubierta por una proteína estadio-específica llamada proteína del **circumsporozoito**. Esta proteína es lo que se evalúa en el laboratorio para determinar si un mosquito es infectivo (transmitirá el parásito de la malaria cuando pique) o no.

Material genético: Este es el material biológico que está presente en todos los organismos vivos y que puede ser transmitido de una generación a la siguiente (heredable). El material genético determina la estructura y función de las células que forman un organismo. Un gen es una secuencia particular del material genético que determina una proteína específica. En la célula, el material genético está organizado en estructuras llamadas **cromosomas**.

Morfología: Este término se refiere al tamaño, forma y estructura de los organismos, o de las partes del cuerpo que los constituyen (tanto internas y externas). El término **anatomía** se utiliza a menudo en lugar de morfología, debido a que estudia la organización y estructura de los organismos.

Mutación genética: Este término se refiere a cualquier cambio en la secuencia de nucleótidos en el ADN de un gen dado. Estos cambios pueden dar lugar a modificaciones de la proteína que el gen codifica. Los organismos que llevan la mutación se llaman **mutantes**, en contraposición a los individuos de tipo silvestre.

Paridad: El número de veces que una hembra ha dado vida a una descendencia. Una hembra de mosquito que ha puesto huevos por lo menos una vez en su vida se denomina párida. Las hembras que aún no han puesto huevos se llaman nulíparas.

Proteína: son compuestos bioquímicos (moléculas) que conforman las células de los organismos vivos. Las proteínas desempeñan un papel en todas las funciones biológicas.

Unidad 1
El Control de la Malaria y el Rol de la Entomología

Objetivos de aprendizaje

Esta unidad tiene como objetivo proporcionar los conocimientos básicos sobre:

- **Las medidas para el control de la malaria utilizadas en la actualidad**
- **Las principales medidas de control vectorial**
- **El papel de la entomología en el control de la malaria**
- **Factores importantes a considerar cuando se planifica el control vectorial para malaria**

1.1 Componentes principales de un programa de control de malaria

Los programas de control de la malaria constan de tres componentes básicos:

- Detección temprana y tratamiento efectivo de los casos de malaria
- Control del mosquito(s) vector
- Educación comunitaria

Diagnostico temprano y tratamiento efectivo de pacientes (quimioterapia)

El uso de medicamentos contra la malaria es la principal herramienta para reducir las poblaciones de parásitos. Además del tratamiento y la profilaxis, los animaláricos gametocitocidas y esporonticidas afectan el desarrollo esporogónico en el mosquito y por lo tanto la transmisión de malaria.

En la actualidad, la mayoría de los programas de control de la malaria han adoptado estrategias de detección temprana y tratamiento oportuno de los casos de malaria. Estas estrategias conllevan la implementación de centros de distribución de medicamentos y puestos de diagnóstico rápido a nivel del sistema de atención primaria de salud. Para ser más efectivo, las personas en riesgo de contraer malaria necesitan conocer los síntomas de la malaria y estar listos para buscar el tratamiento adecuado. La ubicación de personas capacitadas dentro de la comunidad (p. ej. trabajadores de salud comunitarios) para ayudar a identificar los casos de malaria y facilitar el acceso a un tratamiento efectivo ha resultado fundamental para que los pacientes reciban el tratamiento de manera oportuna.

Sin embargo, hay varios problemas que ponen en riesgo estos métodos. Los obstáculos relacionados con la accesibilidad a los medicamentos son una realidad común. Además, hay problemas de falta de adherencia al tratamiento, relacionados a razones económicas y a los efectos secundarios de algunos medicamentos. Como resultado, los regímenes terapéuticos a

menudo no se completan, aumentando el riesgo del desarrollo de resistencia a los medicamentos. El surgimiento y propagación de la resistencia a los medicamentos antimaláricos como la cloroquina y la sulfadoxina/pirimetamina (Fansidar®) es un obstáculo importante para la sostenibilidad del componente parasitológico de los programas de control de la malaria.

Control vectorial y principios para una implementación efectiva

El control vectorial es un elemento fundamental de la Estrategia Global de Control de la Malaria de la Organización Mundial de la Salud. Continúa siendo la forma más efectiva para prevenir la transmisión de la malaria. El control de los vectores de la malaria incluye medidas para reducir el contacto entre el vector (es) y los seres humanos y para reducir el número de mosquitos que llegan a la etapa en la que pueden transmitir el parásito (etapa infectiva). Si se hace de manera efectiva, la transmisión del parásito disminuye, lo cual reduce el número de personas que desarrollan la malaria.

En la actualidad el control vectorial de la malaria se divide en dos grandes categorías, que se muestran en la Tabla 1, y en su mayoría se basan en el uso de insecticidas.

Tabla 1. Medidas de control de los vectores de la malaria (adaptado de la OMS, 2006)

Método	Acción	Para protección individual y familiar	Para protección comunitaria
Control del vector adulto	Reducción del contacto humano-mosquito	Mosquiteros tratados con insecticidas, repelentes, ropa protectora, colocación de cedazo o malla en las casas y otras mejoras en la vivienda	Mosquiteros tratados con insecticidas, zooprofilaxis
	Eliminación de mosquitos adultos		Mosquiteros tratados con insecticidas, rociado residual intradomicialiar, rociado espacial, nebulización espacial
Control de criaderos (Manejo de fuentes larvarias)	Eliminación de larvas de mosquito	Saneamiento del peridomicilio	Aplicación de larvicidas a superficies de agua, irrigación intermitente, drenado, control biológico
	Reducción de fuentes	Drenaje a pequeña escala	Saneamiento ambiental, manejo del agua y drenajes

Los principales métodos de control vectorial implementados actualmente por los programas de vectores de malaria incluyen métodos dirigidos o que atacan a las larvas y mosquitos adultos:

- **Manejo de criaderos (LSM):** Este tiene como objetivo reducir el número de vectores que llegan a etapa adulta. LSM podría ser una buena intervención complementaria particularmente en situaciones de densidad alta de poblaciones de mosquitos con distintos y pocos criaderos, como zonas secas con sitios limitados y manejables (Tabla 2). LSM puede utilizar:

- Insecticidas químicos (p. ej. temefos), agentes biológicos (p. ej. bacterias tales como *Bacillus thuringiensis* israelensis - Bti) o toxinas que matan larvas y pupas.
- Peces larvívoros como *Gambusia affinis* y el "guppy" (*Poecilia reticulata*).
- La aplicación de aceite que forma una película sobre el agua y de ese modo dificulta la capacidad de respirar de las larvas y pupas.
- El uso de reguladores de crecimiento para insectos, que evitan que las larvas lleguen a la etapa adulta
- Manipulando o eliminando físicamente los hábitats larvarios para prevenir la cría de mosquitos. Cuando los cambios son permanentes (p. ej. drenado, llenado de estanques y zanjas), se llama modificación manejo ambiental.

- **Rociado residual intradomiciliario (IRS):** Este está dirigido el vector adulto. Consiste en rociar las paredes interiores de las viviendas con insecticidas de acción residual aprobados por la OMS. Una vez aplicados, estos insecticidas se secan dejando una película pequeña de cristales en la pared. El vector adquiere el insecticida cuando reposa en las paredes, ya sea antes o después de una comida de sangre, y muere por la exposición, si es susceptible al insecticida. Algunos de los insecticidas utilizados para el IRS también son capaces de repeler los mosquitos, y esto reduce el número de vectores entrando en las habitaciones rociadas.
- **Mosquiteros tratados con insecticidas (ITN):** Esta medida está dirigida al vector adulto. El mosquitero prové una barrera efectiva entre la persona que está durmiendo debajo de él y el mosquito vector. Esto reduce la posibilidad de picadura e infección. El insecticida impregnado también actúa para matar y repeler cualquier vector susceptible que repose en el mosquitero. En la actualidad, se utilizan los mosquiteros insecticidas de larga duración (LLIN) que tienen una vida útil de alrededor de 2-3 años. Es normal que los programas se fijen como meta a un 80% o más de la población en riesgo en el área de operación, ya que se ha demostrado que proporciona un efecto comunitario.

La efectividad de cada intervención depende de un número de variables que incluyen características bio-ecológicas de los mosquitos vectores, características del hábitat del área y aspectos socio-económicos/culturales de la población humana. La Tabla 2 muestra algunos de los requisitos fundamentales para el uso de las tres principales intervenciones.

Tabla 2. Requerimientos para la implementación exitosa de las principales intervenciones de control vectorial (adaptado de WHO, 2006)

Intervención	Requerimiento
Rociado Residual Intradomiciliario	• Vectores que reposen predominantemente en el intradomicilio (especies endofílicas) • Viviendas con paredes y techos • La población a quien va dirigida no sea nómada (residentes permanentes) • Movilización comunitaria efectiva para maximizar la voluntad de la población a quién va dirigida a aceptar el rociado y cumplir con los requerimientos de seguridad • Capacidad del programa nacional para organizar la entrega y la aplicación correcta y oportuna a todas las casas en las zonas seleccionadas, incluyendo información sobre el número y la ubicación de las viviendas a rociar
Mosquiteros tratados con insecticidas	• La mayoría de infecciónes de malaria se adquieren en el intradomiclio (especies endofágicas) • Por lo menos algunas de las picaduras del vector se producen en las horas en que la gente está durmiendo • Una movilización comunitaria efectiva para maximizar la disposición de las personas para utilizar correctamente el mosquitero • Un sistema adecuado para suministrar mosquiteros tratados, incluyendo información sobre el número y la ubicación de las casas y los espacios para dormir que requieren mosquitero. • Capacidad para organizar un programa de tratamiento de mosquiteros de forma gratuita o para cambiar al uso de mosquiteros insecticidas de larga duración.
Manejo de fuentes larvarias	• Que se desarrollen en criaderos semipermanentes • Capacidad para ubicar y mapear una gran proporción de los criaderos de mosquitos que se ubiquen dentro de rango de vuelo en la comunidad que se requiere proteger • La selección adecuada de las medidas anti-larvarias • Participación de la comunidad para la reducción y/o eliminación de los criaderos

1.2 Educación Comunitaria

Las medidas de control antivectorial deben tener un fuerte componente de participación social que normalmente debe tener como objetivo motivar a la protección personal y familiar, y podrían incluir la educación sanitaria y la movilización comunitaria.

Las medidas destinadas a reducir el contacto humano-vector a menudo implican un cambio en los hábitos humanos. Generalmente, con los programas de control se llevan a cabo programas educativos centrados en el uso correcto de los mosquiteros y otras medidas de protección individual, saneamiento, y en la necesidad de terapias adecuadas.

1.3 Principios básicos de planificación del control de los vectores de malaria y el rol de la entomología

La carga de enfermedad por malaria sigue siendo alta en muchos lugares, a pesar de la eficacia de los métodos de control actuales. Aunque ha habido marcado aumento en el financiamiento para el control de la malaria en la mayoría de los países endémicos (tanto de fuentes externas como internas de los países), los recursos siguen siendo en general limitados para los programas nacionales.

Las estrategias de control de la malaria deberían basare en estudios epidemiológicos y entomológicos que aporten información de calidad respecto a los determinantes de la carga local de la enfermedad. La mayoría de los países endémicos, sin embargo, todavía enfrentan retos significativos para planificar e implementar las medidas de control vectorial de manera efectiva. La infraestructura, habilidades técnicas y competencias siguen siendo inadecuadas. Además, en muchos lugares los vectores están desarrollando resistencia a los insecticidas.

La entomología de la malaria comprende el estudio de los factores biológicos, de comportamiento y ecológicos que les permiten a los mosquitos vectores transmitir los parásitos de la malaria de una persona a otra. Permite la investigación sistemática sobre el por qué las medidas de control que se están implementando pueden o no estar funcionando. La entomología por lo tanto, es fundamental para la planificación y el mejoramiento de la estrategia de control de la enfermedad.

Algunas de las preguntas que pueden responder los estudios entomológicos incluyen:

- La identificación de los mosquitos *Anopheles* presentes en el área local, y cuáles de estas especies son responsables de la transmisión de la malaria en esta área.
- El comportamiento (p. ej. de picada, hábitos de reposo) y criaderos de las especies locales de vectores: por ejemplo, si los vectores se alimenta de sangre de otros animales aparte de los seres humanos y qué proporción se alimentan en el peridomicilio en comparación con el intradomicilio.
- Si están afectando o no a los vectores las intervenciones que se están implementando y a su capacidad de transmitir la malaria. Los indicadores a medir incluyen los cambios en la densidad de la población vectora, las tasas de infección, niveles de susceptibilidad/resistencia de los vectores a los insecticidas que se utilizan, y la acción residual de los insecticidas sobre superficies tratadas y en mosquiteros impregnados.

Los programas de control de vectores se planifican mejor si se basan en los resultados de estudios entomológicos de este tipo. Finalmente, la implementación del control vectorial debe dar la importancia adecuada a la costo-efectividad y sostenibilidad. Se deben hacer esfuerzos para fortalecer progresivamente las capacidades locales para la planificación, implementación, monitoreo y evaluación.

Tipos de encuestas de mosquitos

Hay cuatro tipos principales de encuestas de mosquitos:

- **Encuestas preliminares:** Estas son originales, básicas y a corto plazo. Se utilizan para recopilar datos de línea base generalmente con el fin de planificar una intervención de control vectorial. El énfasis en este tipo de encuestas incluye la identificación de especies vectores, cambios en la densidad, comportamiento de reposo y alimentación, hábitats de las larvas, la longevidad, las tasas de infección y la susceptibilidad a los insecticidas.

- **Observaciones regulares o tendencia:** Son observaciones de rutina o a largo plazo (encuestas longitudinales o encuestas operacionales de monitoreo). Se llevan a cabo con regularidad (p. ej. semanal, mensual) con el fin de evaluar el impacto de las medidas de control.
- **Controles al azar:** Estos se llevan a cabo en localidades elegidas al azar y que no son los sitios fijos de monitoreo para proporcionar información suplementaria de aéreas que de otro modo no estarían representadas en el monitoreo rutinario.
- **Investigaciones de foco:** Estas se llevan a cabo en áreas nuevas o persistentes de transmisión de malaria para investigar las razones de la transmisión de la enfermedad, o por qué las intervenciones implementadas no son efectivas en la reducción de la carga de enfermedad**.**

Unidad 2
Biología de los Vectores de la Malaria

Objetivos de aprendizaje

El conocimiento sobre la biología y el comportamiento de los mosquitos *Anopheles* es importante para entender cómo se transmite la malaria y ayudar en el diseño de estrategias de control adecuadas. Esta unidad tiene como objetivo proporcionar los conocimientos básicos sobre:

- **La enfermedad y el parásito.**
- **El ciclo de vida del mosquito *Anopheles*.**
- **Los criaderos larvarios y las condiciones que afectan el número de adultos que emergen.**

2.1 Malaria

La malaria es una enfermedad de importancia en salud pública en la mayoría de los países tropicales. Es causada por parásitos del género *Plasmodium* que se transmiten de una persona a otra a través de la picadura de un mosquito hembra *Anopheles* infectivo. El mosquito macho del género *Anopheles* se alimenta sólo de néctar y jugos de plantas, y por lo tanto no transmite la malaria.

Hay cinco especies de *Plasmodium* que infectan al hombre: *Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium malariae, Plasmodium ovale* y *Plasmodium knowlesi*. La última especie se limita al Sudeste de Asia e infecta principalmente a primates no humanos.

Existen alrededor de 480 especies de mosquitos *Anopheles* de las cuales sólo alrededor de 80 son conocidas por transmitir la malaria; 15 de ellas son consideradas las principales especies de vectores de la malaria. El mosquito adquiere el parásito *Plasmodium* cuando succiona sangre de una persona infectada. Una vez dentro del mosquito, el parásito se multiplica a medida que se mueve desde el estómago del mosquito hacia las glándulas salivales, desde donde se transmite la próxima vez que el mosquito infectado pica a otra persona.

2.2 Ciclo de vida del mosquito *Anopheles*

Hay cuatro estadios en el ciclo de vida de un mosquito: huevo, larva, pupa y adulto (Fig. 1). Durante su ciclo de vida el mosquito sufre dos cambios (metamorfosis), de larva a pupa y de pupa de adulto.

Estadio de huevo

- Las hembras adultas de *Anopheles* copulan una vez y continúan poniendo huevos a lo largo de su vida.
- Las hembras deben tomar una ingesta sanguínea cada 2-3 días. La sangre es necesaria para el desarrollo de los huevos. Las hembras ponen una tanda de huevos antes de la siguiente alimentación con sangre.
- Los huevos son depositados en el agua (pozas de lluvia, lagunas, riberas de ríos, lagos, etc.) en tandas de 50 a 200 huevos.
- El tiempo que transcurre para que los huevos eclosionen en larvas depende en gran parte de la temperatura:
  - A unos 30°C, los huevos eclosionan en larvas en unos 2-3 días.
  - En zonas templadas (16°C), en unos 7-14 días.

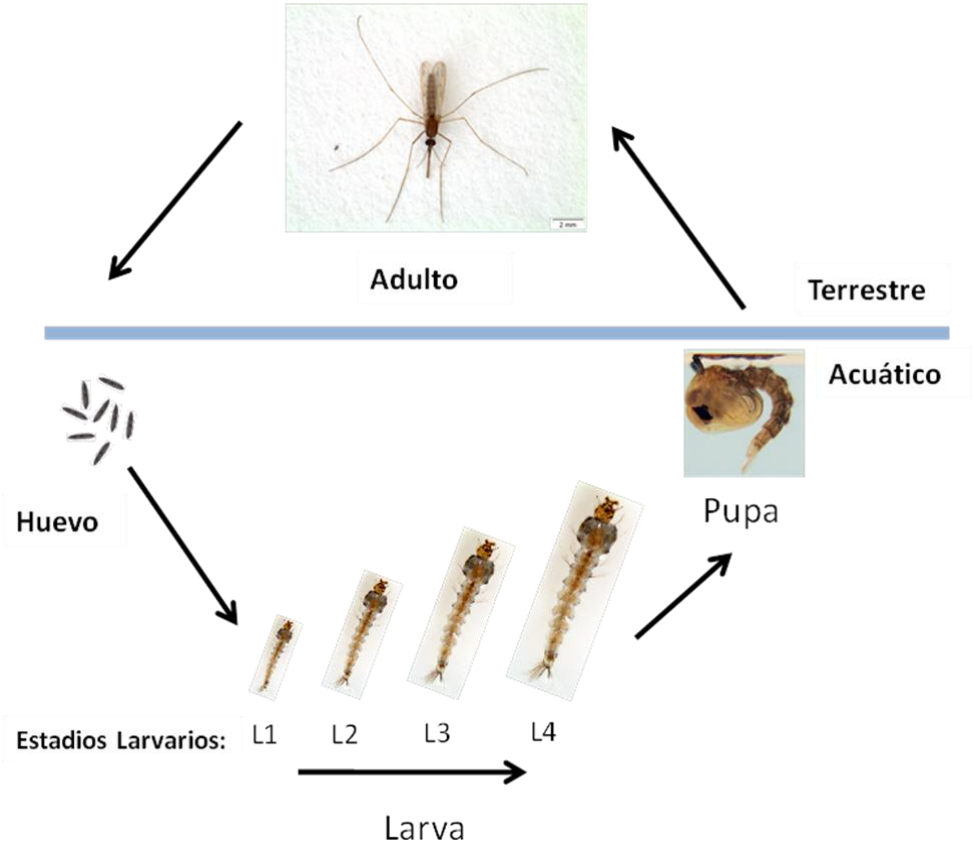


Figura 1. Estadios del ciclo de vida del mosquito *Anopheles*

Estadio de larva

- La larva tiene una cabeza bien desarrollada con "cepillos bucales" utilizados para la alimentación (filtradores). La larva se alimenta de microorganismos (p. ej. algas, bacterias) y materia orgánica en el agua donde se crían.
- La larva de *Anopheles* no tiene sifón respiratorio. Se coloca paralelo a la superficie del agua para respirar.
- Hay cuatro etapas en el desarrollo de larva, conocidos como instares (denotado como L1 a L4, Fig. 1).
- El desarrollo de larva a pupa tarda cerca de 5-10 días en temperaturas tropicales normales, dependiendo de la especie. La temperatura del agua afecta el tiempo necesario para el desarrollo, el cual es más corto en aguas más cálidas.

Estadio de pupa

- La pupa tiene la forma de una coma y permanece en la superficie del agua.
- Tiene un par de trompetas respiratorias a través de las cuales respira cuando está en la superficie.
- No se alimenta durante este estadio, pero la pupa es móvil y responde a los estímulos.
- Esta es la fase de reposo o inactividad durante la cual ocurre una gran transformación de vivir en el agua para emerger a vivir fuera del agua.
- La etapa de pupa dura unos 2-5 días.

Estadio adulto

- El adulto usualmente emerge de la pupa al atardecer.
- Después de emerger de la pupa, el mosquito adulto reposa por un corto período de tiempo con el fin de endurecer su cuerpo.
- Los mosquitos se aparean poco después de emerger (Fig. 2). Al atardecer los machos forman grandes enjambres, y las hembras vuelan dentro de los enjambres para aparearse.
- Tanto los mosquitos machos como las hembras se alimentan de néctar para obtener energía.
- Después de aparearse, los mosquitos hembra salen en búsqueda una ingesta sanguínea, necesaria para el desarrollo de sus huevos. Para algunas especies una alimentación es suficiente para desarrollar los huevos. En otras especies se requieren dos alimentaciones, al menos para el desarrollo de la primera tanda de huevos.
- El tiempo que transcurre en *Anopheles* de huevo a adulto puede variar entre 7 días a 31°C y 20 días a 20°C.

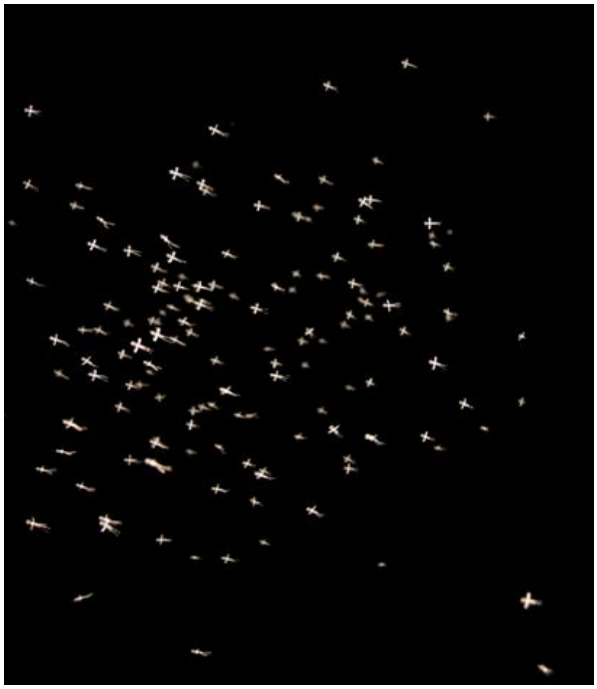


Figura 2. . Machos de *Anopheles* al atardecer, formado un enjambre para aparearce

(foto: JD Charlwood)

2.3 Hábitats larvarios y factores que afectan la producción de adultos en ambientes hábitats acuáticos

El tipo de cuerpo de agua adecuado para el desarrollo de larvas de mosquitos (hábitat larvario o criadero), varía grandemente entre especies de mosquitos e incluso dentro de la misma especie. Algunas especies prefieren los cuerpos de agua con sombra, mientras que otras prefieren hábitats soleados. Algunas requieren agua no contaminada, mientras que otras se crían en aguas contaminadas. Algunas especies buscan cuerpos de agua de carácter más permanente (p. ej. drenajes, tanques de agua, canales de riego) y otras ocupan charcos temporales (Fig. 3).

Los *Anopheles* no suele criarse en arroyos o ríos de movimiento rápido, ya que las larvas no están adaptadas para resistir a la acción del oleaje. Pero los criaderos pueden ser tan diversos como pantanos, marismas, arrozales, lagunas temporales (charcos), zanjas, desagües, zanjas de drenaje, pozas de roca, agujeros de árbol, recipientes para almacenamiento de agua y latas

vacías. Sin embargo, algunas especies de anofelinos muestran preferencia a condiciones específicas.

En Africa:

- *Anopheles gambiae* prefiere pequeños depósitos temporales de agua que estén expuestos a la luz solar, como charcos, pisadas de animales o marcas de neumáticos en caminos de tierra.
- *Anopheles funestus* prefieren cuerpos de agua permanentes o semi-permanentes, generalmente con vegetación (p. ej. orillas de arroyos, pantanos y ciénagas).

En las Américas:

- Las larvas de *Anopheles darlingi* se encuentran principalmente en los márgenes sombreados de arroyos y lagunas de aguas transparentes y fondos lodosos, con vegetación emergente o flotante.

En Asia:

- En las zonas urbanas, *Anopheles stephensi* se cría en hábitats hechos por el hombre tales como cisternas, pozos, canales y fuentes con distintos tipos de agua, incluyendo agua contaminada y salobre.

No se sabe mucho acerca de los factores que afectan a la supervivencia de las larvas y los mecanismos que controlan la emergencia de los adultos. Sin embargo, se sabe que la precipitación, temperatura, humedad y la época del año, influyen en la supervivencia larvaria y la emergencia de los adultos.

a. Pequeño charco (temporal), b. Charcos de marcas de neumáticos a lo largo de una carretera (temporales), c. estanques (permanente), d. Arrozales (semi-permanente), e. Tanques de agua y zanjas (permanentes).

Figura 3. Tipos de criaderos de mosquitos

2.4 Características de importancia médica de los adultos

La longevidad de los *Anopheles* adultos varía entre especies y depende de factores externos como la temperatura, humedad y la presencia de depredadores. El periodo de vida promedio de un *Anopheles* hembra es de unos 15 días, pero en algunas especies se han reportado hasta dos meses de vida.

Son de gran importancia epidemiológica los comportamientos relacionados a la ingesta sanguínea y al reposo después de una comida de sangre para el desarrollo de los huevos.

- Algunos mosquitos pican predominantemente en el intradomicilio (endofágicos) y otros en el peridomicilio (exofágicos).
- Algunos mosquitos prefieren picar a los humanos (antropofílicos), mientras que otros prefieren alimentarse de animales (zoofílicos).
- Las especies de mosquitos que tienden a reposar en el intradomicilio durante la digestión de la sangre y el desarrollo del huevo se llaman endofílicas mientras que otras especies que reposan en el peridomicilio son exofílicas.

- Las especies de mosquitos también pueden variar en su actividad de picadura durante la noche. Algunas especies alcanzan un pico de picadura en las primeras horas de la noche, mientras que otras en la madrugada. Algunos mosquitos empiezan a picar al atardecer, incluso antes de que caiga la noche. El patrón diario de picadura de una especie de mosquito se conoce como ciclo de picadura.

Unidad 3
Anatomía e Identificación de los Mosquitos

Objetivos de aprendizaje

Al final de esta unidad, el participante debe ser capaz de:

- **Saber identificar los mosquitos adultos de *Anopheles*.**
- **Diferenciar los mosquitos machos y hembras.**
- **Distinguir la hembra de *Anopheles* de las hembras de otros mosquitos.**
- **Distinguir el huevo y la larva de *Anopheles* de las de otros mosquitos.**

La malaria humana es transmitida exclusivamente por mosquitos del género *Anopheles*. Este género pertenece a una subfamilia llamada Anophelinae (anofelinos) dentro de la familia Culicidae. Hay otra subfamilia llamada Culicinae (culícidos) que incluye dos géneros de gran importancia médica: *Aedes* (p. ej. *Aedes aegypti*, vector del dengue y la fiebre amarilla) y *Culex* (p. ej. *Culex quinquefasciatus,* vector de la filariasis linfática). Con excepción de la pupa, es posible distinguir fácilmente los anofelinos de los culícidos en todas las etapas del ciclo de vida del mosquito.

3.1 ¿Cómo distinguir los huevos de anofelinos de otros culícidos?

- Los huevos de *Anopheles* tienen flotadores (Fig. 4) en los extremos laterales y los huevos flotan por separado en el agua.
- Los huevos de los culícidos no tienen flotadores. Los huevos de *Culex* son ovipositados en agregados formando una "balsa" que flota en la superficie del agua. *Aedes* oviposita los huevos en forma individual sobre superficies sólidas y no en la superficie del agua.

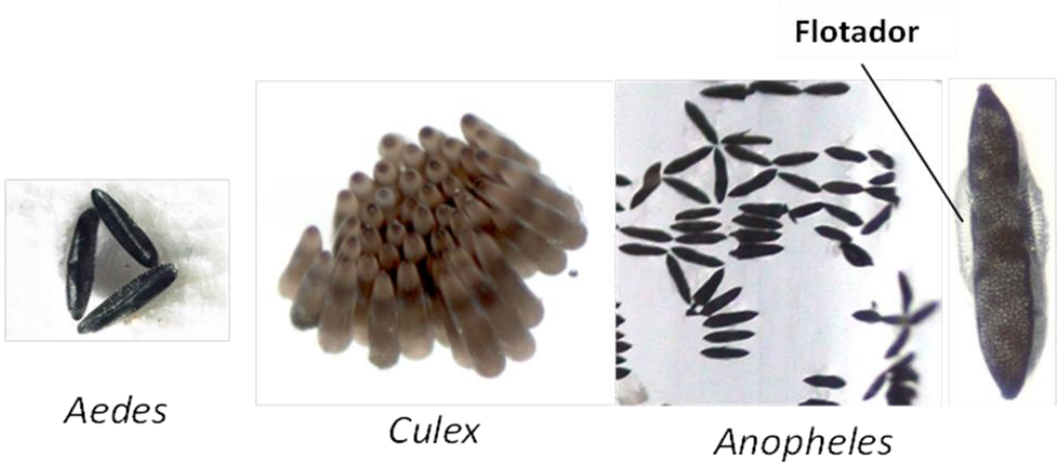


Figura 4. Ejemplos de huevos de *Aedes*, *Culex* y *Anopheles*

3.2 ¿Cómo distinguir las larvas de anofelinos de las de otros culícidos?

La larva de un mosquito se divide en cabeza, tórax y abdomen (Fig. 5). Durante su desarrollo, la larva pasa a través de cuatro estadios o instares larvarios (L1-L4) con un aumento de tamaño entre instares (Fig. 1).

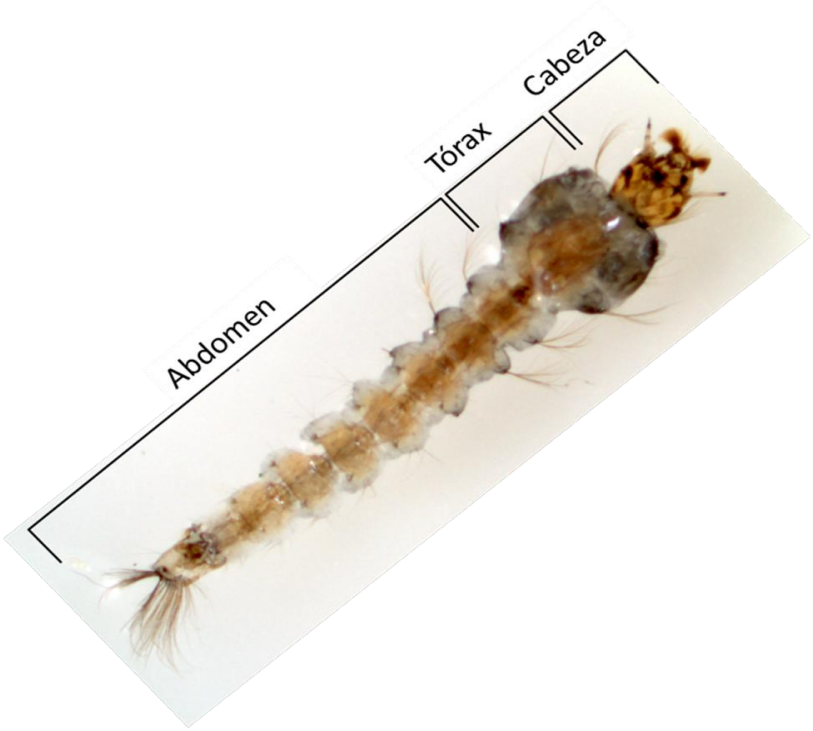


Figura 5. Anatomía de las larvas de *Anopheles*

Dos características principales distinguen las larvas de anofelinos de las de culícidos (Fig. 6):

- Las larvas de culícidos (*Culex* y *Aedes*) tienen tubos sifón para respirar y suspenderse de la superficie del agua.
- Las larvas de anofelinos no poseen sifón y reposan en posición paralela a la superficie del agua. En lugar de un sifón respiran a través de pequeños orificios llamados espiráculos.

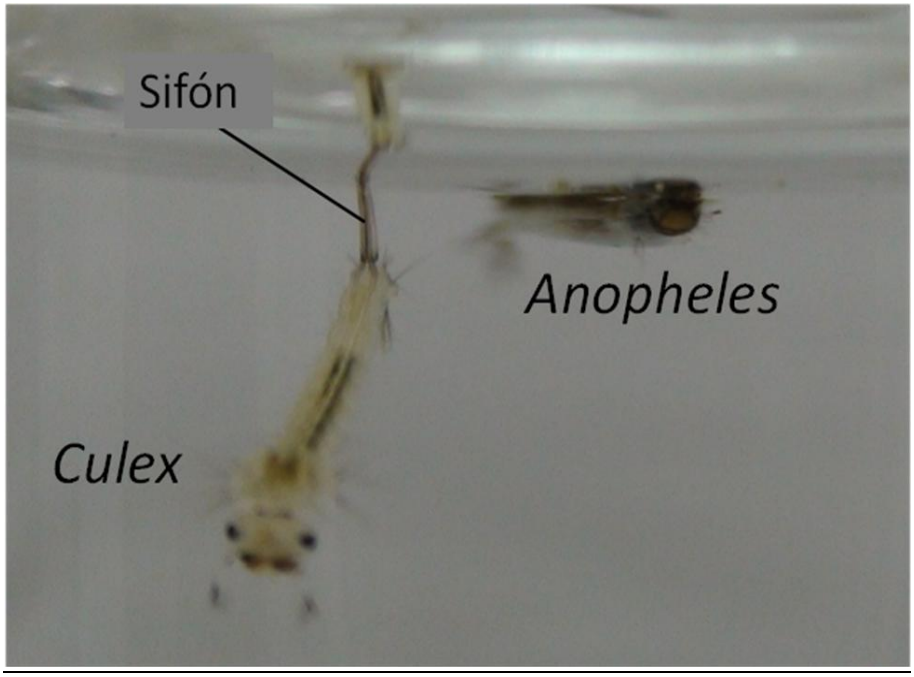


Figura 6. Diferencias entre las larvas de anofelinos y culícidos

3.3 La pupa

La pupa del mosquito tiene la forma de una coma (Fig. 7). Reposan justo en la superficie del agua y nadan rápidamente cuando se les molesta. Es muy difícil distinguir entre pupas de anofelinos y culícidos, ya que las diferencias entre ellas son más sutiles.

Figura 7. Pupa de *Anopheles*

3.4 ¿Cómo distinguir un adulto de anofelinos y culícido?

El cuerpo del mosquito adulto se divide en cabeza, tórax y abdomen (Fig. 8). Los principales componentes de la cabeza incluyen dos grandes ojos compuestos, dos antenas, dos palpos maxilares y los probóscis, que está adaptada para perforar y succionar. En el tórax, hay tres pares de patas (trasera, medias y anteriores), un par de alas y un par de halterios o balancines (alas vestigiales modificadas). El abdomen está compuesto por 10 segmentos y los dos últimos están modificados para formar la genitalia (masculino o femenino).

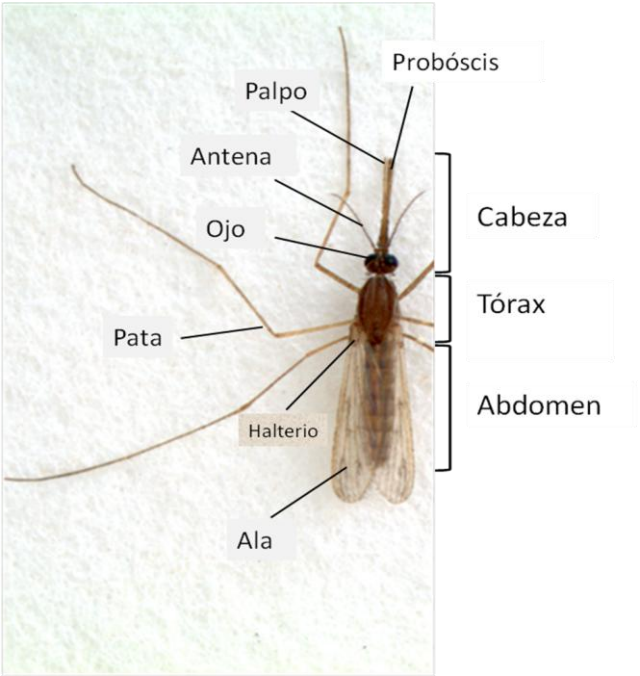


Figura 8. Anatomía de un mosquito adulto

Hay dos características principales que se pueden utilizar para distinguir entre adultos de anofelinos y culícidos: los palpos maxilares (Fig. 9) y la posición de reposo (Fig. 10).

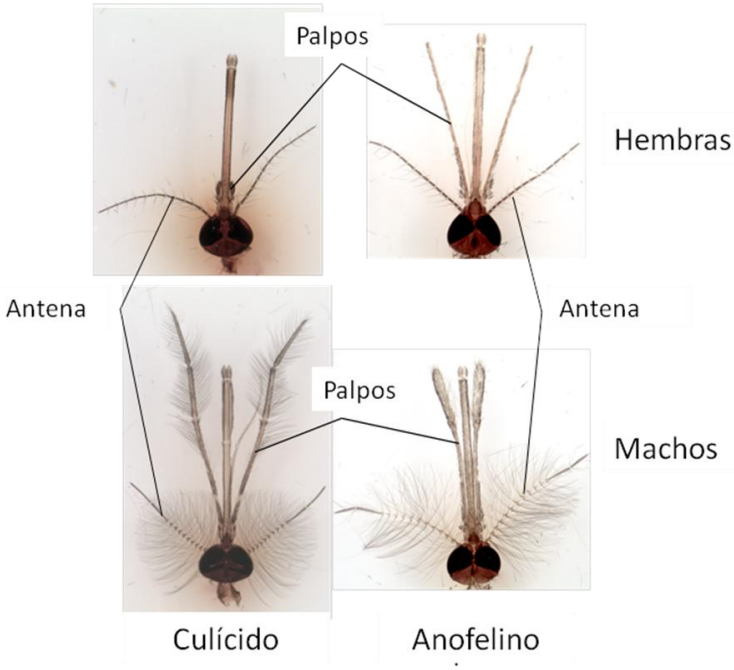


Figura 9. Diferencias en la cabeza de anofelinos machos y hembra y mosquitos culícidos

- Las hembras de las especies del género *Anopheles* tienen palpos maxilares que son tan largos como la probóscide. Las hembras de los culícidos tienen palpos mucho más cortos que la probóscide.
- La punta de los palpos del macho de *Anopheles* están ensanchados en el apice y la de los culícidos no.
- El dimorfismo sexual de la antenna es común a ambos anofelinos y culícidos. Los machos tiene antenas tupidas (plumosas) mientras que las hembras tienen antenas simples (pilosa) (Fig. 9).
- Los mosquitos *Anopheles* adultos tienden a reposar en un ángulo de entre 50° y 90° con respecto a la superficie. Los culícidos tienden a reposar en forma paralela a la superficie (Fig. 10).

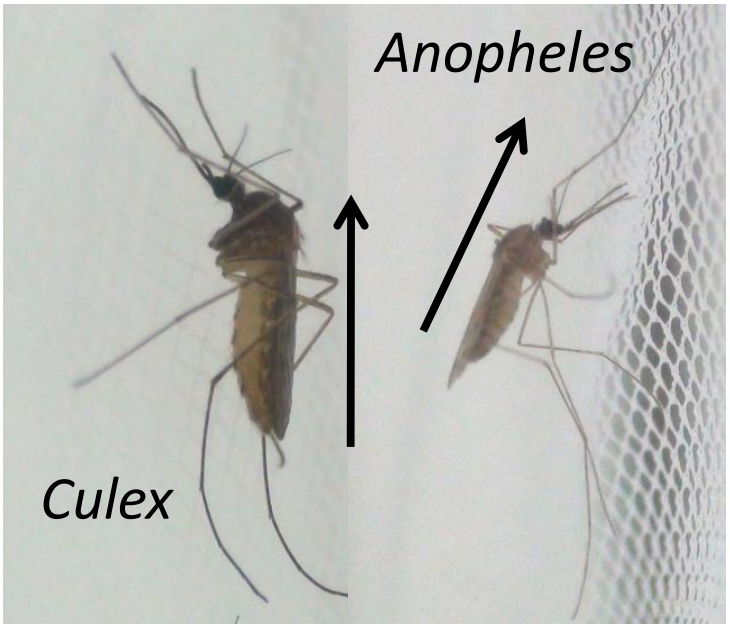


Figura 10. Posición de reposo de mosquitos adultos, culícidos y anofelinos

3.5 Métodos para la identificación de especies de mosquitos

Aparte de las diferencias mencionadas previamente entre anofelinos y culícidos, también es importante distinguir entre las diferentes especies de anofelinos. Se pueden aplicar varios métodos para la identificación de las especies de *Anopheles*. Estos incluyen:

- **Métodos morfológicos** utilizando claves taxonómicas. Algunas de las principales características morfológicas utilizadas en la identificación de mosquitos se encuentran en los palpos, probóscide, patas, alas y tórax. Están disponibles claves taxonómicas para la identificación de especies locales de vectores de malaria y estas claves puede variar según la zona geográfica y las especies de vectores presentes.

- **Cytotaxonomia.** Estos métodos utilizan diferencias especie-especificas en los cromosomas. Estas técnicas sólo se pueden aplicar en ciertas etapas del ciclo de vida y sexo del mosquito, cuando los cromosomas politécnicos o "gigantes" están visibles para su observación bajo el microscopio.
- **Métodos moleculares.** Estos métodos consisten en el análisis de las diferencias especie-especificas a nivel del ADN. Dado que el ADN no cambia durante el ciclo de vida del mosquito, estos métodos se pueden aplicar en cualquier etadio de la vida (inmaduro o adulto) del mosquito.

Los métodos de identificación cytotaxonómicos y moleculares se utilizan normalmente para identificar grupos de especies que no muestran diferencias morfológicas entre sí, como en los complejos de especies crípticas (véase la Unidad 4). Estos métodos no se mostrarán en este curso.

Unidad 4
Diversidad de los Vectores de la Malaria

Objetivos de aprendizaje

Es importante conocer los vectores locales de la malaria para comprender la transmisión y desarrollar estrategias efectivas de control. Esta unidad ayudará a entender:

- **Que la transmisión de la malaria, en muchos casos, es mantenida por varias especies de vectores que coexisten en la misma zona o región.**
- **Las diferentes especies muestran comportamientos diferentes, que pueden afectar la transmisión y el control de la malaria.**

Los anofelinos comprenden aproximadamente 480 especies, de las cuales sólo alrededor de 80 son consideradas vectores de la malaria. Con la excepción de la Antártida, hay vectores de la malaria en todos los continentes del mundo. Más importante aún, varias especies de vectores pueden concurrir en la misma zona y al mismo tiempo (especies simpátricas).

Debido a las diferencias en la ecología y comportamiento, las especies simpátricas pueden formar sistemas vectoriales complejos. Por ejemplo, cuando una especie de vector que busca criaderos semi-permanentes concurre en la misma zona con una especie que selecciona charcos temporales, representa una dificultad para el control vectorial larvario. De manera similar, la ocurrencia simpátrica de una especie endofágica con una exofágica representa un reto adicional para la efectividad de las medidas de control vectorial intradomiciliario tales como los mosquiteros insecticidas de larga duración (LLIN).

Es esencial la identificación correcta de los vectores para la implementación exitosa de cualquier estrategia de control de vectores.

4.1 Complejos de especies crípticas

Los anofelinos comprenden varias especies que morfológicamente son iguales, pero tienen diferente composición genética. Estas especies se llaman especies gemelas o crípticas y en conjunto se conocen como un "complejo" o "grupo". A pesar de ser morfológicamente idénticas, las especies crípticas están aisladas reproductivamente. Esto resulta en la acumulación de diferencias genéticas que a menudo conduce a diferencias en la bio-ecología y comportamiento. Estas diferencias pueden resultar en especies crípticas de un complejo que tienen diferente importancia médica y que también puede tener importantes implicaciones en el control vectorial.

Dependiendo de la región geográfica, la composición de las especies de *Anopheles* varía, y por lo tanto los vectores responsables de la transmisión de la malaria también varían de una región a otra. En las siguientes secciones, se dará una descripción breve de algunos de los principales vectores de malaria humana en África, América y Asia. Las descripciones de las especies se basaron en los trabajos de Service y Townson (2002), Manguin *et al*. (2008), Hay *et al.* (2010) y Sinka *et al.* (2010a, b). Se alienta a los estudiantes a consultar estas referencias para obtener una visión más completa y detallada de la diversidad de especies de vectores de malaria en las diferentes regiones geográficas del mundo.

4.2 Vectores de Malaria en las Américas

Entre los principales mosquitos vectores responsables de la transmisión de la malaria en las Américas se encuentran las siguientes especies:

Anopheles albimanus

Esta especie es un vector importante de la malaria en México, América Central y en la parte noroeste de América del Sur (Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela). Los hábitats larvarios típicos son sitios abiertos, iluminados por el sol, ya sean naturales o hechos por el hombre con agua fresca o salobre, que normalmente tiene vegetación flotante o emergente. Esta especie pica tanto en el intradomicilio como en el peridomicilio y es principalmente exofílica. Tiene una tendencia a la zoofilia pero esto depende en gran medida de la ubicación geográfica y la disponibilidad de hospederos.

Complejo de Anopheles albitarsis

El complejo de *Anopheles albitarsis* comprende cuatro especies: *Anopheles albitarsis* A y B, *Anopheles marajoara* y *Anopheles deaneorum*. Las larvas crecen en pozas grandes e iluminadas por el sol, estanques, arrozales y marismas de agua dulce y clara y con algas filamentosas. Los adultos son exofílico y pican fácilmente a los seres humanos y a los animales domésticos, en el intra y peridomicilio. Este complejo se encuentra en casi todo el norte, este y partes centrales de América del Sur.

Anopheles darlingi

Aunque esta especie está muy extendida, es el principal vector de la malaria en la región amazónica. Su distribución se extiende desde el norte del continente (Colombia, Guyana Francesa, Guyana, Suriname, Venezuela y el norte de Perú) hacia el este de Brasil y sur a Paraguay y norte de Argentina. Es un mosquito fluvial adaptado a zonas rurales y boscosas. Los criaderos característicos son los bordes sombreados de arroyos con corriente lenta con agua clara y vegetación sumergida, pero también puede encontrarse en estanques de agua dulce, pantanos, lagunas y arrozales. *Anopheles darlingi* tienden a reposar en el peridomicilio y su grado de endofagia así como antropofilia es muy variable. En algunas ocasiones, esta variación ha sido asociada con cambios en el comportamiento de la población humana.

Complejo de Anopheles nuneztovari

Este complejo incluye dos o posiblemente tres especies crípticas (A y B/C) identificadas mediante diferencias cromosómicas, pero el estado taxonómico de este complejo no esta del todo claro todavía. El complejo se distribuye a lo largo de la mayor parte de las regiones del norte y centro de América del Sur, y está ausente en las zonas costeras del este y del oeste del continente. Los hábitats larvarios suelen ser estanques soleados de aguas turbias, marcas de neumáticos, pisadas de animales y las charcos pequeñas de carácter temporal o semipermanente. Los adultos son principalmente exofílicos, exofágicos y zoofílicos, pero pueden picar a los humanos en el peridomicilio. Las especies crípticas se diferencias en el ciclo de picadura, con la especie A que pica temprano (pico de picada: 6-8pm) y la especie B/C picando más tarde (pico de picada: 10pm-2am).

Complejo de Anopheles pseudopunctipennis

Este complejo está compuesto de al menos dos especies crípticas y tiene una amplia distribución desde el sur de EE.UU., a través de América Central, la región oriental del continente sudamericano y hasta el norte de Argentina. Puede sobrevivir a altitudes elevadas (hasta 3000m). Las larvas se encuentran principalmente en los bordes iluminados por el sol de las corrientes superficiales de agua dulce de ríos y estanques donde la abundancia de algas filamentosas les provee protección. Esta especie puede ser un vector importante durante la estación seca, cuando los niveles del río son bajos y se forman lagunas pequeñas. Los adultos muestran un marcado comportamiento de picada oportunista, alimentándose tanto de humanos como de animales, en el intradomicilio y peridomicilio. Se consideran principalmente exofílicos pero varios estudios sugieren que una proporción de mosquitos de esta especie reposan dentro de la vivienda después de la ingesta sanguínea.

4.3 Vectores de Malaria en Africa

Los principales vectores de malaria en África son miembros del complejo de *Anopheles gambiae* y del grupo de *Anopheles funestus*. Dada la gran importancia de la malaria en el continente africano, estos son probablemente las especies mejor estudiadas en el mundo.

Complejo de Anopheles gambiae

Este complejo cuenta con 7 especies crípticas que se pueden agrupar en especies de agua dulce: *Anopheles gambiae* sensu stricto, *Anopheles arabiensis*, *Anopheles bwambae* y *Anopheles quadriannulatus* A y B, y las especies de agua salobre: *Anopheles melas* y *Anopheles merus*.

- ***Anopheles gambiae* s.s. y *Anopheles arabiensis***

  Anopheles gambiae s.s. *y Anopheles arabiensis* son los principales vectores de malaria del complejo y tienen la distribución geográfica más amplia. *Anopheles gambiae* s.s. predomina en los bosques húmedos y zonas de sabana, mientras que *An. arabiensis* tiene más éxito en ambientes áridos. Ambas especies buscan criaderos temporales, generalmente pequeños,

poco profundos, expuestos al sol y sin vegetación. Ambas especies suelen ocupar el mismo hábitat larvario. *Anopheles gambiae* s.s. se alimenta principalmente en seres humanos (antropofílico). *An. arabiensis* es generalmente más zoofílico. Sin embargo, las especies muestran una gran variabilidad en la preferencia de hospederos y comportamiento de picadura a lo largo de África. Con pocas excepciones, *Anopheles gambiae* s.s. es generalmente endofágico y endofílico. *Anopheles arabiensis* muestra una mayor variación con respecto a estos comportamientos.

- ***Anopheles quadriannulatus* A y B**

  Anopheles quadriannulatus A es estrictamente zoofílico y por lo tanto es el único miembro del complejo de *An. gambiae* que no transmite la malaria. Los lugares de ovipostura son similares a los de las especies de agua dulce del complejo. En 1998, se describió una nueva especie a partir de muestras colectadas en Etiopía y denominada provisionalmente como la especie *Anopheles quadriannulatus* B. Se sabe muy poco acerca de su biología.

- ***Anopheles bwambae***

  Los criaderos de esta especie derivan de las aguas termales a temperaturas de 33-36°C y con un pH ligeramente superior a los criaderos de agua dulce preferidos por las larvas de *An. gambiae* s.s. La distribución se limita al bosque Semliki de Uganda. En el bosque prevalecen perennemente altas densidades, donde pican al hombre principalmente afuera del domicilio. Aunque la especie es capaz de transmitir la malaria, no es un vector muy importante debido a su distribución local.

- ***Anopheles melas* y *Anopheles merus***

  Estas son las dos especies del complejo adaptadas a agua salobres. Ambas ocupan hábitats costeros con cinturones de manglares (p. ej. en estuarios, lagunas y pantanos). Sin embargo, difieren en su distribución geográfica. *Anopheles melas* existe en la costa oeste de África, mientras que *An. merus* se limita a la costa del este de África. Ambas especies se consideran vectores secundarios de la malaria.

Grupo de Anopheles funestus

El grupo de *Anopheles funestus* está integrado por nueve especies crípticas o especies estrechamente relacionadas. De éstas, sólo la especie nominal, *Anopheles funestus* s.s es vector de la malaria a lo largo de África. Ninguno de los siguientes miembros del grupo son vectores de la malaria: *Anopheles rivulorum* (África occidental y oriental), *Anopheles leesoni* (África occidental y oriental), *Anopheles confusus* (África Oriental), *Anopheles parensis* (África Oriental), *Anopheles vaneedeni* (norte de Sudáfrica), *Anopheles fuscivenosus* (Zimbabwe), *Anopheles aruni* (Zanzíbar) y *Anopheles brucei* (Nigeria). Estas especies son principalmente zoofílicas.

- ***Anopheles funestus s.s.***

  Es considerado el segundo vector más importante de la malaria en África, después de *An. gambiae* s.s. Al igual que esta última especie, tiene una amplia distribución en todo el continente africano al sur del desierto del Sahara. Los criaderos de *Anopheles funestus* s.s. son por lo general masas de agua relativamente grandes, permanentes y semi-permanentes con vegetación (p. ej. pantanos, lagunas, orillas de los lagos). Es una especie muy antropofílica que pica principalmente en el intradomicilio (endofágica).

4.4 Vectores de malaria en Asia

Algunos ejemplos de los principales vectores de malaria de la región del sudeste asiático son:

Complejo de Anopheles culicifacies

El complejo de *An. culicifacies* tiene una amplia distribución en todo el continente asiático, desde Etiopía y la costa sur de la Península Arábiga hacia el este a través del subcontinente Indio y hacia el sur de China, Vietnam, Laos, Camboya, Tailandia y Myanmar. En este complejo se han descrito cinco especies cromosómicamente reconocidas (A, B, C, D y E). De estas, la especie E del complejo se considera el vector más importante de la malaria, particularmente en la India. La especie B no es vector. Las larvas ocupan una gran variedad de criaderos: agua limpia y contaminada, expuestos al sol o de sombra. La especie E es altamente endofílica y antropofílica, mientras que las otras especies son más zoofílicas, especialmente la especies B. Pican tanto en el intra como el peridomicilio.

Complejo de Anopheles dirus

Este complejo incluye siete especies crípticas: Anopheles dirus, Anopheles cracens, Anopheles scanloni, Anopheles baimaii, Anopheles elegans, Anopheles nemophilous y Anopheles takasagoensis. Con la excepción de An. elegans (que se encuentra en los bosques montañosos del suroeste de la India), An. baimaii (del noroeste de la India hasta el sur de Myanmar y Tailandia occidental) y An. takasagoensis (Taiwán), las especies restantes de este complejo se distribuyen a lo largo de las penínsulas Indochina y Malasia. Los criaderos de las larvas son usualmente charcos temporales pequeños y sombreados, y pisadas de animales, dentro o en los márgenes de los bosques. El complejo incluye tanto vectores principales de la malaria en zonas de selva tropical, bosque cultivado y márgenes de los bosques, como especies de poca o ninguna importancia como vectores de la malaria. Anopheles dirus y An. baimaii son los principales vectores de malaria de bosque, siendo principalmente exofágicos y antropofílicos. Ellos tienden a reposar afuera del domicilio después de la ingesta sanguínea. Anopheles nemophilous y An. takasagoensis son especies zoofílicas y por tanto se considera que no son vectores.

Grupo de Anopheles maculatus

El grupo de An. maculatus incluye 8 especies crípticas, 6 de las cuales forman dos subgrupos: el subgrupo maculatus (Anopheles dispar, Anopheles greeni, Anopheles dravidicus, y Anopheles maculatus), el subgrupo sawadwongporni (Anopheles notanandai y Anopheles sawadwongporni). Dos especies adicionales no están asignadas a un subgrupo: Anopheles pseudowillmori y Anopheles willmori. Los miembros del grupo de An. maculatus se distribuyen a lo largo de Asia, desde la India hasta Indonesia y Filipinas. Ha sido difícil elaborar una definición precisa de la importancia relativa de cada especie en la transmisión de la malaria debido a los problemas de errores en la identificación.

- ***Anopheles maculatus***

  La especie nominal del grupo tiene la distribución más amplia, que va desde el oeste de Afganistán y Pakistán hacia el este, al sur de China y Taiwán y hacia el sur de las penínsulas de Indochina y Malasia, y las islas de Indonesia (Sumatra y Java). Se considera un importante vector de la malaria en el este de India, el sur de Tailandia, Malasia y Java. Esta especie se encuentra principalmente en o cerca de zonas montañosas, donde utiliza una gran variedad de hábitats larvarios, incluida el agua de filtraciones, canales, arrozales, lagunas, márgenes de arroyos, pantanos y lagos. Los adultos pican animales y seres humanos, tanto en el intradomicilio como en el peridomicilio, y reposan en el peridomicilio después de la ingesta de sangre.

Complejo de Anopheles minimus

Este complejo está formado por al menos tres especies crípticas: *Anopheles minimus* especie A, *Anopheles harrisoni* (especie C) y *Anopheles minimus* (especie E). La distribución del complejo se extiende desde el noroeste de la India hacia el este de Bangladesh, Vietnam, Laos, Camboya, Tailandia, Myanmar y China del sur, y hacia el sur de Malasia y las islas de Indonesia. *An. minimus* y *An. harrisoni* son responsables de la transmisión de la malaria en las regiones montañosas a altitudes entre 200-1000m. Se encuentran en zonas boscosas donde los criaderos de las larvas están en ríos de aguas claras y corriente lenta con márgenes herbosos, pero también pueden sacar provecho de tanques de agua, arrozales y excavaciones. *Anopheles minimus* se considera anthropofílico, endofágico y endofílico, pero muestra una gran variación en el comportamiento trófico. En comparación con sus especies crípticas, *An. harrisoni* parece ser más zoofílico y exofágico.

Unidad 5
Colecta de Mosquitos (Larvas)

Objetivos de aprendizaje

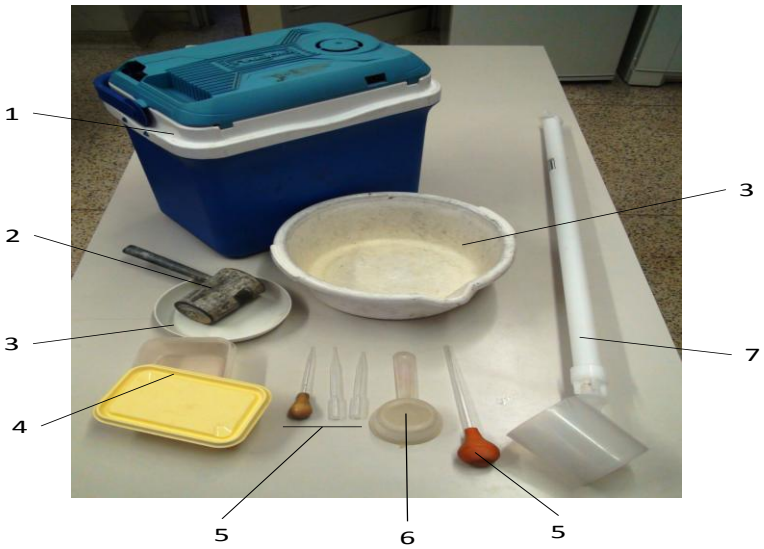
Esta unidad proporcionará conocimientos básicos sobre cómo:

- **Muestrear larvas y pupas de mosquitos vectores de hábitats naturales.**

Las distintas especies de mosquitos vectores muestran diferentes preferencias de hábitat larvarios. Los criaderos pueden ser muy diversos, e incluyen estanques, lagos, pantanos, marismas, arrozales, charcos de lluvia pequeños, pisadas de animales, rodada de neumáticos, agujeros de árbol, axilas de plantas y márgenes de arroyos. Es importante conocer las preferencias de criaderos de los vectores de la malaria locales con el fin de poner en práctica medidas eficaces de control. La colecta de larvas de mosquitos es una actividad fundamental en la vigilancia de vectores. La información obtenida a partir de las colectas larvarias incluye:

- Determinación de las especies de vectores presentes en el área de estudio.
- Identificación de criaderos activos preferidos para cada especie.
- Determinación de la distribución geográfica de los vectores.
- Evaluación de las medidas anti-larvarias en la densidad de larvas.
- Colecta de muestras para la crianza de adultos en el insectario.

El equipo necesario para realizar las colectar de larvas depende del tipo de método a utilizar. El equipo y materiales más comunes incluyen (Fig. 11): cucharones, redes (redes para mayor concentración de larvas), cuadrantes, bandejas, coladores, cucharones pequeños para depósitos de agua pequeños, pipetas, recipientes con tapadera (para mantener las muestras) y material para el registro de los datos (marcadores a prueba de agua, cintas adhesivas, formularios de registro, ver sección 5.2). También son útiles un GPS, termómetro para agua y medidor de pH para localizar y caracterizar los criaderos. Los técnicos deben usar botas de hule/goma y guantes protectores durante la colecta.



1.hielera, 2. cucharón pequeño, 3. bandejas, 4.recipiente con tapadera, 5. pipetas, 6.colador, 7. cucharón

Figura 11. Principales materials para la colecta de larvas

5.1 Métodos de muestreo

Están disponibles varios métodos de muestreo de larvas. El uso de cada método de muestreo depende de la naturaleza y el tipo de criadero, y se describen en los párrafos siguientes.

El técnico debe acercarse al criadero con cuidado, ya que cualquier movimiento hará que las larvas y pupas naden hacia abajo y queden inaccesibles. Es importante que el técnico no proyecte sombra sobre el agua. Si las larvas y pupas se mueven, puede ser necesario ponerse de pie, sin moverse hasta que vuelvan a nadar hacia arriba.

Capturas con cuchararon

- Este método se utiliza normalmente para muestrear en cuerpos de agua relativamente grandes, tales como pantanos, zanjas, arroyos y arrozales (Fig. 12).
- El cucharón se sumerge suavemente en un ángulo de aproximadamente 45° para reducir al mínimo la alteración del ambiente acuático, o bien suavemente tocar la superficie del agua permitiendo que el agua y larvas cercanas fluyan dentro del cucharón. Se debe tener cuidado de no derramar agua al levantar el cucharón.
- Las larvas deben recolectarse del cucharón con una pipeta o gotero y transferirlas a un frasco etiquetado apropiadamente.
- Cuando el criadero tiene vegetación emergente, el técnico debe mover el agua y hacer que las larvas naden hacia abajo, a continuación, eliminar algo de vegetación para crear un espacio limpio para realizar el muestreo, y esperar unos minutos antes de reanudar el muestreo como se describió previamente.

- Debe anotarse el número de cucharonadas realizados en cada criadero para calcular la densidad larvaria. Anote también la cantidad de tiempo dedicado a la colecta.

Figura 12. Colecta de larvas por sumersión

Capturas con red

- Este método consiste en usar una red de malla fina ajustada a un mango, con una botella de plástico o tubo amarrada a un extremo. Normalmente se utiliza para recoger larvas y pupas en cuerpos de agua más grandes, tales como estanques y pequeños lagos.
- La red debe mantenerse a un ángulo de 45° con respecto a la superficie del agua y luego arrastrarla por la superficie. Las larvas y pupas se recogen en la botella de plástico del extremo.

Capturas con pipeta

- Este método se utiliza para colectar las larvas en los criaderos pequeñas tales como pequeños charcos, pisadas de animales, contenedores, axilas de plantas y agujeros de árbol (Fig. 13).

Figura 13. Colecta de larvas utilizando una pipeta

5.2 Registros de la colecta

Cuando sea posible, utilice un GPS u otros medios manuales (p. ej. croquis) para localizar y númerar los criaderos muestreados. Las características del criadero deben anotarse, es decir:

- Ubicación geográfica (coordenadas GPS, nombre de la localidad).
- Tipo de criadero (permanente, semi-permanente, temporal).
- Origen del agua (p.ej. lluvia, río, laguna, hecho por el hombre).
- Naturaleza de la fuente de agua (p. ej. charco, arrozal, zanja).
- Exposición a la luz solar (sombreado, expuesto al sol).
- Presencia de vegetación (emergente, sumergida, flotante).
- Características del agua (p. ej. clara, turbia, contaminada, oscura, temperatura, pH)

Los datos registrados también deben incluir el número de cucharonadas realizadas, el tiempo de duración del muestreo y la fecha. Todos los frascos/botellas que contienen las larvas de un criadero deben tener una etiqueta con el número del criadero, similar al que fue anotado en el cuaderno. En el Anexo II se encuentra un ejemplo de un formulario de registro de datos para las colectas de.

5.3 Transporte de larvas vivas

Todos los especímenes colectados de un criadero particular, deben guardarse en una botella o frasco y etiquetarse con lápiz. La etiqueta se coloca en el interior del frasco. La etiqueta debe incluir identificadores críticos, tales como fecha, lugar, iniciales del técnico recolector, número de muestra. Esta información tambien debe estar en el formulario de datos. Además, el lado del frasco también se puede marcar con un marcador de tinta permanente.

- Para evitar el movimiento excesivo o la exposición al calor extremo, los frascos/botellas deben ser transportados en un contenedor apropiado, tal como una hielera o caja térmica con hielo artificial o baterias frias.
- Cuando transporte las larvas por distancias grandes, no tape el recipiente. Si el recipiente está tapado entonces ábralo a intervalos (p. ej. cada 2 horas). Asegúrese de que quede un espacio de 1-2 cm entre el frasco o botella y la tapadera para dejar aire para que las larvas y pupas respiren.
- En algunas ocasiones, lleve agua del criadero en otro recipiente, sobre todo si las larvas se van a utilizar para hacer pruebas de susceptibilidad (ya que se necesita criarlas hasta adultos).

5.4 Preservación de muestras

En el laboratorio, las larvas se identifican, cuentan y preservan para su posterior análisis. Las larvas pueden matarse utilizando calor (colocándola en agua caliente a 50°C - 70°C) o por inmersión en etanol absoluto. Luego las larvas deben preservarse en etanol 70-80% o etanol al 80% + 2% de glicerina. Si se utiliza agua caliente, saque el agua del frasco, teniendo cuidado de que las larvas, que ahora están muertas, permanezcan en el mismo. A continuación, añada el etanol al frasco y ciérrelo.

5.5 Estimación de parámetros larvarios

Las encuestas larvarias proporcionan varios elementos de información sobre los aspectos bio-ecológicos de las especies de mosquitos. También se utilizan para evaluar el impacto de las medidas de control vectorial, mediante la comparación de las densidades larvarias y la productividad de los criaderos antes y después de realizada la intervención.

La estimación de la densidad larvaria es compleja, ya que requiere de la estandarización del esfuerzo de muestreo. Por ejemplo, esto puede implicar realizar el mismo número de cucharonadas en cada criadero y el uso de cucharones del mismo tamaño. Esto puede ser difícil en el campo, ya que los criaderos varian mucho en tamaño y forma. Para superar estas limitaciones, será necesario contar con estrategias de muestro y dispositivos más elaborados

para la estimación de las densidades de larvas. Cuando se cumplen las condiciones correctas de muestreo, un índice simple para la densidad larvaria es el índice larvario (BI)[3]:

$$BI = TLP \div ND \times BP$$

Donde:

TLP = número total de larvas y pupas colectadas
ND = número total de cucharonadas realizadas
BP = número de criaderos muestreados

Hay otros parámetros disponibles para estimar la utilización de criaderos por parte de los mosquitos. A continuación se dan tres ejemplos[4]:

Índice larvario General (GBI)

Este índice da una medida de la proporción de los cuerpos de agua que los mosquitos utilizan como criadero en una localidad dada. Se calcula dividiendo el número de criaderos con culícidos inmaduros (larvas y pupas) por el número total de criaderos.

Índice larvario absoluto (ABI)

Esta es la proporción relativa de criaderos ocupados por una especie de vector en una localidad. El cálculo de este índice requiere que las larvas sean identificadas a nivel de especie. Se obtiene dividiendo el número de criaderos positivos para esta especie dentro del número total de criaderos encuestados.

Índice larvario relativo (RBI)

Este parámetro indica la abundancia de los criaderos de una especie dada en relación con el número de cuerpos de agua donde los mosquitos se crían en una localidad. Se calcula dividiendo el número de criaderos positivos para esta especie por el número total de criaderos positivos para mosquitos.

---

[3] Belkin J.N. (1954). Simple larval and adult mosquito indexes for routine mosquito control operations. *Mosquito News* 14:127-131.
[4] Ribeiro H. *et al.* (1980). *Os mosquitos de cabo verde (Diptera: Culicidae), sistemática, distribuição, bioecologia e importância médica.* Junta de Investigações Científicas do Ultramar, Lisboa. 141p.

Unidad 6
Colecta de Mosquitos (Adultos)

Objetivos de Aprendizaje

Esta unidad proporcionará información básica en:

- **Métodos utilizados para el muestreo de mosquitos adultos.**

En cualquier localidad, las poblaciones de mosquitos están constituidas por especies diferentes, las cuales muestran diferentes comportamientos y estados fisiológicos (p.ej. ingurgitados, grávidas y recién emergidos). También pueden mostrar diferentes comportamientos dependiendo del estado fisiológico del mosquito vector. Esto incluye la búsqueda del hospedero, reposo para la maduración de los huevos y comportamientos de salida de las casas en la búsqueda de un sitio donde realizar la postura de sus huevos (sitio de oviposición). Se han identificado varios métodos de muestreo para tomar en consideración estas diferencias dentro de las poblaciones.

6.1 Métodos de colecta de mosquitos adultos

Antes de salir –al campo, es necesario asegurarse que todo el equipo necesario para las colectas de los mosquitos adultos esté preparado. Se realizará una demostración en clase sobre cómo preparar los materiales utilizados en cada método de colecta y cómo manipularlos de forma correcta. Los estudiantes tendrán la oportunidad de practicar antes de las sesiones de trabajo de campo.

Captura por atracción humana (HLC)

Este método estandariza un procedimiento para evaluar las interacciones entre el vector y el hospedero humano. El número de vectores picando a seres humanos es un parámetro importante para estimar el nivel de transmisión de la malaria, debido a que ayuda a responder lo siguiente:

- Cuáles anofelinos pican al humano.
- Cuáles especies son vectores de la malaria.
- Qué tan seguido es picada una persona por un vector.
- El patrón de picadura durante la noche.
- Si los vectores pican adentro o afuera de la casa.

Materiales esenciales (Fig. 14): Aspiradores bucales/mecánicos, vasos de cartón o plástico con malla cubriendo la abertura, hules, linternas y baterías de repuesto, tubos de ensayo (110mm x 10mm o 60mm x 10mm) con tapones de hule (como alternativa a los aspiradores y los vasos), algodón, malla para mosquitos, solución azucarada al 10%, lápiz o marcador permanente, cinta adhesiva.

1. Aspirador bucal, 2. Aspirador mecánico, 3. Linterna, 4. Baterías de repuesto, 5.cinta adhesiva, 6. Hules, 7. Vasos con malla, 8. Algodón.

Figura 14. Principales materiales para la colecta de mosquitos

Las capturas de mosquitos por atracción humana requieren de un equipo de dos o más personas sentadas en el intradomicilio o peridomicilio, y colectando los mosquitos sobre ellos mismos a medida que intentan picarlos (Fig. 15). Como forma alternativa, una pareja de técnicos trabajarán juntos de forma que uno se sentará con las piernas expuestas hasta la rodilla, mientras que el otro succiona con un aspirador los mosquitos que aterrizan sobre su compañero.

Figura 15. Captura de mosquitos por atracción humana

Este tipo de colectas se realizan generalmente durante la tarde/noche, siguiendo el ciclo de picadura de los mosquitos *Anopheles*. Cuando sea posible, los técnicos a cargo de las colectas se colocan afuera (peridomiciliar) y adentro de las casas (intradomiciliar). Las colectas se realizan a lo largo de la noche o parte de ella, dependiendo del objetivo del estudio. Las colectas intradomiciliares se realizan de 6 pm a 6 am, mientras que las capturas peridomiciliares puede realizarse de 6 pm a 10 pm, asumiendo que las personas se van a dormir a las 10 pm y por lo tanto después de esa hora no están en riesgo de ser picados afuera de la casa. Sin embargo, en comunidades donde la gente generalmente duerme afuera, ya sea por lo caliente del clima u otras razones, sería razonable realizar la colecta peridomiciliaria también de las 6 pm a las 6 am.

Los técnicos exponen las piernas hasta la rodilla para servir como atrayente humano y se sientan lo más quietos que sea posible. Cuando el técnico siente el mosquito aterrizando, se enciende la linterna para ver al mosquito, el cual se captura con el aspirador y se coloca dentro del vaso cubierto con la malla. No es necesario dejar que el mosquito pique o se alimente, ya que se capturan tan pronto como aterrizan sobre el técnico. Por lo tanto, la medida se relaciona más con el aterrizar que con el alimentar.

Se debe utilizar un vaso diferente para cada hora de colecta y se debe rotular como corresponde. Esto permitirá contar cuántos mosquitos se capturaron a qué hora de la noche. A la mañana siguiente los mosquitos deberán de separarse por especie. - Las colectas son separadas por especie, por casa, por día y por hora de colecta.

Las limitaciones de las colectas con atrayente humano incluyen la variación en la atracción del hospedero hacia los mosquitos y las consideraciones éticas relacionadas con la posible infección accidental con malaria. Para superar la primera limitación, los técnicos deben intercambiar sitios cada hora o rotarse por tandas. Con respecto a la segunda limitación, los técnicos están generalmente en tratamiento profiláctico contra la malaria para prevenir la enfermedad. También, debe haber acceso rápido a tratamiento con medicamentos efectivos contra la malaria, en caso que alguno de los técnicos se enferme.

Capturas de barrido con piretro (PSC)

Las capturas de barrido con piretro se utilizan para estimar las cantidades de mosquitos que reposan dentro de las habitaciones donde la gente durmió la noche anterior. Estas colectas se realizan generalmente durante la mañana. Las muestras que se obtienen de la captura - permiten:

- Determinar la condición fisiológica del abdomen de los mosquitos. El estado de su abdomen proporciona una indicación del comportamiento en reposo y de alimentación. Los vectores puede estar sin alimentar, llenos de sangre, parcialmente grávidos o grávidos, dependiendo de qué tanto hayan estado en la habitación.
- Determinar la densidad estacional de mosquitos vectores en la habitación.
- Como una medida indirecta de la densidad de picadura, en sitios donde el vector es altamente endofílico (reposo intradomiciliar).

Materiales esenciales: Linterna y baterías de repuesto, sábanas blancas de algodón (2 m X 1 m, 2 m X 2 m, 2 m X 3 m), rociadores manuales (del tipo doble acción), insecticida (piretro 0.2-0.3% en kerosene), pinzas, algodón, papel filtro, etiquetas y recipientes para transportar las muestras.

Antes de rociar, se deben sacar todos los animales, tapar toda la comida y quitar todos los muebles pequeños de la habitación donde se va a realizar la colecta. Se extienden sábanas blancas de forma que cubran completamente el suelo y las superficies planas (asegúrese que la sábana se extiende también debajo de las mesas). Todas las ventanas y puertas deben estar cerradas.

El operador esparce cuidadosamente el insecticida, en el sentido de las manecillas del reloj, hacia el techo, hasta que la habitación se llene de un aerosol fino. El operador sale de la habitación rápidamente, cierra la puerta y espera durante 10 minutos.

Se levantan las esquinas de la sábana, comenzando desde la entrada, y se quita la sábana. Todos los mosquitos noqueados se colectan a la luz del día con unas pinzas y se colocan en las cajas de Petri rotuladas, sobre una capa de algodón húmedo y papel filtro (Fig. 16).

Los mosquitos colectados en cada vivienda se almacenan en cajas de Petri separadas y rotuladas adecuadamente (e.j. fecha y hora de la colecta, comunidad, número de casa/nombre del jefe del hogar).

Figura 16. Captura de barrido con piretro

Captura en reposo peridomiciliar (ORC)

Este método es utilizado para muestrear mosquitos en reposo fuera de las casas, en sus sitios naturales de reposo (exofágico) (Fig. 17). Debido a que algunos vectores se alimentan adentro y reposan afuera y otros se alimentan afuera y reposan afuera, normalmente la fuente de la ingesta de sangre de los mosquitos que reposan afuera indicará la preferencia por el tipo de hospedero y el comportamiento de alimentación. Los datos de colectas realizadas en el peridomicilio son importantes para evaluar el impacto de las medidas anti-vectoriales y proporcionar información acerca de:

- Las especies que habitualmente reposan en el peridomicilio.
- La proporción de mosquitos que reposan afuera.
- Los cambios estacionales en los hábitats peridomiciliares de reposo.
- Cambios en los números relativos de mosquitos reposando afuera, después de la aplicación de insecticidas en el interior de las casas.

Materiales esenciales: Linterna y baterías de repuesto, aspiradores mecánicos de batería o de mochila, vasos de cartón no encerados, con cubierta de malla para almacenar las muestras colectadas, lápiz o marcador permanente para rotular, y un recipiente para transportar las muestras.

a b

a. En vegetación, con un aspirador de mochila foto: C.A. Sousa), b. En un corral con un aspirador mecánico

Figura 17. Captura de mosquitos en reposo en el peridomicilio

Los técnicos que realizan las capturas deben buscar mosquitos reposando en lugares apropiados del peridomicilio. Estos comúnmente son lugares con sombra y húmedos, como la vegetación circundante, agujeros de árboles, agujeros de cangrejo, o paredes exteriores cerca del techo, así como en refugios de animales domésticos (corrales, establos). Las capturas se realizan durante el día, normalmente en la mañana, pero algunas veces temprano en la tarde, dependiendo de la especie de vector.

Captura en reposo intradomiciliar (IRC)

Las capturas manuales generalmente se realizan utilizando aspiradores mecánicos bucales u operados por batería (Fig. 18). Los mosquitos son aspirados y colectados de los dormitorios y otras paredes y muebles de la casa, con la ayuda de la linterna. Esto proporciona información importante como la siguiente:

- Las especies y proporción de mosquitos que reposan en el intradomicilio
- La densidad de mosquitos que reposan en el intradomicilio, usualmente expresada como el número de mosquitos en reposo por técnico, por hora.
- Cambios estacionales en la densidad de mosquitos en reposo intradomiciliar.
- Cambios en el número relativo de mosquitos reposando en el intradomicilio después de la aplicación de insecticidas adentro de las casas.

Materiales esenciales. Linterna y baterías, vasos de cartón no encerado, aspiradores mecánicos o bucales/tubos de ensayo, algodón, etiquetas, solución azucarada al 10%.

Las capturas generalmente se realizan como primera actividad en la mañana, cuando los ocupantes abandonan la vivienda. Usualmente se mantienen vivos los mosquitos por un período de 24 horas para evaluar cualquier efecto de noqueo de alguna intervención, como el rociamiento residual intradomiciliario, si está implementado.

Figura 18. Captura manual intradomiciliar de mosquitos en reposo

Captura con trampa de salida (ETC)

Este método consiste en fijar trampas en las ventanas de los dormitorios para determinar el movimiento de los mosquitos durante la noche y su comportamiento de reposo (Fig. 19).

Figura 19. Trampa de salida

Materiales esenciales: Linterna y baterías, trampas de salida, vasos de cartón y plástico, aspiradores/tubos de ensayo, pinzas, algodón, papel filtro, etiquetas, solución azucarada al 10%.

Los mosquitos se capturan del interior de las trampas, generalmente en la mañana, y se colocan dentro de los vasos para ser transportados al laboratorio.

En el laboratorio, los mosquitos hembra se disectan para determinar el estado fisiológico del abdomen. Los mosquitos jóvenes no alimentados sugieren que no tuvieron éxito en alimentarse. Los mosquitos ingurgitados sugieren que están saliendo de la habitación para reposar en otro sitio y desarrollar los ovarios. Los mosquitos grávidos sugieren que los ovarios se desarrollaron mientras reposaban en el interior y están saliendo para la postura de los huevos en el exterior.

6.2 Registro de las capturas

Deben describirse las características de cada sitio de colecta, es decir:

- Localidad y ubicación geográfica (coordenadas de GPS, nombre de la localidad)
- Tipo de casa y materiales de construcción.
- Número de dormitorios y habitaciones en la casa.
- Número de personas que durmieron en la casa la noche anterior y sí utilizaron un mosquitero (con o sin insecticida).
- Tipo y características generales de los sitos de reposo en el peridomicilio.

También debe anotarse la información del día y la hora de las capturas. Las muestras de mosquitos deben rotularse de forma que puedan identificarse de acuerdo a la captura a la que pertenecen. En el Anexo II se proporciona un ejemplo de formulario para recopilación de datos.

Existen otros métodos para colectar mosquitos adultos que pueden utilizarse para situaciones particulares. Algunos ejemplos son las trampas de luz, las trampas de tienda, cortinas colombianas, y mosquiteros dobles. Se anima al estudiante a buscar referencias para más información.

6.3 Almacenamiento de las muestras

Dependiendo del tipo de análisis de laboratorio que se vaya a realizar con los mosquitos colectados, se utilizan diferentes métodos de conservación. Estos métodos se revisan en la Unidad 7.

Unidad 7
Preparación y Almacenamiento de Muestras de Mosquitos

Objetivos de aprendizaje

Esta unidad se enfocará en:

- **Las principales técnicas de laboratorio utilizadas para analizar muestras de mosquitos y el propósito de los análisis.**
- **Describir cuales partes del cuerpo de los mosquitos se utilizan en cada técnica y cómo preparar y almacenar muestras de mosquitos.**

Las muestras de mosquitos obtenidas de las colectas de larvas y adultos pueden analizarse utilizando varias técnicas de laboratorio, para obtener información importante respecto de la biología de las especies de mosquitos y su rol como vectores de la malaria. Las muestras de mosquitos generalmente se utilizan para:

- Identificación morfológica de especies y complejos de especies para evaluar las poblaciones de mosquitos vectores.
- Determinación del estado gonotrófico para estudiar el comportamiento de reposo.
- Determinación de la edad fisiológica e inseminación de las hembras para estudiar la longevidad y supervivencia de la población de mosquitos.
- Detección de parásitos de malaria en los mosquitos para determinar la taza de esporozoitos.
- Determinación del origen de la ingesta sanguínea para estudiar la preferencia por el tipo de hospedero.
- Análisis citogenéticos y moleculares para la identificación de especies crípticas.
- Análisis molecular para estudiar genes asociados a resistencia a insecticidas.

7.1 Principales técnicas de laboratorio

Frecuentemente se utilizan las siguientes técnicas de laboratorio para analizar muestras de mosquitos capturados en estado silvestre durante las encuestas entomológicas.

Identificación de especie utilizando características morfológicas

Además de distinguir anofelinos de culícidos, las estructuras morfológicas pueden usarse también para distinguir entre especies de anofelinos y complejos de especies (ver también sección 3.5 de la Unidad 3). Esto se puede realizar por observación de características específicas a la especie, tanto en etapas inmaduras como en adultos. Los mosquitos deben conservarse en muy buena condición. Los adultos se mantienen secos dentro de vasos de cartón o plástico con algodón y papel filtro para evitar la pérdida de las escamas durante el

transporte. Las larvas se conservan en viales o tubos con etanol al 80%. Los métodos de identificación incluyen i) montar los especímenes en una lámina portaobjetos con cubre-objetos (mosquitos inmaduros o partes del cuerpo de adultos) para observarlos bajo el microscopio, y ii) montar los especímenes adultos en un alfiler para observarlos bajo el estereoscopio. La identificación involucra el uso de claves taxonómicas. Estas técnicas de identificación se van a cubrir en un curso de nivel intermedio.

Disecciones de mosquitos

Las disecciones se utilizan para aislar ciertos órganos internos del mosquito hembra para observarlos generalmente bajo el microscopio. Estas estructuras incluyen:

- La espermateca, para determinar si la hembra ha sido inseminada.
- Los ovarios, para evaluar la edad fisiológica de las hembras (i.e. estado de paridad).
- El estómago, para detectar oocistos de parásitos de malaria.
- Las glándulas salivares, para detectar esporozoitos de parásitos de malaria.

Los mosquitos a ser disectados deben ser frescos. Idealmente deben matarse o anestesiarse en el congelador inmediatamente antes de la disección. Esto implica transportar los mosquitos vivos desde el campo, ya sea en vasos de cartón o plástico o en jaulas.

Existen otras técnicas más sofisticadas que proporcionan respuestas a preguntas específicas relacionadas con la biología del vector en la transmisión de la enfermedad. Estas técnicas se resumen en las secciones siguientes.

Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA por sus siglas en ingles??)

Estas técnicas inmunoquímicas utilizan anticuerpos para detectar proteínas específicas (antígenos) de interés. n la entomología de malaria se utilizan ampliamente dos métodos de ELISA:

- **ELISA del circumsporozoito (CS-ELISA):** Este ensayo detecta la proteína del circumsporozoito (CS) que recubre la superficie externa del esporozoito de malaria y por lo mismo es un indicador de la presencia del estadio infectivo del parásito. Por consiguiente, sólo se analizan las cabezas y tórax de los mosquitos hembra, para asegurar que si se detecta proteína CS, es muy probable que sea de esporozoitos que alcanzaron las glándulas salivares y por lo mismo, que la hembra está lista para inocular los parásitos de la malaria. Para este ensayo los mosquitos pueden mantenerse secos a temperatura ambiente, dentro de tubos con gel de sílice y algodón.
- **ELISA de ingesta sanguínea:** Este ensayo es utilizado para detectar el origen de la ingesta sanguínea que un mosquito hembra tomó antes de ser capturado. En el ELISA se pueden utilizar anticuerpos contra antígenos específicos de la sangre de diferentes hospederos (p. ej. humano, ganado vacuno?, cerdo, perro, pollo) para identificar la fuente de la sangre. La ingesta sanguínea de la hembra (preferentemente alimentada con

sangre fresca) se colecta comprimiendo el abdomen sobre papel filtro. Las gotas de sangre se mantienen secas a temperatura ambiente hasta que se realiza el ensayo.

Análisis citogenético

Esta técnica consiste en la preparación de cromosomas politénicos para la observación microscópica de los patrones de bandas, que pueden ser tanto especie-específicos o polimórficos. Estos cromosomas politénicos o "gigantes" ocurren sólo en las células de cierto tipo de tejidos/órganos del mosquito y sólo en ciertas etapas del ciclo de vida o sexo. Por ejemplo, en *An. gambie*, los cromosomas politénicos se encuentran en los ovarios de hembras parcialmente grávidas o en las glándulas salivares de larvas L4. Las muestras para análisis citogenético se conservan en solución de Carnoy (1 parte de ácido acético, 3 partes de etanol absoluto), y se mantienen a 4°C (refrigeradora) o a -20°C (congelador) para periodos más largos de almacenamiento.

Análisis molecular basado en ADN/ARN

Estas técnicas se utilizan tanto para diferenciar miembros de complejos de especies crípticas o para estudiar genes de interés como los genes asociados a resistencia a insecticidas. Las técnicas basadas en ADN permiten identificar polimorfismos genéticos en genes de interés en poblaciones de mosquitos. Las técnicas basadas en ARN se utilizan para estudiar los niveles de expresión de estos genes.

El ADN es una molécula muy estable que facilita la conservación de especímenes para extracción de ADN. Usualmente los mosquitos se mantienen secos (en gel de sílice + tubos rellenos de algodón) a temperatura ambiente o conservados en etanol al 80%. Además, dependiendo de las técnicas, se puede obtener suficiente ADN para estos estudios de partes muy pequeñas de mosquitos (p. ej. una pata).

Por otro lado, el ARN es muy inestable, lo que hace más complicada la conservación del material biológico, especialmente en condiciones de campo. Idealmente, los mosquitos se deben matar e inmediatamente almacenar en nitrógeno líquido (-180°C) o a -80°C. El uso de agentes conservantes como el RNAlatter® permite mantener las muestras a temperatura ambiente o en la refrigeradora, pero solo por unas cuantas horas o días.

Para conservar mosquitos para estudios moleculares, es importante utilizar un tubo para almacenar cada mosquito (o parte del cuerpo), para evitar contaminación entre especímenes, como puede ocurrir si se colocan juntos varios mosquitos en el mismo tubo.

7.2 Preparación de muestras de mosquitos

Cuando se preparan muestras de mosquitos para análisis avanzados de laboratorio, se pueden utilizar diferentes partes de un mismo mosquito para diferentes técnicas. Por ejemplo, para una hembra parcialmente grávida, la cabeza y el tórax pueden reservarse para el ELISA de la CS, el abdomen puede disectarse para recuperar los ovarios para análisis citogenético, y las patas se

pueden utilizar para extracción de ADN. La tabla 3 describe las partes del cuerpo del mosquito que pueden utilizarse para diferentes técnicas de laboratorio y la forma en que se conservan.

Tabla 3. Tipo de método de conservación de partes del cuerpo de un mosquito para ser utilizadas en técnicas de laboratorio

Técnica	Material biológico	Estado gonotrófico	Medio de conservación	Temperatura de almacenamiento
Extracción de ADN	Mosquitos completos o partes del cuerpo	Cualquiera	Adultos: Gel de sílice y algodón. Larvas: Etanol al 80%	Temperatura ambiente (ambiente seco)
Extracción de ARN	Mosquitos completos	Cualquiera	Nitrógeno líquido *RNAlater*®.	-180°C (nitrógeno líquido) -20°C o -80°C (*RNAlater*®)
Citogenética	Ovarios	Parcialmente grávida	Solución de Carnoy	4°C a -20°C
CS-ELISA	Cabeza + Tórax	Cualquiera	Gel de sílice y algodón.	Temperatura ambiente (ambiente seco)
ELISA Ingesta sanguínea	Abdomen (ingesta sanguínea)	Completamente alimentado de sangre	Papel filtro Whatman n°1.	Temperatura ambiente (ambiente seco)

Para que estos procedimientos tengan éxito, es esencial adoptar un buen sistema de rotulado e identificación de las muestras. Todos los tubos (y papeles filtro) que contengan partes del cuerpo del mismo mosquito deben rotularse con el mismo número o código de muestra. Los códigos de las muestras deben ser informativos, simples e inequívocos. El rotulado es complementado con una base de datos que describe cada mosquito muestreado.

Durante el procesamiento de una muestra es importante manipular los mosquitos con cuidado para evitar la contaminación entre especímenes. Utilice materiales desechables siempre que sea posible y esterilice los equipos de disección (pinzas y agujas) entre especímenes.

Los tubos que contengan soluciones conservantes líquidas (p. ej. etanol, solución de Carnoy) deben rotularse con etiquetas de papel escritas con lápiz y colocadas adentro de los tubos. Los tubos con gel de sílice se pueden rotular con marcadores permanentes. Las etiquetas se pueden proteger con cinta adhesiva transparente.

7.3 Materiales y equipo esencial

Equipo Mayor: estereoscopio y microscopio óptico

Materiales: Pinzas entomológicas y agujas de disección, alfileres para insectos, plastilina, láminas portaobjetos, cubreobjetos, mechero, algodón, tubos plásticos (0.5 ml, 1.5 ml, 15 ml), cristalería de laboratorio de varios tipos, papel filtro (Whatman n° 1), marcadores permanentes, lápices, etiquetas de papel (papel pergamino), cinta adhesiva, cuaderno para notas.

Reactivos: Etanol absoluto, agua destilada, ácido acético, gel de sílice, medio de montaje para preparaciones en lámina (p. ej. entellan®).

7.4 Buenas prácticas de laboratorio

- Siempre mantenga el laboratorio limpio y ordenado
- Utilice máscaras protectoras y guantes cuando manipule reactivos tóxicos y peligrosos. Lea los panfletos de seguridad de los reactivos antes de utilizarlos.
- Limpie y esterilice los materiales de disección entre especímenes.
- Siempre utilice un tubo distinto para cada parte del mosquito.
- Siempre rotule los tubos de la misma forma con letra legible.
- Registre correctamente la información de cada mosquito procesado y mantenga la base de datos actualizada.
- Cuide bien el equipo óptico, como los microscopios.

Unidad 8
Índices y Factores Que Afectan la Transmisión de la Malaria

Objetivos de aprendizaje

Existen diferentes patrones de transmisión de la malaria a lo largo de diferentes áreas geográficas. En esta unidad proporcionará un conocimiento básico de:

- **Los métodos utilizados para determinar si una especie de mosquito es un vector de la malaria.**
- **Los indicadores entomológicos de la transmisión y cómo calcularlos.**
- **Algunos de los factores que afectan la transmisión de la malaria.**

8.1 Determinando qué mosquitos transmiten la malaria (incriminación vectorial)

Para poder concluir qué especies son vectores de la malaria, es importante demostrar que:

- Ocurre el contacto entre el mosquito y los humanos y que el mosquito se alimenta de sangre humana.
- Existe una relación, en tiempo y espacio, entre el mosquito y los casos locales de malaria.
- Las glándulas salivares del mosquito contienen esporozoitos (el estadio del parásito de la malaria que infecta al humano).

Se necesitan varios elementos de información entomológica para demostrar lo anterior, incluyendo:

- La presencia y abundancia del mosquito.
- El comportamiento de alimentación del vector: dónde y cuándo pica/se alimenta un mosquito y la fuente de ingesta sanguínea.
- Edad y paridad de la población de vectores.
- El porcentaje de mosquitos de una especie dada que están infectados con esporozoitos.

La información anterior se puede generar de estudios longitudinales utilizando técnicas de muestreo, algunas de las cuales se cubrieron en la Unidad 6 y con las que se pueden calcular los siguientes indicadores entomológicos:

- Hábitats de reposo
- Tasa de picadura en humanos
- Longevidad

- Tasa de esporozoitos (infectividad)
- Índice de sangre humana
- Tasa de inoculación entomológica
- Capacidad vectorial

8.2 Técnicas para la incriminación vectorial

Determinación del estado de digestión de la sangre y desarrollo de los ovarios.

Dependiendo del estado de la digestión de la sangre y del desarrollo de los huevos (i.e. el estado gonotrópico), el abdomen del mosquito asumirá cierta coloración y forma (Fig.20):

- *Sin alimentar* – abdomen vacío (no ingesta sanguínea).
- *Alimentados recientemente*– rojo brillante con ovarios (parte blanca) en la punta.
- *Parcialmente grávida* – color rojo oscuro, sangre cubriendo 3-4 segmentos y ovarios/huevos cubriendo el resto del abdomen.
- *Grávida* – Sin sangre o mostrando un pequeño parche oscuro en la superficie ventral del abdomen, y los ovarios/huevos cubriendo casi todo el abdomen.

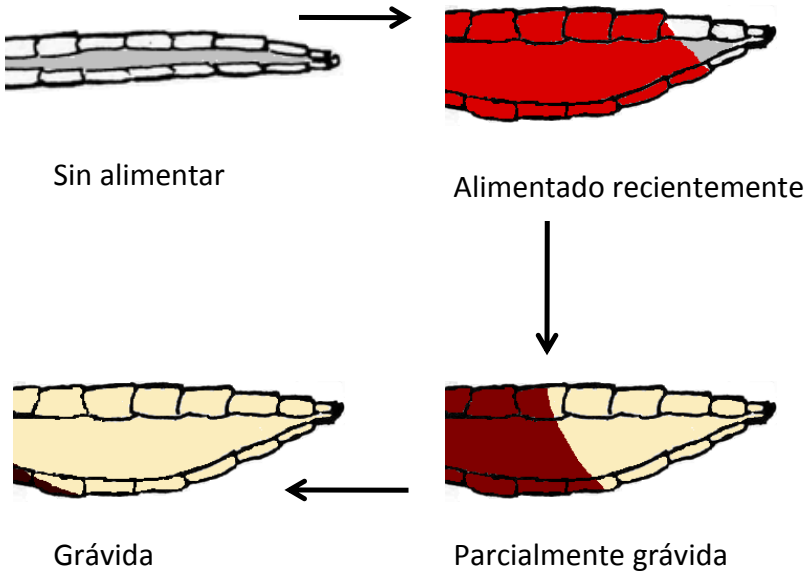


Figura 20. Condición del abdomen de un mosquito hembra de acuerdo al estado gonotrópico

Tasa de paridad

La disección del abdomen y la observación microscópica de la morfología de los ovarios puede determinar si:

- El mosquito hembra ha depositado los huevos al menos una vez en su vida – parida.
- El mosquito hembra no ha depositado huevos todavía – nulípara.

Esto permitirá estimar la tasa de paridad de la población de mosquitos, i.e. la proporción de hembras paridas, parámetro que refleja la edad de la población. Las poblaciones de mosquitos más viejas tendrán tasas de paridad más altas. Es más probable que las poblaciones más viejas transmitan la malaria debido a que necesitan sobrevivir el tiempo necesario para que el parásito se desarrolle dentro del mosquito y para tomar al menos dos ingestas de sangre para transmitir la enfermedad.

Infectividad de una población

La presencia de esporozoitos en las glándulas salivares del mosquito indica que es capaz de transmitir los parásitos de la malaria a los humanos. Esto puede determinarse mediante la disección y examen microscópico de las glándulas salivares del mosquito o mediante una técnica de ELISA. Con este dato, podemos estimar la tasa de esporozoitos (o infectividad) de una población de mosquitos.

Índice de ingesta sanguínea y preferencia por el tipo de hospedero

Se puede utilizar también una técnica de ELISA para determinar el origen de la ingesta sanguínea que ha tomado un mosquito hembra (i.e. si la hembra se ha alimentado de un hospedero humano o de algún animal).

8.3 Estimación de los índices de transmisión

Esta sección es dedicada a comprender cómo estimar algunos de los índices entomológicos más importantes utilizados para caracterizar la transmisión de la malaria por una población de vectores. Algunos parámetros, como la longevidad y supervivencia, requieren fórmulas matemáticas complejas, para lo cual se necesita una capacitación adicional.

Densidad en reposo intradomicilio (D)

Las densidades mensuales de mosquitos que reposan dentro de la vivienda se calculan mediante:

- Capturando mosquitos en reposo en el interior de un número seleccionado de casas en un área por el método de captura de barrido con piretro. Usualmente las casas muestreadas son de tamaños equivalentes.
- Después se separan los mosquitos colectados y se cuentan por especie y género.
- El total de mosquitos hembra colectados de cada especie se divide entre el número total de casas muestreadas.

- Usualmente el muestreo es realizado durante dos o tres noches al mes y se toma un promedio de las tres noches.
- Entonces, las densidades de mosquitos en reposo intradomiciliar se expresan como el número de hembras por casa, por noche. Por ejemplo:
  - Asumiendo que se capturaron un total de 765 mosquitos hembra de una determinada especie de mosquito mediante captura por rociado con piretro, en cuatro casas muestreadas en tres noches consecutivas. Entonces,

Densidad intradomiciliar (D) = (número de hembras ÷ número de casas) ÷ número de noches

D = (765 hembras ÷ 4 casas) ÷ 3 noches = 63.8 mosquitos/casa/noche

Tasa de picadura en humanos (ma)

La tasa de picadura en humanos se expresa como el número de picaduras que recibe una persona por parte de una especie de vector específica, por noche. Este parámetro se puede estimar directamente de las capturas de mosquitos por tracción humana:

- Dividiendo el número total de mosquitos capturados por el total de técnicos que participó en la colecta
- Cuando las capturas se hacen durante la noche completa (i.e. 12 horas), la tasa de picadura se expresa como el número de picaduras por hombre por noche:

  Tasa de picadura = número de mosquitos colectados ÷ número de técnicos
- Cuando las capturas son realizadas solo por unas cuantas horas de la noche, el número total de mosquitos capturados puede dividirse por el número total de técnicos que participaron en la colecta y el tiempo total que les llevó realizarla. Por ejemplo:
  - Asumiendo que cinco técnicos capturaron 150 mosquitos durante cuatro horas de captura. La tasa de picadura será:

Tasa de picadura = número de mosquitos ÷ número de técnicos ÷ número de horas de colecta

Tasa de picadura = 150 mosquitos ÷ 5 técnicos ÷ 4 horas = 7.5 picaduras/hombre/hora

Una forma indirecta de calcular este parámetro es a través de las colectas realizadas por captura de barrido con piretro:

- Todas las hembras recién alimentadas (**F**) que fueron colectadas se separan por especie y se cuentan.
- Luego se divide el número total de hembras de una especie por el número total de ocupantes (**W**) que permanecieron la noche en las habitaciones que se utilizaron para la colecta. Por ejemplo:
  - Asumiendo que se encontraron 63 mosquitos recién alimentados (**F**) en tres casas (habitaciones) en una noche y que un total de 8 personas (**W)** durmieron en esas tres casas (habitaciones) durante esa noche. Entonces:

Tasa de picadura = **F** ÷ **W** = 63 ÷ 8 = 7.9 picaduras por noche.

Para esta estimación indirecta se asume que:

- Todos los mosquitos recién alimentados obtuvieron la sangre de los ocupantes de la casa esa noche.
- Ningún mosquito recién alimentado salió de la casa esa noche.

Si se conoce el índice de sangre humana de una especie de vector, entonces se puede ajustar la tasa de picadura en humanos calculada a partir de la captura de barrido con piretro, multiplicándola por el valor del índice de sangre humana.

Índices endofágicos y exofágicos para preferencia de picadura

Los Índices endofágicos y exofágicos se pueden obtener directamente de las estimaciones de tasa de picadura en humanos, calculada a partir de las capturas por atracción humana. Esto involucra:

- Realizar capturas por atracción humana con equipos de técnicos colocados en el interior y peridomicilio de la vivienda al mismo tiempo.
- Calcular las tasas de picadura en humanosen el intra y peridomicilio.
- Calcular el índice endofágico como la proporción de hembras de una especie dada que pican en el intradomiciliointerior (el índice exofágico será la proporción de hembras que pican en el peridomicilio). Por ejemplo:
  - Asumiendo que en cuatro horas de captura por atracción humana, dos técnicos capturan 168 hembras de *An. gambiae s.l.* adentro de las habitaciones y al mismo tiempo dos técnicos más capturan 122 hembras de *An. gambiae* s.l. afuera en la comunidad. Entonces:

1. La tasa de picadura en humanos intradomiciliaria es:

Tasa de picadura (i) =168 hembras ÷ 2 técnicos adentro ÷ 4 horas de colecta = 21.0 picaduras/hombre/hora

2. La tasa de picadura en humanos en el peridomicilio es:

Tasa de picadura (e) =122 hembras ÷ 2 técnicos afuera ÷ 4 horas de colecta = 15.3 picaduras/hombre/hora

3. El índice endofágico es entonces:

Índice endofágico = Tasa de picadura (i) ÷ [Tasa de picadura (i) + Tasa de picadura (e)] = 21.0 ÷ (21.0 + 15.3) = 0.58

4. El índice exofágico es entonces:

Índice enxofágico = Tasa de picadura (e) ÷ [Tasa de picadura (e) + Tasa de picadura (i)] =

$$15.3 \div (15.3 + 21.0) = 0.42$$

Notar que el índice endofágico + índice exofágico siempre debe ser igual a 1.

Tasa de esporozoitos (s)

La tasa de esporozoito es la proporción de mosquitos de una especie dada que llevan esporozoitos en las glándulas salivares (determinados ya sea por disección o por CS-ELISA). Por ejemplo:

- Asumiendo que se analizan por CS-ELISA 1500 hembras de anofelinos de la misma especie. De estos, 32 se encontraron positivos para la proteína del circumsporozoito (un indicador de la presencia de esporozoitos). Entonces:

Tasa de esporozoitos (s) = número de mosquitos positivos ÷ número de mosquitos analizados

s = 32 mosquitos positivos ÷ 1500 mosquitos analizados = 0.021 (o 2.1%)

Índice de sangre humana (ISH)

El ISH se puede obtener analizando la ingesta sanguínea, generalmente mediante técnicas de ELISA, de especies identificadas, capturadas en el campo mediante capturas en reposo. El ISH se calcula como la proporción de hembras de una especie dada a las que se les confirme sangre humana en sus estómagos. Se pueden calcular índices similares para cualquier tipo de ingesta presente en las capturas analizadas. Por ejemplo:

- Asumiendo que el análisis de ingesta sanguínea por ELISA de una especie dada de *Anopheles* revela que 83 mosquitos hembra se alimentaron en humanos, 11 en pollos y 36 en perros. Entonces:

ISH = n° ingestas sanguíneas ÷ (n° ingestas de humano + n° ingestas de pollo + n° ingestas de perro)

$$ISH = 83 \div (83 + 11 + 36) = 0.63$$

Determinación de los hábitos de reposo del vector luego de la ingesta sanguínea

Determinar dónde reposa el vector después de una ingesta sanguínea es muy importante para evaluar el potencial de una herramienta de intervención (como el rociado residual intradomiciliario) para interrumpir la transmisión. El hábito luego de la ingesta (f) puede calcularse utilizando los otros parámetros que han sido descritos previamente:

$$f = [k \times H \times D] \div [N \times P \times M]$$

Donde:

k = constante de corrección de 1.16.
H = estimado de ISH.
D = densidad de mosquitos en reposointradomiciliar, calculada a partir de colecta de barrido con piretro.
N = número promedio de personas por casa.

P = duración del reposo intradomiciliario después de la ingesta sanguínea. Este parámetro se obtiene del análisis de la condición del abdomen de hembras en reposo. P = 1 + (número de hembras grávidas o parcialmente grávidas ÷ número de hembras alimentadas recientemente)
M = estimado de la tasa mensual de picadura en humanos.

Índice de Inoculación Entomológico (EIR)

EIR es el número de picaduras infectivas recibidas por persona por noche. A pesar que existen metodologías más complicadas para calcular este índice, una forma sencilla es:

EIR = [tasa de picadura (ma)] x [tasa de esporozoitos (s)]

Por ejemplo, asumiendo que para una especie identificada A, la tasa de picadura se determine como ma = 7.9 y la tasa de esporozoitos s = 0.003. Entonces:

EIR = ma x s = 7.9 x 0.003 = 0.02 picaduras infectivas/persona/noche

Esto significa que en un mes de 31 días, se esperan 0.62 picaduras infectivas (0.02 x 31 días) por parte de la especie A. De igual forma, el EIR anual para esta especie debe estar alrededor de 7 (0.02 x 365 días) picaduras infectivas por año.

8.4 Factores que afectan la transmisión de la malaria

La intensidad de la transmisión por parte de los vectores de la malaria es afectada por factores ambientales y antropogénicos/demográficos. Los factores ambientales parecen tener un impacto diferente en las distintas especies. Los principales factores ambientales que afectan la transmisión de la malaria incluyen:

Lluvia: En regiones tropicales y sub-tropicales, las variaciones en la precipitación son responsables de la estacionalidad de la mayoría de especies de mosquito. La lluvia crea criaderos temporales que son críticos para el aumento de la densidad en la población de algunas especies de vectores y por consiguiente, para el aumento en la transmisión. Por ejemplo, generalmente existe una correlación positiva entre la lluvia y la densidad de adultos o la formación de conglomerados de *An. arabiensis* y *An. gambiae* s.l. Sin embargo, la lluvia esta correlacionada negativamente con la formación de conglomerados de *An. funestus*.

Temperatura y humedad: Mientras que en regiones templadas la temperatura es el principal factor determinante que afecta la dinámica de población de los anofelinos, este efecto parece menos evidente en climas tropicales. Los mosquitos *Anopheles* se vuelven inactivos a temperaturas bajas. El agua a temperaturas más frías puede retardar el desarrollo y surgimiento de las larvas. Sin embargo, la longevidad de los mosquitos disminuye significativamente a temperaturas por arriba de los 35°C y a humedades relativas por debajo del 50%. Las hembras copuladas de *An. gambiae* pueden sobrevivir a períodos cálidos y secos largos por estivación. De la misma forma, se sabe que algunas especies de mosquitos de regiones templadas hibernan durante el invierno.

Altitud: Se sabe que la transmisión de la malaria generalmente tiende a caer a medida que aumenta la altura. Generalmente no se encuentran anofelinos a altitudes por encima de los 2,000 metros. La temperatura disminuye un promedio de 6.5°C por cada 1000 m y esta disminución desacelera el desarrollo de los parásitos de la malaria dentro del mosquito, afectando así la transmisión de la malaria.

Factores antropogénicos/demográficos: Éstos incluyen el tipo de construcción de la casa, actividades humanas que promueven la disponibilidad de criaderos, pobreza y comportamientos relacionados con el nivel de entendimiento de los riesgos de la transmisión de malaria, así como las prácticas socio-culturales.

Unidad 9
Aspectos Básicos de la Crianza de Colonias de Mosquitos en el Laboratorio

Objetivos de aprendizaje

Esta unidad proporcionará conocimientos acerca de:

- **Las características básicas de un insectario.**
- **Los requerimientos básicos para la crianza de larvas y adultos de mosquitos anofelinos en un ambiente de laboratorio.**

9.1 El insectario y su funcionamiento básico

Un insectario es un lugar donde se crían insectos y se mantienen bajo condiciones de laboratorio. Puede variar entre sofisticado y simple, dependiendo del propósito para el cual fue montado. Para propósitos de control vectorial rutinario, un insectario puede ser relativamente barato.

Los insectarios son importantes para mantener un suministro adecuado de mosquitos para observación, identificación y otras evaluaciones, así como para ensayos de susceptibilidad a insecticidas, estimación de la longevidad y los hábitos de alimentación.

Puede consistir de un cuarto pequeño para el mantenimiento de las larvas y colonias de adultos (Fig. 21), o preferentemente dos habitaciones; una para las larvas y otra para las colonias de adultos.

Figura 21. Imagen de un insectario mostrando las bandejas para las larvas y las jaulas para adultos

Algunas veces un insectario puede tener colonias de especies completamente susceptibles, así como especies silvestres capturadas localmente. En estos casos es esencial que las especies (especialmente las susceptibles) no se contaminen con las silvestres.

Un insectario debe construirse con el objetivo central de prevenir que escapen o entren mosquitos por sí mismos. Generalmente tendrá un techo bajo (no más de 7 pies o 220 cm), pisos de cemento y paredes con pintura clara (blanco o blanco apagado). Estas características son necesarias para poder divisar especímenes que hayan escapado. A las puertas y ventanas se les debe colocar una malla o cedazo. Además:

- Debe haber seguridad adecuada para evitar la entrada de personas no autorizadas.
- Los muebles deben ser de metal anti-oxidante, fibra de vidrio, plástico o al menos madera pulida. Las patas de los muebles debe estar aisladas de suelo (generalmente utilizando recipientes llenos con aceite) y de las paredes para evitar la invasión de hormigas y otros insectos rastreros.

El conocimiento respecto a los requerimientos específicos para la sobrevivencia de las especies de mosquitos vectores (temperatura, alimento, humedad y luz) es crítico para la cría exitosa en el laboratorio.

Tenga cuidado de prevenir que crezca moho en la comida de los insectos; refrigere el alimento de las larvas y prepare la cantidad adecuada a medida que se necesite. El agua azucarada es particularmente propensa a crecimiento bacteriano y debe cambiarse regularmente.

Es importante el control regular de las plagas, especialmente orientado a hormigas y cucarachas, ya que estos tienden a alimentarse de las colonias de mosquitos.

Es importante mantener un horario constante de las tareas específicas (p.ej. cuándo alimentar a las larvas, cuándo recolectar los huevos, cuándo alimentar con sangre a los adultos). Una buena práctica será hacer el horario y prenderlo en un lugar accesible o en el cuaderno.

Es extremadamente importante mantener la pureza genética de las colonias de insectos. Una vez que un stock de insectos se contamina, es ya de muy poco valor. Por esto, es importante prevenir la contaminación cruzada de huevos, larvas y adultos volando libremente en el insectario. Todo esto es fuente de contaminación de los stocks.

Es esencial mantener una nutrición adecuada para la supervivencia y fecundidad de la colonia de mosquitos. La optimización de la nutrición, fotoperiodo, competencia (i.e. densidades de larvas y adultos dentro de las bandejas y jaulas, respectivamente), y temperatura resultarán en una colonia más productiva.

9.2 Condiciones generales para criar mosquitos

Huevo

Solo algunas especies de *Anopheles* se pueden criar fácilmente en el insectario. Para aquellas especies que pueden criarse, hay dos formas de iniciar una colonia con mosquitos silvestres locales. Una colonia puede iniciarse ya sea a partir de hembras adultas capturadas en reposo, que ya se hayan alimentado de sangre y manteniéndolas alimentadas con solución azucarada hasta que pongan huevos; o de colectas de larvas silvestres?, criadas hasta adultos y luego produciendo el primer lote de huevos al alimentar a las hembras adultas con sangre. Los pasos son:

- Colectar larvas o hembras alimentadas con sangre en el intradomicilioy poniéndolas en una jaula para mosquitos en el insectario.
- Mantenerlas en el insectario con humedad relativa (80%) y temperatura (27°C) estables.
- Mantener a los adultos con solución azucarada al 10%.
- Para que los adultos pongan huevos, puede ser necesario tener que alimentarlos con sangre (en el caso de adultos criados en el insectario a partir de larvas).
- Para colectar los huevos, colocar recipientes para la oviposición adentro de las jaulas. Un recipiente para oviposición se puede hacer fácilmente utilizando la parte superior e inferior de una caja de Petri, a la cual se le agrega un poco de agua y un pedazo de papel filtro del tamaño de la caja (o algo similar).

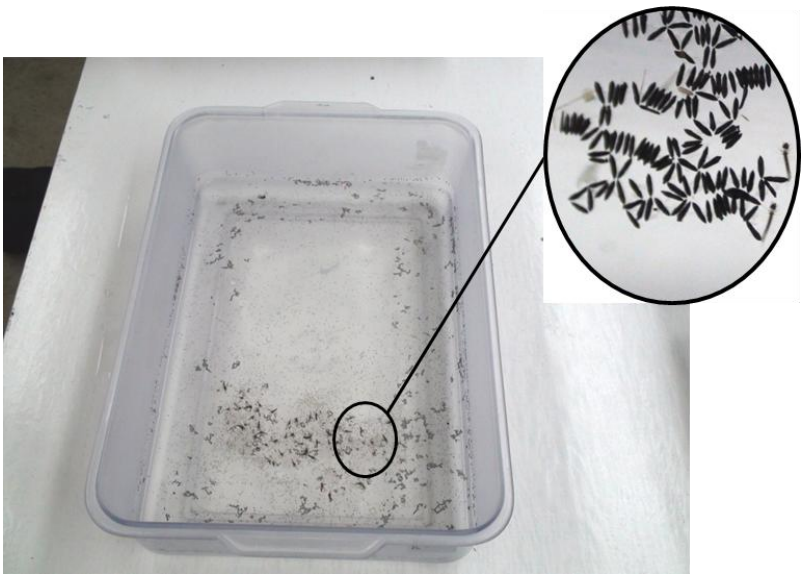


Figura 22. Bandeja para larvas con huevos y larvas del 1er instar

Procedimiento básico para la eclosión de los huevos

- Cubra la base del recipiente de las larvas con agua des-ionizada y agregue una solución de levadura para una concentración final ya disuelta de 0.02% (p. ej. 300 mL de agua y 3 mL de una solución de levadura al 2% (p/v)).
- Desagüe suavemente los huevos dentro de la bandeja, cúbrala y déjela sin mover por 24 horas, asegurándose que los huevos no se peguen a los lados de la bandeja, por arriba de la solución.
- Los huevos eclosionan entre 24-48 hrs. Examine para encontrar larvas de 1er instar utilizando luz brillante.

Larva

La temperatura es el factor externo más importante que afecta la tasa de crecimiento de las larvas. Para el desarrollo de las larvas, es crítico mantener una temperatura de cerca de 27°C.

El cuarto para las larvas debe tener una ventana de vidrio ancha para permitir que entre la luz del día o un sistema artificial de iluminación que permita la alteración de ciclos de 12 horas de luz/oscuridad, otro factor ambiental crítico para el desarrollo de las larvas.

Las larvas deben alimentarse dos veces al día, generalmente con comida de pescado triturada. Tanto la calidad como la cantidad de la dieta son importantes para la longevidad y fecundidad del estadio adulto. La mortalidad de las larvas puede ser alta si las mismas están sobrealimentadas. Por otro lado, la falta de alimentación puede producir adultos más pequeños. La primera alimentación debe ser 24 horas después de eclosionar. Las larvas del primer instar requieren más comida que las de cuarto instar.

Revise si hay algas dentro de las bandejas, ya que pueden producir una alta mortalidad. Es importante cambiar el agua cada 1-2 días y eliminar todas las larvas muertas de las bandejas. Las larvas se deben manipular con suavidad, especialmente durante la transferencia de una bandeja a la otra.

Las bandejas de las larvas no deben estar sobrepobladas ya que esto afecta su desarrollo debido a la competencia por comida y al canibalismo.

Pupa

Ese es un estadio que no se alimenta. Las bandejas para larvas deben revisarse diariamente para ver si hay pupas. Las pupas se sacan y se colocan en jaulas donde emergerán los adultos. La separación de las pupas de las larvas se puede realizar de una manera simple con el uso de una pipeta o una espátula de malla fina; las pupas se colocan en un recipiente para transferirlas a una jaula (Fig. 23). Cuando hay grandes cantidades, la tendencia de las larvas a nadar hacia abajo cuando se les molesta y de las pupas a estar en la superficie, puede facilitar el procedimiento de separación. Un recipiente que contenga larvas y pupas se puede hacer girar, lo que ocasiona que las larvas se muevan hacia el centro y abajo del recipiente, y las pupas se queden arriba, en los lados. Entonces pueden separarse con la ayuda de una pipeta. El agua helada también puede usarse para reducir la actividad de las pupas y larvas, y facilitar su separación (pero debe hacerse rápidamente para evitar daño a los estadios en desarrollo), lo que permite luego decantar las pupas a través de una malla o colador y transferirlas a agua a temperatura ambiente.

Figura 23. Separación de pupas y larvas con una pipeta

Adultos

Los adultos se pueden mantener en vasos cubiertas con malla, las cuales son baratas y puede albergar cerca de 10 – 15 adultos. Generalmente se hace un agujero en la malla para introducir los adultos y se tapa con algodón. Las jaulas para adultos pueden utilizarse para albergar mayores cantidades. Los adultos se deben manipular con cuidado, usando aspiradores bucales para transferirlos entre jaulas cuando sea necesario.

Las dietas de los adultos han mostrado que afectan su longevidad y fecundidad. Aquellos que se alimentan solamente de sangre se ha visto que viven más tiempo que los que se alimentan con azúcar y sangre. Generalmente a las hembras se les debe dar una ingesta de sangre cada 2-3 días. Los animales de laboratorio que se utilizan para alimentar a los adultos (p.ej. conejos, conejillos de indias) deben mantenerse alejados del insectario. Siempre se debe revisar el algodón con solución azucarada al 10% de la jaula y remplazarlo cada día.

Una humedad relativa y constante de 80% (±10%) es crítica para la supervivencia de los adultos. Esto puede lograrse mediante el uso de inyectores de vapor, humidificadores o enfriadores evaporativos. La temperatura debe mantenerse también estable a 25°C-27°C.

Unidad 10
Susceptibilidad a Insecticidas y Pruebas del Bioensayo de Conos

Objetivos de aprendizaje

La resistencia de los mosquitos vectores a los insecticidas utilizados en su control es un problema creciente a nivel mundial, que amenaza la sostenibilidad de los programas de control de la malaria. Al final de la unidad, el estudiante sabrá como llevar a cabo:

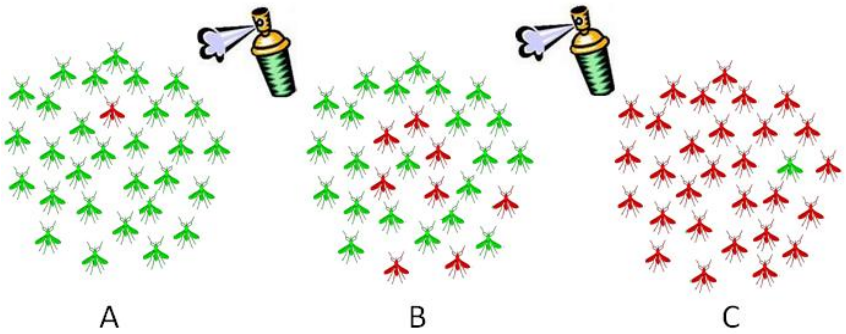
- **La prueba de la OMS para estimar la susceptibilidad de los vectores a los insecticidas.**
- **El bioensayo de la OMS para evaluar la eficacia residual del insecticida en superficies rociadas.**
- **El bioensayo de la OMS para evaluar la eficacia residual de los mosquiteros insecticidas de larga duración.**

10.1 ¿Por qué determinar la susceptibilidad de los vectores de malaria a los insecticidas?

Si un vector es susceptible a un insecticida significa que el vector morirá cuando entre en contacto con el insecticida, a la dosis prescrita a la que se utiliza para una intervención particular (rociado residual intradomiciliario, mosquitero tratado con insecticida, o larvicida). Cuando la susceptibilidad disminuye implica que el vector se ha vuelto más tolerante al insecticida, hasta llegar a un punto en el que se vuelve resistente.

Si un vector desarrolla resistencia a un insecticida, significa que puede tolerar la dosis que normalmente lo hubiera matado, lo que puede afectar la efectividad de la intervención. Por esto es importante saber el grado de susceptibilidad de los vectores locales a los insecticidas a ser utilizados en la intervención.

La resistencia a los insecticidas surge como resultado de la interacción de la presión de selección, variabilidad genética (mutación), flujo genético y la historia de vida de la población de mosquitos (Fig. 24).



A. Las mutaciones genéticas que confieren resistencia a insecticidas en los mosquitos generalmente ocurren a una tasa muy baja en poblaciones naturales. B: bajo presión de selección por parte del insecticida, las cepas mutantes sobrevivirán más y los mosquitos silvestres (susceptibles) morirán. C: después de varias generaciones de presión continua del insecticida, los mosquitos mutantes (resistentes) prevalecerán en las poblaciones.

Figura 24. Selección de resistencia a insecticidas en una población de vectores

10.2 Preparación de vectores para evaluaciones de susceptibilidad y bioensayo de conos

Se utilizan dos métodos generales para preparar/obtener vectores para bioensayos:

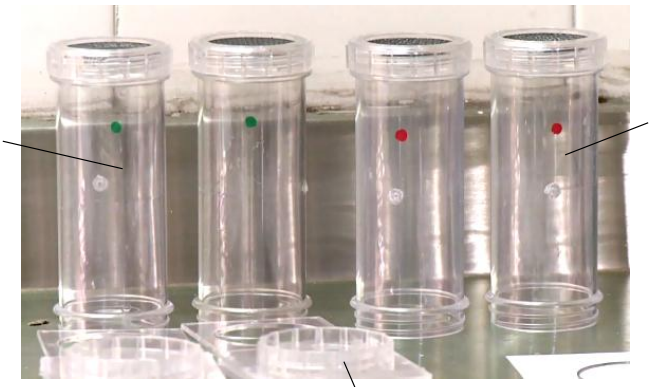
- Se pueden colectar larvas de criaderos locales (ver Unidad 5). Luego las larvas se crían en condiciones de laboratorio (ver Unidad 9). Las pupas se transfieren diariamente a jaulas de adultos para capturar a los que emerjan. Los adultos se alimentan luego con solución azucarada al diez porciento y se mantienen en grupos de 3-5 días después de emergidos.
- Como alternativa, se colectan especies de mosquitos locales, alimentados con sangre y grávidos, utilizando las técnicas de muestreo de adultos descritas en la Unidad 6. Estos se mantiene luego en solución azucarada al 10% para que pongan huevos (ver Unidad 9) y la generación F1 resultante se hace crecer hasta 3-5 días de edad para ser utilizada en las pruebas. En estos casos, se usan un mínimo de 50 hembras para que aporten huevos, para asegurar una adecuada variabilidad genética. Con *An. funestus y An. darlingi* a menudo es muy difícil obtener grandes cantidades de hembras para ovipostura (i.e. hembras que realmente pongan huevos en cautiverio).

10.3 Determinación de la susceptibilidad de mosquitos adultos

Existen dos métodos estandarizados para determinar la susceptibilidad de los insecticidas en mosquitos adultos. Es de hacer notar que estos métodos solo miden una reducción en la susceptibilidad en las poblaciones de vectores, no son una medida directa de la resistencia. Para confirmar la resistencia se requieren análisis adicionales para determinar los mecanismos que causan esta reducción en la susceptibilidad.

Bioensayo de la botella de CDC: Este método es ampliamente utilizado en varios países y el protocolo puede obtenerse en www.cdc.gov/ncidod/wbt/resistance/assay/bottle/index.htm .

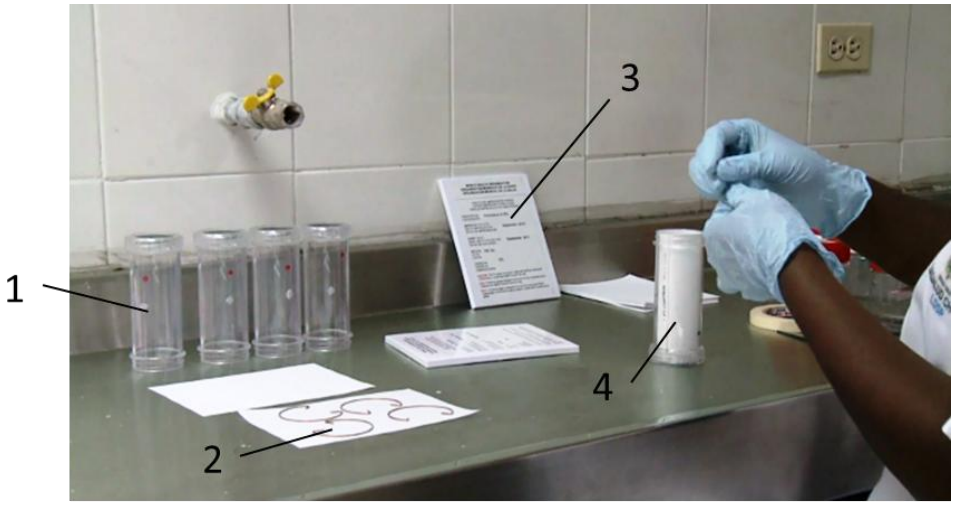
Ensayo de tubo de la OMS: Es una metodología estandarizada, proporcionada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para evaluar la susceptibilidad de las hembras de *Anopheles* (WHO 1998). Mosquitos vectores de una especie conocida se exponen en tubos especiales conteniendo papeles filtro impregnados con una concentración letal (dosis discriminante) de un determinado insecticida, disuelto en aceite.



1. Tubos de control/mantenimiento (punto verde), 2. Tubos de exposición (punto rojo), 3. Unidades corredizas

Figura 25. Tubos de la OMS para evaluar susceptibilidad

El kit de la prueba de tubo de la OMS está formado de dos tubos plásticos de 44 mm de diámetro y 125 mm de largo (Fig. 25). Un extremo de cada tubo tiene una malla No. 16. Uno de los tubos está marcado con un punto rojo y se usa como "tubo de exposición" ya que está recubierto con papel filtro impregnado con insecticida, el cual se mantiene en su sitio con dos aros de cobre. El otro tubo, con un punto verde, sirve como "tubo de mantenimiento", el cual tiene las paredes internas recubiertas con un papel simple, mantenido en su posición por dos aros de acero (Fig. 26).



1. tubos de exposición (punto rojo), 2. aros, 3. Caja con papeles impregnados, 4. tubo control (punto verde)

Figura 26. Recubrimiento de tubos con papeles impregnados

El tubo de mantenimiento está pegado a una unidad deslizante que tiene un agujero de 20 mm a través de la cual se introducen los mosquitos, utilizando un aspirador. El tubo de exposición puede enroscarse al otro lado de la unidad deslizante. Un tabique deslizante dentro de la unidad abre un agujero entre los tubos y los mosquitos que se van a evaluar se soplan suavemente hacia adentro del tubo de exposición para iniciar la exposición al insecticida y, después del tiempo de exposición, se soplan de regreso al tubo de mantenimiento.

En cada ensayo, otro tubo de exposición (también marcado con un punto verde) se recubre con un papel filtro impregnado solo con el aceite utilizado para disolver el insecticida. Esta exposición sirve como control en el ensayo. Los pasos del ensayo son:

- Conecte los tubos de mantenimiento con las unidades deslizantes.
- Transfiera 15-25 mosquitos a cada uno de los tubos de mantenimiento a través del agujero que los conecta. Los mosquitos a utilizar para la evaluación, alimentados con solución azucarada, se colectan con cuidado de las jaulas de adultos, utilizando un aspirador. Deje reposar a los mosquitos en los tubos de mantenimiento por 60 min.
- Conecte los tubos de exposición (incluyendo el del control) a cada uno de los tubos de mantenimiento en el otro extremo de las unidades deslizantes. Abra las unidades deslizantes y sople suavemente los mosquitos del tubo de mantenimiento al tubo de exposición.
- Cierre la unidad, separe los tubos de mantenimiento y deje los tubos de exposición (y control) parados, rectos por una hora (dos horas si se está utilizando fenitrotión). Registre cualquier mosquito muerto a intervalos de 15 minutos durante la etapa de exposición.

- Después del periodo de exposición, transfiera los mosquitos de regreso al tubo de mantenimiento y déjelos parados, rectos por 24 horas. Coloque un pedazo de algodón húmedo en el extremo de la malla de metal del tubo y coloque los tubos en una caja de madera con agujeros grandes para ventilación, cubierta con una toalla húmeda. Debe monitorearse la temperatura y humedad en la caja (25±2°C; 75±10%).
- Después de pasadas 24 horas de la exposición, cuente los mosquitos muertos por contacto con el insecticida y los muertos en el control.
- Si se están utilizando 25 mosquitos por tubo, se necesita evaluar un mínimo de 100 mosquitos en cuatro o cinco réplicas para calcular el porcentaje de mortalidad, para cada insecticida.
- Las tasas de mortalidad se calculan así:
  - **Mortalidad control:** C = (n° de mosquitos muertos)/(n° de mosquitos evaluados) en el tubo control.
  - **Mortalidad de exposición**: E = (n° of mosquitos muertos)/(n° of mosquitos evaluados) en los tubos de exposición con insecticida.
  - Si la mortalidad control está entre 5 y 20%, el valor de la mortalidad de exposición, E, se corrige mediante la fórmula de Abbott:

    Mortalidad de exposición corregida: E' = [(E- C) / (100-C)] x 100

    Donde E es la mortalidad de exposición (sin corregir) expresada en % y C es la mortalidad control, expresada en %.

    Por ejemplo, si la mortalidad control, C, es 10% y la mortalidad de exposición, E, es 40%, la mortalidad de exposición corregida es [(40 – 10)/100 – 10)] * 100 = 33%.
  - Si la mortalidad control es menor que 5%, no hay necesidad de corregir E.
  - Si la mortalidad es mayor que 20%, el experimento debe descartarse.
- Interpretación de resultados
  - Una tasa de mortalidad entre 98% y 100% indica susceptibilidad.
  - Una tasa de mortalidad entre 80–97% sugiere una posible resistencia. Es deseable realizar un muestreo y evaluación más amplia para confirmar estos niveles en la población de vectores.
  - Una tasa de mortalidad menor del 80% indica resistencia.

Se pueden utilizar análisis bioquímicos o por métodos de PCR para identificar los mecanismos responsables de la resistencia detectada. Esto permitirá implementar el manejo efectivo de la resistencia.

10.4 Eficacia residual de insecticidas en superficies rociadas (OMS 1998, 2005)

La eficacia residual de un insecticida en una superficie rociada se determina mediante la prueba de bioensayo de conos. Esto se realiza verificando la mortalidad de las especies de mosquitos a los que se dirige la intervención, expuestas a superficies rociadas a intervalos de semanas o meses después del rociamiento. Esta técnica puede ser utilizada también para evaluar la calidad de un procedimiento de rociamiento residual. También se utiliza para determinar la eficacia residual de un insecticida en los mosquiteros.

El kit del bioensayo de conos de la OMS incluye conos plásticos, cinta adhesiva de esponja, aspirador o tubo curvo para succionar, aspiradores o tubos normales para succionar, cartón, clavos pequeños, martillo, algodón, vasos de cartón con tapadera de malla, hules, marcadores, jaula para mosquitos, caja de madera con agujeros grandes, toallas. En la Fig. 27 se muestran los conos plásticos.

Figura 27. Conos del bioensayo de la OMS sobre una pared

El procedimiento del ensayo para pared es:

- Recubra las orillas del cono plástico con cinta adhesiva de esponja.
- Los conos deben fijarse a la superficie rociada utilizando cinta adhesiva o clavos. Los conos se fijan a tres diferentes alturas (abajo, en medio y arriba).
- Se clava a la pared un trozo de cartón sin insecticida, encima de él se fijan los conos plásticos y se utiliza como control.
- Se introducen dentro de cada cono 10 mosquitos de una cepa de *Anopheles* completamente susceptible, y se inserta un pedazo de algodón en la abertura del cono. Para transferir los mosquitos a los conos control, utilice un aspirador/tubo para succionar diferente.

- Después de un periodo específico de exposición (generalmente 30 minutos), saque con cuidado los mosquitos de los conos y transfiéralos a vasos separadas (y rotuladas). Cuente el número de mosquitos muertos o "noqueados" al final del periodo de exposición, pero no los saque, ya que algunos de ellos se pueden recuperar más tarde.
- Coloque un algodón humedecido arriba de los vasos, colóquelos en la caja de madera y cúbralas con una toalla húmeda.
- Después de 24 horas, cuente el número de mosquitos muertos y calcule el porcentaje de mortalidad en los vasos de expuestos y en los del control.
- Si la mortalidad en el control es entre 5% y 20%, se debe corregir la mortalidad de exposición utilizando la fórmula de Abbott, descrita anteriormente. Si la mortalidad es mayor de 20%, descarte los resultados.
- Para cada tipo de pared evaluada, el experimento se debe repetir sobre diferentes paredes en la misma casa y también en diferentes casas para tener una muestra representativa.

Eficacia residual de un insecticida en los mosquiteros

El procedimiento del bioensayo para mosquiteros tratados con insecticidas es similar al procedimiento utilizado para paredes rociadas, excepto que los mosquitos se exponen solo por tres minutos en grupos de 5 mosquitos por cono. Se colocan dos conos en cada lado y uno en la parte superior del mosquitero, a diferentes alturas. Como control, se colocan dos conos en un mosquitero no tratado. Los conos para la exposición se pueden fijar al mosquitero utilizando hules (Fig. 28). La prueba se puede hacer también bajando el mosquitero y estirando una sección sobre un pedazo de cartón.

Figura 28. Bioensayo de conos de la OMS en un mosquitero tratado con insecticida

Anexo I Ejemplo de un Currículo de Capacitación y Agenda para un Curso Entomológico Básico para Técnicos

Introducción

La malaria continúa siendo una causa importante de enfermedad y mortalidad infantil en regiones tropicales del mundo. Esta enfermedad limita severamente el desarrollo económico, siendo una causa importante de pobreza en la mayoría de países endémicos para esta enfermedad. A pesar que ha habido un marcado aumento en el financiamiento para el control de la malaria, los objetivos para la reducción de la enfermedad, establecidos por la iniciativa Hacer Retroceder la Malaria y los Programas Nacionales de Control de la Malaria, todavía permanecen sin alcanzarse en muchos países. Esto se debe en gran parte a la falta de capacidad para generar un conocimiento adecuado de la eco-epidemiología local de la enfermedad para informar al programa de implementación y manejo. En particular, la capacidad para el monitoreo y vigilancia entomológica todavía es rudimentaria. Existe una necesidad urgente de que los Programas Nacionales de Control de la Malaria logren un número adecuado de personal capacitado para participar efectivamente en las actividades de control.

Objetivo de la capacitación

El curso pretende apoyar los esfuerzos del programa nacional de control de la malaria (PNCM) para crear una masa crítica de personal capacitado a nivel regional, en la vigilancia y monitoreo, para guiar las intervenciones de control de los vectores de la malaria. La capacitación proporcionará el conocimiento básico a los técnicos entomológicos en cuanto al rol del control vectorial en el control de la malaria, la biología y control de mosquitos vectores, así como competencia en la aplicación de metodologías para la vigilancia y monitoreo de los vectores de la malaria.

Audiencia a la que se dirige

El curso va dirigido a personal a nivel distrital en países endémicos para malaria quienes generalmente organizan los equipos que colectan y reportan los indicadores entomológicos, en apoyo a los programas de control vectorial. Este personal generalmente tendrá un nivel de educación secundaria o un diploma en un área que se presta a la capacitación en entomología.

Estructura del curso

El curso está organizado en 10 unidades de aprendizaje. Cada unidad incluye clases teóricas, prácticas y teórico-prácticas (T-P). El curso está diseñado para tres semanas pero se puede acortar a dos semanas, dependiendo de las necesidades del país. Las primeras dos semanas están dedicadas a las unidades de aprendizaje. Las clases teóricas se concentrarán en la primera semana y las prácticas y T-P en la segunda semana. La tercera semana estará dedicada a demostraciones de herramientas y métodos para el control vectorial, clases de revisión y discusión general, y evaluaciones de estudiantes y del curso.

Evaluación del curso

El curso iniciará con una pre-evaluación que permitirá refinar el alcance del curso para alcanzar el objetivo del curso de una mejor manera. Al final del curso los estudiantes deberán responder una prueba final para evaluar la adquisición de conocimiento nuevo y un cuestionario confidencial para evaluar la calidad del curso en sus diferentes componentes.

Contenidos del curso

Todas las áreas que serán cubiertas en la capacitación están detalladas a profundidad en el *Manual para la Capacitación de Técnicos Entomológicos* (nivel básico). El manual servirá como documento básico para guiar la capacitación. En la Tabla 1 se presenta el propósito y contenido principal de cada unidad de aprendizaje

Agenda del curso

En la Tabla 2 se muestra una propuesta de agenda para el curso básico de 3 semanas. Esta agenda es flexible y dependerá de la logística del lugar y de los requerimientos de quienes reciben el curso (programas nacionales).

Tabla A-1. Objetivo y contenido de las unidades de aprendizaje

Unidad	Título	Objetivos	Contenidos	Clases
1	Control de la malaria y el rol de la entomología	Al finalizar esta unidad, los estudiantes serán capaces de identificar el rol de control vectorial en los programas de control de la malaria, las principales herramientas disponibles para el control vectorial y los principios básicos para su implementación.	• Enfoques básicos para el control de la malaria • Herramientas para el control vectorial • Control vectorial y principios para su implementación efectiva • Principios básicos de planificación de control de los vectores de la malaria	Clases teóricas Clases prácticas: demonstración de las principales herramientas para el control vectorial (mosquiteros, rociado residual, larvicidas)
2	Biología de los vectores de la malaria	Al finalizar esta unidad, los estudiantes habrán aprendido las principales características del ciclo de vida de un mosquito y los principales rasgos biológicos, ecológicos y de comportamiento que afectan la capacidad de un mosquito para transmitir la malaria.	• Ciclo de vida del mosquito *Anopheles* • Principales características bio-ecológicas de importancia médica	Clases teóricas Clases prácticas: demonstración de los diferentes estadios en el ciclo de vida en el insectario
3	Anatomía e identificación del mosquito	Al finalizar esta unidad, los estudiantes serán capaces de distinguir morfológicamente los mosquitos *Anopheles*, vectores de la malaria humana, de mosquitos culícidos, que no transmiten la malaria humana.	• Principales características morfológicas de los mosquitos (Diptera: Culicidae) • Distinguir entre *Anopheles* (sub-familia Anophelinae) y otros culícidos (sub-familia Culicinae) en estadios inmaduros y adultos	Clases teóricas Clases prácticas: Identificación de las principales características que distinguen a los mosquitos, identificación morfológica de *Anopheles* sp.
4	Diversidad de los vectores de la malaria v	En la mayoría de regiones endémicas, la transmisión de malaria es mantenida por varias especies de mosquitos vectores y, en algunas ocasiones, diferentes sub-poblaciones. Al finalizar esta unidad, los estudiantes habrán adquirido información respecto a la complejidad de los sistemas vectoriales en la naturaleza.	• Distribución geográfica de los vectores de la malaria, diversidad de hábitats y adaptación ecológica • Concepto de complejo de especies crípticas • Descripción del complejo de *Anopheles gambiae* y el grupo de *Anopheles funestus*	Clases teóricas Clases prácticas: Introducción a las claves taxonómicas y su uso para adultos y larvas.
5	Colecta de mosquitos (Larvas)	Al finalizar esta unidad, los estudiantes serán capaces de realizar el muestreo de larvas dentro del marco de encuestas entomológicas para el monitoreo de los mosquitos	• Razones de los estudios de larvas • Rango de hábitats larvarios y factores que afectan la producción de adultos en hábitats acuáticos • Métodos de muestreo, conservación y procesamiento de muestras • Factores ambientales que se registran comúnmente • Manejo y análisis de datos	Clases teóricas Clases prácticas: Muestreo e identificación de larvas y pupas de mosquito
6	Colecta de mosquitos (Adultos)	Al finalizar esta unidad, los estudiantes estarán capacitados para realizar el muestreo de adultos dentro del marco de encuestas entomológicas para el monitoreo de los mosquitos	• Tipos de encuestas de mosquitos • Métodos de colecta de mosquitos adultos (atracción humana; captura de barrido con piretro; en reposo en peridomicilio; colecta por trampa de salida; captura manual/aspiración	Clases teóricas Clases prácticas: Muestreo de adultos utilizando diferentes técnicas y procesamiento de muestras.

Unidad	Título	Objetivos	Contenidos	Clases
7	Preparación y almacenamiento de muestras de mosquitos	Al finalizar esta unidad, los estudiantes serán capaces de decidir respecto a qué métodos es correcto aplicar para manipular y almacenar muestras de mosquitos a ser utilizadas en análisis posteriores de laboratorio.	• Principales técnicas de laboratorio en entomología de malaria (identificación morfológica, disecciones, ELISA, citogenética, análisis molecular basado en ADN/ARN) • Preparación de muestras para diferentes técnicas • Material y equipo necesario	Clases teóricas Clases prácticas: Preparación de muestras de mosquitos para ELISA de ingesta sanguínea y análisis basado en el ADN
8	Índices de transmisión de malaria y factores que afectan la transmisión	Al finalizar esta unidad, los estudiantes tendrán el conocimiento acerca de los principales factores que afectan la transmisión de la malaria. Habrán aprendido cómo obtener información biológica para la incriminación de vectores y para calcular los índices de transmisión. También serán capaces de calcular e interpretar los índices entomológicos y epidemiológicos básicos utilizados para establecer los niveles de transmisión.	• Determinar qué mosquitos transmiten la malaria (incriminación vectorial) • Técnicas seleccionadas de incriminación vectorial • Estimación de los índices de transmisión, incluyendo densidades intradomiciliares en reposo, tasas de picadura en humanos, preferencia por el tipo de hospedero; hábito de reposo después de la ingesta sanguínea; tasas de inoculación entomológica (EIRs) • Factores que afectan la transmisión de malaria	Clases teóricas Clases prácticas: determinación de ingesta sanguínea y etapa del desarrollo ovárico; demostración de disección de mosquitos e identificación de glándulas salivares y ovarios. Clases T-P: cálculo de índices de transmisión utilizando resultados de muestreo en campo
9	Aspectos esenciales de la crianza de colonias de mosquitos en el insectario	Al finalizar esta unidad, los estudiantes habrán adquirido información respecto a los requerimientos de un insectario y los principales pasos a realizar para establecer y mantener colonias de mosquitos, así como su utilidad para monitorear a los vectores de malaria	• Insectario y su operación básica • Condiciones necesarias para la crianza de mosquitos: huevo, larva, pupa y adulto	Clases teóricas Clases prácticas: Colecta en campo de mosquitos silvestres para establecer una colonia en un insectario básico
10	Susceptibilidad a insecticidas y prueba de bioensayo en pared	Al finalizar esta unidad, los estudiantes estarán capacitados para realizar bioensayos para determinar la susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de mosquitos y para ralizar bioensayos para evaluar la eficacia residual de superficies tratadas con insecticidas (paredes y mosquiteros).	• Razones para determinar la susceptibilidad de los vectores y eficacia residual de insecticidas • Prueba de la OMS: susceptibilidad de mosquitos adultos a los insecticidas • Prueba de la OMS: eficacia residual de insecticidas en superficies rociadas • Prueba de la botella CDC para susceptibilidad	Clases teóricas Clases prácticas: demostración y práctica en el campo sobre pruebas de susceptibilidad y bioensayo en pared

Tabla A-2. Agenda del curso (semana 1)

Hora	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
9:00 AM	Ceremonia de apertura	Principales Medidas de Intervención para el Control Vectorial (Unidad 1; T)	Incriminación Vectorial (Unidad 8; T)	Preparación y almacenamiento de muestras de mosquitos (Unidad 7; T)	Datos e Interpretación
9:30 AM					
10:00 AM	Objetivos del Curso				
10:30 AM	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*
11:00 AM	Pre-prueba	Principios Básicos de Planeación del Control de la Malaria (Unidad 1; T)	Encuestas de Mosquitos (larvas) (Unidad 5; T)	Justificación para Determinar la Susceptibilidad a Insecticidas (Unidad 10; T)	Establecimiento & Mantenimiento de Colonias de Mosquitos (Unidad 9, T)
11:30 AM					
12:00 PM	*Almuerzo*	*Almuerzo*	*Almuerzo*	*Almuerzo*	
12:30 PM					*Almuerzo*
1:00 PM	Biología de los Vectores de la Malaria (Unidad 2; T)	Identificación de Mosquitos (Unidad 3; T)	Encuestas de Mosquitos (Adultos) (Unidad 6; T)	Tipos de Pruebas Disponibles de la OMS & CDC (Unidad 10; T)	
1:30 PM					Colecta y Transporte de Larvas y Mosquitos Adultos para el Insectario (Unidad 9, P)
2:00 PM				Practica Bioensayos OMS, Prueba de Conos y/o Prueba de la Botella CDC (Unidad 10, P)	
2:30 PM	Principios Básicos del Control de la Malaria (Unidad 1; T)	Diversidad de los Vectores de la Malaria (Unidad 4; T)			
3:00 PM					*Receso para café*
3:30 PM	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*	Procedimientos Operacionales Estandarizados para el Mantenimiento de una Colonia (Unidad 9, T-P)
4:00 PM	El Papel de la Entomología en el Control de la Malaria (Unidad 1; T)	Diversidad de los Vectores de la Malaria (Unidad 4; T)	Estimación de los Parámetros de Transmisión de la Malaria (Unidad 8; T)	Practica Bioensayos OMS, Prueba de Conos y/o Prueba de la Botella CDC (Unidad 10, P)	
4:30 PM					
5:00 PM					

T: clase teórica; T-P: clases teórico-prácticas; P: prácticas

Tabla A-2. Agenda del curso (semana 2)

Time	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
6:00 AM		Viaje de Campo (Identificación de criaderos y muestreo de larvas) (Unidad 5, P)		Colecta por Rociado con Piretro (Unidad 6, P)		
8:00 AM						
8:30 AM				Procesamiento de Mosquitos (Unidades 3&7, P)		
9:00 AM	Organizando las Actividades de Campo & lo Esencial (Unidades 5 & 6, T-P)		Procesamiento de Muestras de HLC y LTC (Unidades 3&7, P)		Encuesta de Larvas (Unidad 5, P)	Procesamiento de Muestras de HLC and LTC (Unidades 3&7, P)
9:30 AM						
10:00AM				Capturas de ORC &Trampa de Salida (Unidad 6, P)		
10:30AM	*Receso para café*					*Receso para café*
11:00 AM	Hábitats de Crianza y Control Larvario (Unidades 1&2, T)	Mosquito identificación (larvas) (Unidad 3, P)		*Almuerzo*		Procesamiento de Muestras de HLC and LTC (Unidades 3&7, P)
11:30 AM						
12:00 PM	*Almuerzo*		*Almuerzo*			
12:30 PM		*Almuerzo*			*Almuerzo*	*Almuerzo*
1:00 PM	Reporte de Datos, Manejo y Utilización (Unidades 5&6, T)		Calculo de Parámetros de la Transmisión de Malaria (Unidad 8, P)			
1:30 PM		Identificación de Mosquitos (adultos) (Unidad 3, P)		Procesamiento de Mosquitos (Unidades 3&7, P)	Mosquito identificación (larvas) (Unidad 3, P)	
2:00 PM						Calculo de Parámetros de la Transmisión de Malaria (Unidad 8, P)
2:30 PM						
3:00 PM	*Receso para café*					
3:30 PM	Identificación de Mosquitos (Unidad 3 y 4; T)		*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*	
4:00 PM		*Receso para café*	Calculo de Parámetros de la Transmisión de Malaria (Unidad 8, P)	Análisis y Manejo de Datos (Unidad 8, P)	Manejo de Datos (Unidad 8, P)	
4:30 PM		Preparación para Capturas por atracción humana & Trampa de Luz (LTC) (Unidad 6, P)			Preparación para Capturas por atracción humana & Trampa de Luz (LTC) (Unidad 6, P)	*Receso para café*
5:00 PM			Preparación para PSC (mañana siguiente) (Unidad 6, P)			Calculo de Parámetros de la Transmisión de Malaria (Unidad 8, P)
5:30 PM		*Cena*			Cena	
7:00 PM		Capturas por atracción humana & Trampa de Luz (LTC) (Unidad 6, P)			Capturas por atracción humana & Trampa de Luz (LTC) (Unidad 6, P)	
10:00 PM						

T: clase teórica; T-P: clases teórico-prácticas; P: prácticas

Tabla A-2. Agenda del curso (semana 3)

Time	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
9:00 AM	Practica Bioensayo de la OMS (Unidad 10, P)	Demonstración Herramientas/Métodos de Control Vectorial	Repaso de Teoría	Evaluación de Estudiantes (prueba)
9:30 AM				
10:00 AM				
10:30 AM	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*
11:00 AM	Practica Bioensayo de la OMS (Unidad 10, P)	Demonstración Herramientas/Métodos de Control Vectorial	Repaso de Teoría	Evaluación del Curso
11:30 AM				
12:00 PM				
12:30 PM	*Almuerzo*	*Almuerzo*	*Almuerzo*	*Almuerzo*
1:00 PM				
1:30 PM	Practica Prueba de la Botella CDC (Unidad 10, P)	Demonstración Herramientas/Métodos de Control Vectorial	Discusión de las Practicas	Evaluación del Curso
2:00 PM				
2:30 PM				Ceremonia de Clausura
3:00 PM				
3:30 PM				
4:00 PM	*Receso para café*	*Receso para café*	*Receso para café*	
4:30 PM	Practica Bioensayo de Conos (Unidad 10, P)	Demonstración Herramientas/Métodos de Control Vectorial	Discusión de las Practicas	
5:00 PM				

T: clase teórica; T-P: clases teórico-prácticas; P: prácticas

Anexo II Ejemplos de Formularios de Recopilación de Datos para las Encuestas de Larvas y Mosquitos Adultos

A. FORMULARIO DE COLECTA DE DATOS PARA ENCUESTAS DE LARVAS

A.1. Identificación de sitios de colecta

Región/distrito..... **Localidad**.....

Coordenadas geográficas:

- **Latitud**.....
- **Longitud**.....

A.2. Caracterización de los criaderos

Tipo

- **Permanente** ☐ **Semi-permanente** ☐ **Temporal** ☐

Origen del agua (p.ej. lluvia, río, laguna, hecho por el hombre).....

Naturaleza del agua colectada (p.ej. charco, arrozales, dique).....

Características del agua (p.ej. clara, turbia, contaminada, oscura).....

- **Temperatura**..... **pH**.....

Exposición al sol

- **Sombreado** ☐ **Parcialmente sombreado** ☐ **Soleado** ☐

Presencia de vegetación (emergente, inmersa, flotante).

- **Emergente** ☐ **Inmersa** ☐ **Flotante** ☐

A.3. Descripción del muestreo

Tiempo de muestreo (min)..... **Número de inmersiones**.....

Presencia de larvas

- **Anofelinos** ☐ **Culícidos** ☐ **Negativos** ☐

A.4. Notas

.....

.....

Fecha..... **Hora de colecta**.....

Nombre del técnico.....

B. FORMULARIO PARA COLECTA DE DATOS PARA ENCUESTASE DE ADULTOS

B.1. Identificación del sitio de colecta

Región/distrito..... **Localidad**.....

Coordenadas geográficas:

- **Latitud**.....
- **Longitud**.....

B.2. Tipo de colecta

Captura por atracción humana: **Intradomiciliario** ☐ **Peridocimicioomicilio** ☐

Captura de en reposo: **Intradomiciliario** ☐ **Peridomicilio** ☐

Captura de barrido con piretro ☐ **Trampa de salida** ☐

Otro.....

B.3. Características del sitio de captura

Captura Intradomiciliaria

- **Tipo de casas y material de construcción**.....
- **Número de habitaciones**..... **Número de divisiones**.....
- **Número de personas que durmieron en la casa la noche anterior:**
  - **Con mosquitero**..... **Sin mosquitero** .....
- **Tipo de mosquitero**
  - **No impregnado** ☐ **Impregnado** ☐ **MILD** ☐
- **Fecha de la última vez que la casa fue rociada con insecticida**.....

Tipo y características de la colecta fuera de la casas (p.ej. albergue de animales, vegetación).....
.....

B.4. Descripción del muestreo

Hora de colecta..... **Tiempo de duración**..... **Nº de técnicos**.....

Presencia de mosquitos adultos

- **Anofelinos** ☐ **Culícidos** ☐ **Negativos** ☐

B.5. Notas

.....

.....

Nombre del técnico..... **Fecha**.....