

Evaluación de tres métodos para recolección de pupas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en criaderos artificiales

Milena B. Mazzarri^{1*}, Marco F. Suárez², Carmen Escalante de Ugueto¹, Mayeli Hernández¹, William Anaya¹, Julio González¹ & Enrique Sánchez¹

La evaluación de la abundancia de pupas es una herramienta de gran importancia que nos da información en relación al criadero-riesgo, aportando estimaciones de poblaciones adultas de *Ae. aegypti*. Con miras a determinar la productividad de criaderos del vector, se evaluaron tres métodos de muestreo para la recolección de pupas en recipientes que almacenan agua (pipotes de 200 litros) para consumo humano. Los métodos: trampa embudo (TE), balón de vidrio (BV) y aro colador (AC), fueron replicados entre 10 y 5 pipotes por día, para un total de 6 días. La TE tuvo un periodo de observación de 24 horas/ pipote, mientras que un promedio de tres colectas/día/pipote fueron realizadas para el BV y AC. Fueron sembradas 100, 50 y 10 pupas en los pipotes y se evaluó su recuperación a través de los métodos descritos, los valores medios de recuperación y el porcentaje de efectividad fue medido. En la siembra de 100 pupas, los valores medios de recuperación fueron: TE= 17.5, BV= 86.6 y AC= 93.7. Para 50 y 10 pupas sembradas se obtuvieron valores de TE= 7.9 y 1.8, BV= 46.2 y 8.8, AC= 45.6 y 9.1, respectivamente. Diferencias significativas entre los métodos ($p < 0.0001$) fueron observadas para cada una de las siembras evaluadas. El porcentaje de efectividad relacionado con el número de pupas recuperadas fue: TE=17.5%, 15.9% y 18%, BV= 86.6%, 92.4% y 88.3% y AC=93.7%, 91.3% y 90.6%, para 100, 50 y 10 pupas sembradas, respectivamente. Se observó consistencia para cada método en los porcentajes de recuperación. El AC fue más efectivo en la recuperación con 100 pupas (93.7%) y 10 pupas (90.6%) al compararlo con el BV (86.6% y 88.3%), observándose consistencia en los valores para 50 pupas. A la luz de los resultados obtenidos, el método de AC se podría considerar como una herramienta útil para el muestreo de pupas a ser incorporada en la vigilancia entomológica de campo, facilitando la evaluación de los criaderos para optimizar las operaciones de control vectorial.

Palabras claves: *Aedes aegypti*, pupas, métodos de recolección, muestreo.

INTRODUCCION

El dengue y dengue hemorrágico representa un problema de Salud cada vez más grave para los países de la Región de Las Américas, donde el 45% de la población vive en zonas endémicas. Cada año se producen alrededor de 50 millones de infecciones por dengue con 500.000 casos de dengue hemorrágico (DH), esto equivale a un caso de DH cada minuto que transcurre (Parks & Lloyd, 2003). Dengue y DH ha sido

reportada en Venezuela desde 1989 (Coello & Mazzarri, 1990), convirtiéndose en una endemia permanente presente en todos los estados del país, hasta la fecha presenta un reporte total 20.323 casos de dengue / dengue hemorrágico, con un 6.3% (1278 casos) de DH (MSDS, 2005).

Aedes aegypti es el principal vector reconocido como responsable de la transmisión de dengue y dengue en su manifestación hemorrágica. Está ampliamente distribuido en la mayoría de las áreas urbanas donde utiliza recipientes de gran diversidad como criaderos y las hembras adultas se alimentan casi exclusivamente de sangre humana. Su fácil adaptación a las condiciones ambientales urbanas, le permite desarrollar su ciclo biológico en una gran variedad de recipientes tanto artificiales como naturales (Forattini & Márquez, 2000).

¹ Entomología en Salud Pública, División de Control de Vectores y Reservorios, Dirección General de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria, Ministerio de Salud, Maracay, Estado Aragua, Venezuela.

² Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud, La Paz, Bolivia.

*Autor de Correspondencia: mazzarim@telcel.net.ve

Sin embargo, es más común encontrarlo en recipientes (grandes o pequeños) que contengan agua para el consumo humano tanto dentro como en los alrededores de las viviendas (Christopher, 1960). Mazzarri *et al.* (2000) determinaron que los pipotes donde se almacena agua de consumo humano representan 77% de criaderos positivos en localidades con deficiente suministro de agua, así mismo, Forattini & Marques (2000) encontraron que las cajas de agua de uso domestico se corresponden con el 95% de recipientes positivos para el vector *Ae. aegypti*.

Evaluar las infestaciones del vector a través de los índices larvarios, en los actuales momentos, es la principal herramienta de vigilancia entomológica: índice a casa (IC), índice a recipiente o criadero (IR) e índice de Breteau (IB). Aun cuando, estos índices se han usado para estimar el tamaño de las poblaciones adultas de *Ae. aegypti* y el grado de infestación del vector en las comunidades (Morrison *et al.*, 2004; Chan, 1985), los índices larvarios tienen poca relación con la abundancia relativa de poblaciones de hembras del vector (Kay *et al.*, 1987; Reiter, 1992). La utilización de los índices basados en el número de pupas (índice de pupas) es considerada como una aproximación de mayor exactitud al estimar el número de adultos presentes en el área de estudio. Focks & Chadee (1997) han demostrado que los criaderos con presencia de pupas son responsables de una producción de > 90% de *Ae. aegypti*. El cálculo de la emergencia del vector, para estimar la población de hembras adultas, a través de la estimación de pupas presentes en el criadero, es el valor más representativo de la cantidad de adultos a emerger. Seleccionar un mecanismo efectivo para el muestreo de pupas en los criaderos más frecuentes, es un factor epidemiológico importante en virtud de que con ello se estima el riesgo de la transmisión por la presencia potencial de adultos del vector en un área determinada.

Siendo los pipotes (recipientes de 200 litros), los criaderos con mayor presencia en las viviendas que adolecen de un suministro continuo de agua en la ciudad de Maracay, estado Aragua, se evaluaron cuantitativamente la eficacia de tres métodos para la recolección de los estadios inmaduros conocidos como pupas. Este estudio se efectuó en el marco de facilitar una metodología rápida, de bajo costo y cuantificable para el muestreo de pupas que permita la vigilancia entomológica de *Ae. aegypti* en los programas de control vectorial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Métodos de recolección

Se evaluaron tres métodos de muestreo para la recolección de pupas de *Ae. aegypti* en recipientes que almacenan agua para consumo humano (pipotes de 200 litros).

A. Trampa embudo (TE). Este equipo actúa en forma pasiva. La trampa embudo (Kay *et al.*, 1992; Gionar *et al.*, 1999) se utilizó con algunas modificaciones: un embudo plástico de 20 cm de diámetro, una botella de plástico de un litro de capacidad con tapa removible y un aro de metal, cuyo peso oscila entre 200 y 250 gr, ubicado con un cordón en el cuello del embudo (Fig. 1).



Fig. 1. Método de recolección Trampa embudo (TE)

B. Balón de vidrio (BV). Consiste en un balón de vidrio (reservorio), de un litro de capacidad conectado a dos extremos. Un extremo va unido a través de una manguera, a un tubo de vidrio de 40 cm que sirve para la recolección de las pupas dentro del agua contenida en los pipotes. El otro extremo del balón se une a una manguera que sirve para la succión de las pupas al recipiente (reservorio) (Fig. 2).

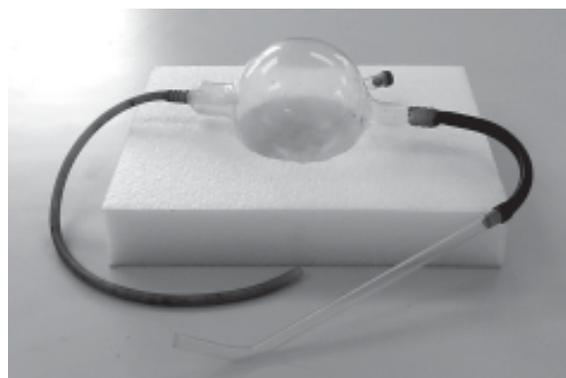


Fig. 2. Método de recolección Balón de Vidrio (BV)

C. Aro colador (AC). Este consiste en un aro metálico de 33 cm de diámetro, al cual va sostenida, en forma de embudo, un cedazo de tela de organza de 60 cm de profundidad. El aro esta conectado a un brazo de metal de 77 cm de largo lo que permite su fácil manipulación en el interior de los pipotes para la recolección de pupas (Fig.3).



Fig. 3. Método de recolección Aro Colador (AC)

Área de trabajo

El estudio se realizó en Maracay, Venezuela (10° 16' 14" N, 67° 34' 52" W), en el Laboratorio de Entomología en Salud Pública, Dirección de Vigilancia Epidemiológica, MSDS, a una temperatura promedio de 28 °C y una temperatura de agua promedio de 25 °C. Las evaluaciones se realizaron en horas de la mañana (8:00 a 11:00 am). El material biológico (pupas) provenía de cepas de *Ae. aegypti* criadas en el laboratorio, de las cuales se obtenían 3000 pupas promedio/día para ser colocadas en los pipotes que contenían agua limpia.

Metodología

Cantidades preestablecidas de pupas se evaluaron para los tres métodos: 100 pupas/recipiente, 50 pupas/recipiente y 10 pupas/recipiente. La siembra

de 100 pupas fue realizada en 10 pipotes/día por seis días, para un total de 60 observaciones. La siembra de 50 y 10 pupas fue realizada en 5 pipotes/día por seis días, con un total de 30 observaciones para cada siembra. Las pupas se reemplazaban diariamente para cada método empleado, esto con la finalidad de evitar el posible maltrato de las mismas durante la realización de las pruebas. Las pupas que durante su manipulación sufrieron cualquier daño, eran eliminadas y sustituidas por nuevas. El volumen final de agua en los pipotes durante la realización de las pruebas varió entre 190-196 litros. El número total de estadios inmaduros utilizados fue de 21.400 pupas, para cada densidad pupal las cantidades oscilaron entre 900 y 18.000 (Tabla I).

Trampa embudo: Para su utilización el reservorio fue llenado de agua hasta un punto medio de su capacidad. Al contacto con el agua, el peso del metal invierte la trampa colocándola en posición invertida y el aire dentro de la botella de plástico permite que la trampa flote en la superficie del agua mientras que las formas inmaduras del vector se mueven a lo largo de la columna de agua y penetran en el embudo invertido hasta la botella de plástico. Las pupas seleccionadas fueron sembradas en los pipotes (200 litros) y al cabo de 5 minutos se introdujo la TE. Esto con la finalidad de lograr una aclimatación de las pupas. A las 24 horas se retiraba la TE del agua y se procedía a contar el número de pupas que entraron en la botella de plástico.

Balón de vidrio: Una vez colocadas las pupas en los pipotes, se esperaban cinco minutos (estabilización), se procedía a succionar por la manguera y las pupas fueron recolectadas a través del tubo de vidrio hacia el reservorio. Cuando se completaba su capacidad, se vaciaba el contenido del balón en una bandeja de plástico donde se contaban las pupas recolectadas. Se estableció el parámetro de tres pases por cada pipote.

Tabla I. Total de pupas de *Ae. aegypti* utilizadas en los ensayos sobre evaluación de métodos de recolección en relación a diferentes densidades de pupas sembradas en los pipotes (200 litros).

Métodos de recolección	Total 100 pupas sembradas	Total 50 pupas sembradas	Total 10 pupas sembradas	Totales por cada método
Trampa Embudo (TE)	6000	1500	300	7800
Balón de Vidrio (BV)	6000	1500	300	7800
Aro Colador (AC)	6000	1500	300	7800
Total	18000	4500	900	21400

Aro colador: Colocadas las pupas en los pipotes, después de 5 minutos, el AC era introducido lentamente en forma lateral hasta el fondo. Se le hacía girar, hasta formar un remolino con la columna de agua y subiendo lentamente por la misma, de manera que el mayor volumen de agua pasara a través de la organza recolectando los estadios inmaduros. Después de cada pase, la organza era lavada sobre una bandeja de plástico y los estadios inmaduros recolectados se contaron. Se estableció el parámetro de tres pases por cada pipote. Los datos fueron analizados por medio de pruebas de ANOVA (Tukey HSD test de comparación de medias). Se evaluó las diferencias entre cada método empleado a través de la significancia de medias obtenidas para el número de pupas recuperadas, así mismo, se evaluó la sensibilidad del método basándose en los porcentajes de efectividad a diferentes siembras de pupas.

RESULTADOS

Se evaluó la efectividad (porcentaje de recuperación) de los estadios inmaduros (pupas) una vez que fueron colocados en los pipotes (200 litros) con agua. Los resultados obtenidos cumplían para cada una de las densidades de pupas, cumplen con los parámetros de normalidad de Shapiro-Wilk ($W = 0.78-0.80$, $p < 0.05$) y de heterogeneidad de varianzas de Bartlett ($\chi^2 = 1.67-5.72$, $p > 0.05$). Por lo tanto, se realizó el análisis de comparación de medias de cada tratamiento para la recuperación de pupas a cantidades preestablecidas, utilizando ANOVA.

En la Tabla II se comparan las medias obtenidas de las pupas recuperadas, variable importante en la determinación de las poblaciones de adultos de *Ae. aegypti*, para cada método y a diferentes densidades pupales. Se observaron diferencias significativas cuando la siembra fue de 100 pupas ($p < 0.0001$), para los tres métodos de TE (17.5 ± 9.9), BV (86.6 ± 10.5) y AC (93.7 ± 8.9), sin embargo, no se obtuvo diferencias significativas ($p > 0.05$) para la siembra de 50 pupas, entre el BV (46.2 ± 3.7) y el AC (45.6 ± 4.8), similar comportamiento se obtuvo con la siembra de 10 pupas para ambos métodos. La TE resultó altamente significativa en comparación con el BV y el AC para 50 y 10 pupas sembradas ($p < 0.0001$). Estrechos rangos de los intervalos de confianza para los métodos evaluados dan indicios de obtener con 95% de probabilidad, valores similares a las medias obtenidas, en condiciones experimentales de campo. El porcentaje de efectividad relacionado con el número de pupas recuperadas, para cada método fue: TE=17.5% ($n = 1051$), 15.9% ($n = 239$) y 18% ($n = 54$); BV= 86.6% ($n = 5200$), 92.4% ($n = 1386$) y 88.3% ($n = 265$) y AC=93.7% ($n = 5622$), 91.3% ($n = 1370$) y 90.6% ($n = 272$), para 100, 50 y 10 pupas sembradas, respectivamente. Los valores muestran consistencia para cada método, sin embargo, se observó que tanto para el BV como para el AC el porcentaje de efectividad (recuperación de pupas) disminuye en la medida que se reducen los estadios inmaduros en el criadero (Fig. 4). Comparando la TE con los otros dos métodos, se observa una menor efectividad en la recuperación de las pupas sembradas, la cual posiblemente va relacionada con la movilidad

Tabla II. Valores promedio e intervalos de confianza al 95% para el número de pupas de *Ae. aegypti* recuperadas con tres métodos de recolección, en relación a la siembra de 100, 50 y 10 pupas.

Método de recolección	100 pupas ¹	50 pupas ²	10 pupas ²
	Media \pm DE* (IC** al 95%)	Media \pm DE* (IC** al 95%)	Media \pm DE* (IC** al 95%)
Trampa Embudo (TE)	17.5 \pm 9.9 a (14.8-20.1)	7.96 \pm 4.1 a (6.41-9.52)	1.80 \pm 1.6 a (1.19-2.40)
Balón de Vidrio (BV)	86.6 \pm 10.5 b (83.8-89.3)	46.2 \pm 3.7 b (44.8-47.6)	8.83 \pm 1.8 b (8.14-9.52)
Aro Colador (AC)	93.7 \pm 8.9 c (91.4-96)	45.6 \pm 4.8 b (43.8-47.5)	9.1 \pm 1.1 b (8.62-9.50)

Medias en las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (ANOVA, $p > 0.05$)

*DE= desviación estándar

**IC= Intervalos de confianza al 95%

¹10 replicas/días para un total de 6 días ²5 replicas/día para un total de 6 días

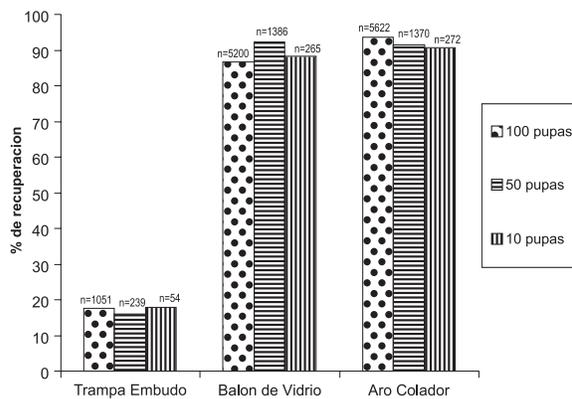


Fig. 4. Efectividad de los métodos de muestreo para cantidades preestablecidas de pupas.

de los estadios inmaduros a lo largo de la columna de agua.

DISCUSION

Según observaciones realizadas por Tun-Lin *et al.* (1996) y Focks & Chadee (1997) los índices larvales a casa, deposito y Breteau, presentan deficiencias en la estimación de poblaciones adultas de *Ae. aegypti*. Por lo tanto, se requiere priorizar las operaciones de control estimando las poblaciones de adultos basados en índices que reflejen realmente la productividad de cada uno de los criaderos. Estudios realizados por Focks *et al.* (1981), Focks & Chadee (1997), Focks (2003), entre otros, obtuvieron positiva correlación entre el conteo de pupas y la productividad del criadero estudiado. A la luz de estas observaciones, se considera que a través de la estimación de los índices pupales, con metodologías rápidas y directas en los criaderos “tipos” presentes en todas las casas, se podrían obtener estimaciones de la abundancia de adultos hembras y evaluar el riesgo de transmisión de dengue. Para tal fin, se evaluaron en condiciones controladas y con cantidades conocidas de pupas, tres métodos para estimar la sensibilidad que cada uno tiene en la recuperación de pupas en los criaderos (pipotes 200 litros) más comunes en las comunidades de Maracay, estado Aragua (Mazzarri *et al.*, 2000).

Para una estimación cuantitativa, los resultados obtenidos muestran que los estadios pupales pueden ser evaluados más efectivamente con los métodos de balón de vidrio (BV) y aro colador (AC). Sin embargo, los valores para porcentaje de efectividad para cada uno de los métodos, mostraron consistencia entre ellos.

Las medias del número de pupas recuperadas, indican que la trampa embudo (TE) reporta una menor captación, posiblemente debido a su condición de método pasivo donde la movilidad de las pupas juega un papel fundamental. Metodología similar a la TE conocida como Vietrap, ha reportado ser sensible en la detección de larvas de *Ae. aegypti* en pozos de aguas subterráneas (Russel & Kay, 1999). El presente trabajo obtuvo resultados similares muestreando los estadios pupales. Esto implica que podría ser factible su utilización tanto para larvas como para las pupas sin olvidar, que la movilidad de la larva juega un papel importante cuando se trata de métodos de recolección pasivos, como es la TE. Las estimaciones porcentuales para la TE presentan valores similares a las diferentes siembras de pupas, las cuales van en el rango de 15 a 18%. Con esta misma metodología Gionar *et al.* (1999), obtuvieron resultados similares al explorar pozos subterráneos con densidades bajas de estadios inmaduros. Aun cuando esta metodología se ha empleado para la captura de estadios larvales basándose en la movilidad de las mismas, los resultados obtenidos no difieren grandemente cuando comparamos el porcentaje de recuperación de las pupas obtenidas.

Los métodos BV y AC evaluados, dieron resultados de captura de inmaduros superior a 80% para las diferentes siembras pupales realizadas. Los valores obtenidos de recuperación (porcentaje de efectividad) de pupas para el BV oscilaron entre 86.6 y 92.4%, mientras que para el AC los valores obtenidos están entre 93.7 y 90.6% de recuperación de pupas. Siendo ambos métodos activos en la búsqueda de los estadios inmaduros, el AC fue mas efectivo en la recuperación con 100 pupas (93.7%) al compararlo con el BV (86.6%) y 10 pupas (AC=90.6, BV=88.3), observándose consistencia en los valores de recuperación para 50 pupas. Estos métodos podrían decirse son adaptaciones de las técnicas “dipping” (AC) y “sweeping” (BV) utilizadas por Tun-Lin *et al.* (1994), donde se obtuvieron valores entre un 94 y 72% de detección de estadios inmaduros en la superficie del agua, valores similares fueron obtenidos para los métodos evaluados entre 86.6% y 93.7%. En líneas generales, no se reportó una disminución marcada en la efectividad de los métodos, al disminuir el número de estadios en los pipotes, sin embargo, el BV y AC mostraron una variación (reducción) en el porcentaje de recuperación al reducir el numero de pupas sembradas de 10 pupas, resultados que muestran semejanzas con observaciones realizadas por Tun-Lin

et al. (1994), con estadios inmaduros de *Ae. aegypti*. Hay que acotar que las pupas son mas visibles en la superficie del agua sin perturbar y mas fáciles de capturar en comparación a otros estadios. En el estudio se observó que después de la inmersión del AC, las pupas tienden a descender y emigrar hacia los extremos del pipote, en forma ascendente y con movimientos mas vigorosos. Los estadios inmaduros en general son sensibles a cualquier variación del medio que los rodea, estímulos mecánicos, cambios en el movimiento del agua y cambios en la intensidad de la luz. De tal manera, es importante que en la captura de los mismos se empleen métodos que provoquen la menor alteración del medio. Una única inmersión con el AC podría ser mas efectiva y precisa en la captación de pupas presentes en un criadero creando un vortex con la columna de agua. Sin embargo, en su defecto esto podría arrastrar depósitos del fondo del pipote enturbiando el agua, lo que se podría traducir en una resistencia hacia la utilización del método por los residentes de las comunidades.

En este estudio se ha comparado la factibilidad del uso de tres métodos de recolección de pupas, donde uno de ellos (TE) es pasivo y diseñado principalmente para la recolección de estadios larvales. Sin embargo, a la luz de los resultados obtenidos, consistentes con los estudios realizados por Gionar *et al.* (1999), y Russel & Key (1999), podríamos implicar su utilización en la recolección de pupas también.

Focks *et al.* (1981) estimaron la población de hembras adultas de *Ae. aegypti* a través del conteo de pupas directamente en criaderos de 0.5 a 11.9 litros. Así mismo, Focks & Chadee (1997) estimaron que criaderos tipos (entre los cuales figuran recipientes de 200 litros) contribuyen con 90% de pupas en términos de producción de *Ae. aegypti*. En los pipotes evaluados (200 litros) fue significativa la recuperación de pupas basada en la metodología utilizada, por lo que resultaría factible que a través del conteo de pupas en criaderos presentes en las casas, se podría estimar la abundancia de las poblaciones adultas de *Ae. aegypti*.

La evaluación de métodos que puedan ser incorporados en la vigilancia entomológica, capaces de suministrar información que facilita la estimación de la productividad de criaderos y la estimación de la población adulta basado en los índices de pupas, estadio con menor tasa de mortalidad, se constituyen en prioridades para la prevención y control de dengue, enfermedad endémica en nuestro medio.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a Matilde Quintero, Belkis Ruiz, Margarita Hernández y Maritza Cañizales por su valiosa cooperación en la realización de este trabajo. Este proyecto fue financiado por la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud Oficina Regional, Venezuela (OPS/OMS) y el Ministerio de Salud (MS).

SUMMARY

EVALUATION OF THREE METHODS FOR COLLECTING PUPAE OF *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) IN DRUMS.

Pupae surveillance is an important tool for containers evaluation, revealing needed information about the specific risk-container as a function of vector abundance. In order to measure the productivity of the containers, sampling methods for pupae collection were carried out in laboratory conditions in 200L-drums. As a result, three methods for collecting pupae were tested: floating funnel trap (TE), glass balloon (BV), and hoop strainer (AC). Each one of them was replicated in 10 to 5 drums/day over 6 different days. A 24-h trapping period for TE method and a mean of three collections/drum/day were done for the BV and AC methods. A number of 100, 50 and 10 pupae were released into full water drums and collected with technical devices. Mean and percentage recovery values (its effectiveness) were recorded. When releasing 100 pupae, the mean of recovery for the three methods was: TE= 17.5, BV= 86.6 and AC= 93.7. When releasing 50 and 10 pupae, the mean was: TE= 7.9 and 1.8, BV= 46.2 and 8.8, AC= 45.6 and 9.1, respectively. Among the methods, significant differences were found for different numbers of pupae released ($p < 0.0001$). The recovery percentage, based on overall pupae recovered, was: TE=17.5%, 15.9% and 18%, BV= 86.6%, 92.4% y 88.3% and AC=93.7%, 91.3% and 90.6%, for 100, 50 and 10 pupae released respectively, obtaining consistent results among them. The AC method showed a higher sensitivity (100 pupae (93.7%) and 10 pupae (90.6%)) when compared with the BV method (100 pupae (86.6%) and 10 pupae (88.3%)) Finally, in the view of these results a practical surveillance method for pupae involving sampling, such as the hoop strainer (AC), needs to be incorporated into entomological field tests in order to evaluate key containers in vector control programs.

Key words: *Aedes aegypti*, pupae, collecting methods, sampling.

REFERENCIAS

- Chan K. C. (1985). Methods and indices used in the surveillance of dengue vectors. *Mosquito-borne Dis. Bull.* **1**: 79-88
- Christopher S. R. (1960). *Aedes aegypti - The yellow fever mosquito*. Cambridge University Press, London, U.K.
- Coello D. & Mazzarri M. B. (1990). Actividades de control ejecutadas durante el brote epidémico de dengue en Venezuela, Noviembre 1989-Marzo 1990. *Bol. Dir. Mal. San. Amb.* **30**, Supl. 1: 27-35.
- Focks D. A., Sackett S. R., Baile D. L. & Dame D. A. (1981). Observations on container-breeding mosquitoes in New Orleans, with an estimate of the population density of *Aedes aegypti* (L.). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **30**: 1329-1335.
- Focks D. A. & Chadee. D. D. (1997). Pupal survey: an epidemiologically significant surveillance method for *Aedes aegypti*: an example using data from Trinidad. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **56**: 159-167
- Focks D. A. (2003). A review of Entomological Sampling Methods and Indicators for Dengue Vectors. World Health Organization. WHO document. www.ID-Analysis.com
- Forattini O. P. & Márquez G. R. A. M. (2000). Nota sobre o encontro de *Aedes aegypti* em bromelias. *Rev Saúde Publica.* **34**: 543-544
- Gionar Y. R., Rusmiarto S., Susapto D. & Bangs M. J. (1999). Use a funnel trap for collecting immature *Aedes aegypti* and copepods from deep wells in Yogyakarta, Indonesia. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **15**: 576-580.
- Kay B.H., Barker-Hudson P., Hapgood G. D., McCurley J. O., Lyons G. C. & Ives W. (1987). *Aedes aegypti* and dengue in the Townsville area, 1982-1965. *Gen. Appli. Entomol.* **19**: 1-10
- Kay B. H., Cabral C. P., Araujo D. B., Ribeiro Z. M., Braga P. H. & Sleight A. C. (1992). Evaluation of a funnel trap for collecting copepods and immature mosquitoes from wells. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **8**: 372-375.
- Mazzarri M. B., Armada A., Mazzarri M., Caguaripano L., Nieves C., Mora J.D. & González A. (2000). Vigilancia entomológica de *Aedes aegypti* a través de los centros centinelas en la Cooperativa, estado Aragua. *Bol. Dir. Mal. San. Amb.* **40**: 37-48.
- Morrison A. C., Astete H., Chapilliquen F., Ramirez-Prada C., Diaz G., Getis A. K. Gray & Scott T. W. (2004). Evaluation of sampling methodology for rapid assessment of *Aedes aegypti* infestation levels in Iquitos, Peru. *J Med. Entomol.* **41**: 502-510.
- MSDS (Ministerio de Salud y Desarrollo Social) (2005). *Alerta: Boletín epidemiológico semanal*. Semana epidemiológica N°20. Dirección de Vigilancia Epidemiológica.
- Parks W. & Lloyd L. (2004). Planificación de la movilización y comunicación social para la prevención y el control de dengue. Guía paso a paso. Organización Mundial de la Salud. Organización Panamericana de la Salud. Programa Especial de Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales (TDR). *WHO/CDS/WMC/2004.2*.
- Reiter P. (1992). Status of current *Aedes aegypti* methodologies. En: S. B. Halsted y H. Gómez-Dantes (eds). *Dengue. A worldwide problem, a common strategy*. pp: 4-48. Ministry of Health, Mexico and Rockefeller Foundation, New York, U.S.A.
- Russel B. M & Kay B. H. (1999). Calibrated funnel trap for quantifying mosquito (Diptera: Culicidae) abundance in wells. *J. Med. Entomol.* **36**: 851-855.
- Tun-Lin W., Kay B. H. & Forsyth S. (1996). Critical examination of *Aedes aegypti* indices: correlations with abundance. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **54**: 543-547.
- Tun-Lin W, Kay B. H. & Burkot T. R. (1994). Quantitative sampling of immature *Aedes aegypti* in metal drums using sweep net and dipping methods. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **10**: 390-396

Recibido el 07 de Julio 2005
Aceptado el 10 de Octubre 2005