

Diseño y evaluación de una ovitrampa para el monitoreo y control de *Aedes aegypti*, principal vector del dengue

José Luis Torres-Estrada, D en C,⁽¹⁾ Nery del Carmen Rodiles-Cruz, MB.⁽²⁾

Torres-Estrada JL, Rodiles-Cruz NC.
Diseño y evaluación de una ovitrampa para el monitoreo y control de *Aedes aegypti*, principal vector del dengue. *Salud Publica Mex* 2013;55:505-511.

Torres-Estrada JL, Rodiles-Cruz NC.
Design and evaluation of an ovitrap for the monitoring and control of *Aedes aegypti*, dengue fever vector. *Salud Publica Mex* 2013;55:505-511.

Resumen

Objetivo. Diseñar y evaluar en condiciones de campo una ovitrampa con atrayentes químicos y un regulador de poblaciones para el monitoreo y control de los vectores del dengue. **Material y métodos.** A la ovitrampa CRISPP (OC) se le colocaron dos atrayentes químicos y una malla tricot sobre la superficie del agua. La efectividad de la OC fue evaluada y comparada contra una ovitrampa estándar (OE); además se determinó el efecto residual de los atrayentes. **Resultados.** Se contabilizaron un total de 7 168 huevos; 4 659 (65%) fueron puestos en la OC y 2 509 (35%) en la OE; la emergencia de adultos en la OC fue 0% contra 93% en la OE, y el efecto residual fue de cuatro días. **Conclusión.** La OC atrajo un mayor número de huevos y controló a 100% de los adultos emergidos en comparación con la OE.

Palabras clave: trampas; oviposición; *Aedes*; dengue; México

Abstract

Objective. To design and evaluate in field conditions an ovitrap with chemical attractants and a population regulator for the monitoring and control of dengue vectors. **Materials and methods.** CRISPP ovitrap (OC) effectiveness was evaluated in comparison with a standard ovitrap (OE). A septum containing two chemical attractants and a mesh tricot on the surface of the water was collocated in the OC. The number of eggs in both ovitraps and the mortality of the emerged adults were counted. Also the residual effect was determined. **Results.** There were a total of 7 168 eggs, 4 659 (65%) were layed in the OC and 2 509 (35%) in the OE and the emergence of adults in the OC was 0% compared with 93% in the OE. The residual effect was four days. **Conclusions.** The OC contained more eggs and caused minor emergency dengue vector adults in comparison with the OE.

Key words: traps; oviposition; *Aedes*; dengue; Mexico

Aedes aegypti Linneus (Diptera: Culicidae) es el principal vector de cualquiera de los cuatro serotipos de virus que causan el dengue.^{1,2} Esta enfermedad se ha dispersado ampliamente en el mundo afectando a 50 millones de personas anualmente, y aproximadamente 2 500 millones están en riesgo.³

A falta de una vacuna, el control del dengue está basado en la disminución de las poblaciones de

los mosquitos vectores. Para ello, se aplican grandes cantidades de insecticidas, conjuntamente con campañas de descacharrización y un constante llamado a la participación de la comunidad.⁴ Estas campañas hacen que la incidencia de la enfermedad permanezca un tanto estable. Sin embargo, el costo económico y ecológico es elevado y la cobertura de estas medidas difícilmente llegará a ser total y sustentable.⁵⁻⁸ Debido

(1) Centro Regional de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud Pública. Tapachula, Chiapas, México.

(2) Centro de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula, Chiapas, México.

Fecha de recibido: 28 de enero de 2012 • Fecha de aceptado: 17 de junio de 2013

Autor de correspondencia: Dr. José Luis Torres Estrada. Centro Regional de Investigación en Salud Pública. 4° Avenida Norte y 19 Calle Poniente, col. Centro. 30700 Tapachula, Chiapas, México.

Correo electrónico: jltorres@insp.mx

a estas prácticas se necesitan otras estrategias de control que se integren al tradicionalmente utilizado y que lo haga más eficiente. El control etológico, es decir, aquel fundado en el conocimiento del comportamiento, puede ser una buena opción.

Aedes aegypti tiene hábitos domésticos y se reproduce en una gran variedad de recipientes que almacenan agua limpia cercanos a la vivienda de los humanos.⁹⁻¹¹ El conocimiento sobre las preferencias de los sitios de oviposición ha resultado en el desarrollo de ovitrampas para el monitoreo de las poblaciones^{12,13} y para la evaluación de las medidas de control.¹⁴ A partir de las primeras ovitrampas se han realizado modificaciones en ellas con la finalidad de aumentar su efectividad.^{12,15-19} La incorporación tanto de atrayentes como de reductores de poblaciones modifica la función de las ovitrampas convirtiéndolas, de un sistema de monitoreo pasivo, a una medida de control bajo el concepto de "atraer y matar".²⁰ El 3-metil-indol (Skatole) identificado en infusiones de pasto bermuda,²¹ y el n-heneicosano, identificado en agua conteniendo larvas de esta especie, son sus principales atrayentes de oviposición.^{22,23} Recientemente se diseñó y evaluó en condiciones de laboratorio una ovitrampa a partir de material reciclable y utilizando cuatro atrayentes químicos en forma individual e integrada.²⁴ En el presente estudio se modificó dicha ovitrampa agregándole dos atrayentes químicos: un liberador y un regulador de poblaciones para ser evaluada en condiciones de campo.

Material y métodos

Área de estudio

El diseño y la impregnación de los septos con atrayentes químicos fueron realizados en el Laboratorio de Ecología Química del Centro Regional de Investigación en Salud Pública (CRISP), localizado en la ciudad de Tapachula, Chiapas (14°54'29"N, 92°15'38"O); mientras que los estudios para evaluar la efectividad de la ovitrampa fueron realizados en dos colonias con altos índices entomológicos, seleccionadas al azar a partir de informes de la Jurisdicción Sanitaria VII de la Ssa de Tapachula, Chiapas.²⁵

Diseño de la ovitrampa CRISPP y costos

La ovitrampa fue denominada CRISPP (OC) y se diseñó reutilizando recipientes de politereftalato de etileno (PET) con capacidad de 2.5 L, pintados de color negro mate (pintura acrílica en espray Comex). La OC presenta tres características principales; a) color oscuro y superficie rugosa; b) un septo de corcho conteniendo 1 μ L de 10

ppm de n-heneicosano 98% (Sigma-Aldrich Chemicals, St Louis, MO, USA presentación de 1g) y 1 μ L de 500 ppm de 3-metil-indol 98% (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA presentación 5g) sostenido por un alambre de acero, y c) una malla tricot cubriendo la superficie del agua para evitar la salida del adulto emergido.^{26,27} Sobre las paredes internas de la ovitrampa se colocó una tira de papel filtro Whatman #2 (Sigma-Aldrich Chemicals, St Louis, MO, USA) que sirvió como sustrato de oviposición (figura 1). El costo de la elaboración de la OC fue aproximadamente de 13 pesos (incluye: septo, pintura, malla, papel filtro, solventes y atrayentes): el septo resultó ser el material más costoso (9.17 pesos c/u), mientras que el costo por la impregnación de un septo con la mezcla de ambos atrayentes fue de 0.00004668 pesos (1g de n-heneicosano cuesta aproximadamente 618.00 pesos y 5g de 3-metil-indol 405.00 pesos).

Evaluación de la efectividad de la ovitrampa CRISPP

Se seleccionaron al azar 20 casas de las dos colonias. La OC y la OE fueron colocadas a cinco centímetros de distancia entre ambas²⁸ en los patios de las casas sobre áreas sombreadas y húmedas. Diariamente (siete días continuos) el sustrato de las ovitrampas fue revisado y remplazado. Los sustratos con los huevos contenidos fueron transportados al laboratorio para su conteo utilizando un microscopio estereoscópico. Se realizaron tres repeticiones de los muestreos, cada uno con duración de siete días consecutivos durante el periodo junio-septiembre del 2011.

Evaluación de la efectividad del reductor para poblaciones de mosquitos aedinos

Posterior a los siete días del muestreo ambas ovitrampas permanecieron en el mismo sitio durante cinco días más y se contabilizaron las larvas contenidas en ellas. Las larvas fueron concentradas en una OC y en una OE separadamente dentro de jaulas de 80 cm por lado con la finalidad de contabilizar el número de adultos que emergerían de ellas y evaluar el efecto de la malla tricot sobre la mortalidad del adulto.

Volatilidad de los atrayentes impregnados en los septos

La abundancia de los atrayentes fue monitoreada utilizando siete OC colocadas a la intemperie en un área de 200 m². Diariamente (siete días consecutivos) un septo fue extraído de su ovitrampa y colocado dentro de un matraz Erlenmeyer de 250 mL sellado con papel alumi-

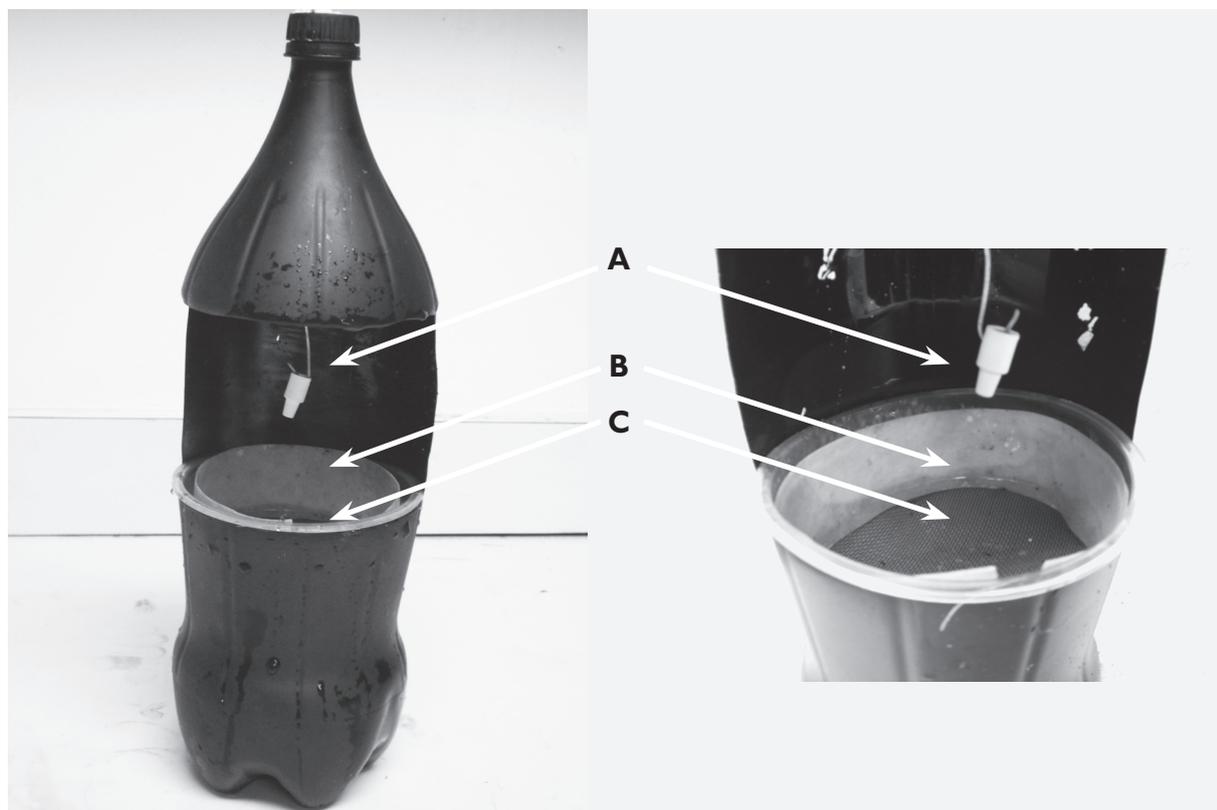


FIGURA 1. OVITRAMP CRISPP CON ATRAYENTES EVALUADA EN CONDICIONES DE CAMPO EN LA Cd. DE TAPACHULA, CHIAPAS, DURANTE EL PERIODO DE JUNIO-SEPTIEMBRE DE 2011. A) SEPTO CARGADO CON MEZCLA DE 3-METIL-INDOL (500 PPM) Y N-HENEICOSANO (10 PPM); B) SUSTRATO DE OVIPOSICIÓN Y C) MALLA TRICOT.

nio. Una jeringa SPME (Solid Phase Microextraction) con una fibra de polidimetil siloxano PDMS (Supelco, Bellefonte, PA, EUA)²⁹ fue insertada a través del papel aluminio para la captura de los volátiles liberados por el septo. La fibra fue expuesta durante una hora a una temperatura de 24 °C.

Análisis cromatográficos

Los volátiles colectados por SPME fueron deabsorbidos en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies modelo 6890) acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent Technologies modelo 5973N) a 200 °C.³⁰ Este mismo método fue utilizado para analizar 1 µL de 3-metil-indol y n-heneicosano grado técnico. La identificación fue corroborada comparando los espectros de masa de los estándares comerciales contra los registrados en la biblioteca espectral NIST 2002.

Análisis estadístico

Los datos del número de huevos contabilizados en la OC y la OE fueron convertidos en porcentajes y analizados por medio de una prueba *t* de Student no pareada después de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Los resultados para determinar el día de mayor efecto de atracción y la residualidad fueron analizados por medio de un Anova utilizando una prueba de Tukey como comparación múltiple de medias. Finalmente, se realizó la prueba *t* de Student no pareada para determinar las diferencias entre los mosquitos emergidos muertos o vivos entre ambas ovitrampas³¹ con la finalidad de evaluar el efecto reductor de poblaciones de la malla. Todos los análisis fueron realizados con el paquete PASW Statistics 18.

Criterio de exclusión: los datos no se consideraron para el análisis cuando ambas ovitrampas no contuvieron

huevos, debido a que esto indica ausencia de hembras grávidas más que ausencia de efecto. Tampoco se consideraron los datos cuando alguna de las ovitrampas no se encontró, cuando estaban tiradas o las casas estaban cerradas.

Consideraciones éticas: todas las consideraciones éticas fueron revisadas y aprobadas por la comisión de ética del INSP para el proyecto FOMIX-COCYTECH 78917 "Desarrollo y evaluación a mediana escala de una ovitrampa con atrayentes químicos para el monitoreo y control de *Aedes aegypti*, vector del dengue"

Resultados

Se revisaron un total de 348 ovitrampas de 420 posibles (82.8%) y 73 (17.2%) fueron excluidas. Un total de 7 168 huevos fueron contabilizados, de los cuales 4 659 (65%) correspondieron a la OC mientras que 2 509 (35%) correspondieron a los depositados en la OE, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($t= 8.01$; $gl= 19$; $p=0.0001$).

Los resultados de atracción obtenidos entre las dos ovitrampas indican que la OC mostró un porcentaje mayor en el número de huevos puestos en el sustrato en comparación de la OE; en el primero ($t= 24$; $gl= 19$; $p= 0.002$); segundo ($t=17.83$; $gl= 19$; $p=0.003$), tercero ($t=10.09$; $gl= 19$; $p= 0.01$) y cuarto día ($t=5.6$; $gl= 19$; $p=0.03$). Los resultados del análisis de varianza muestran que el mayor porcentaje de atracción se presentó al primer día y la residualidad observada fue de cuatro días ($F=17.05$; $gl= 19$; $P=0.0001$) (figura 2).

Por otro lado, la mortalidad de adultos emergidos indica que la malla tricot colocada en la OC resultó ser un buen reductor de poblaciones al provocar que 0% de las larvas contenidas en ellas ($N=3 779$) sobrevivieran como adultos, contra 93% de larvas que llegaron a su estado adulto y salieron de la OE (2 129 de 2 289 larvas), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($t=265$; $gl=1$; $p=0.002$).

Finalmente, los análisis cromatográficos muestran que el n-heneicosano se evaporó desde el primer día, con lo cual se le atribuye el efecto de atracción y la residualidad al 3-metil-indol. La figura 3A muestra el perfil cromatográfico del 3-metil-indol a 500 ppm y n-heneicosano inyectado en solución; en este cromatograma se observa que el tiempo de retención para el 3-metil-indol fue de 9:94 min, mientras que para el n-heneicosano fue de 17:8 min. La figura 3B muestra el perfil cromatográfico de la mezcla del 3-metil-indol y n-heneicosano de muestras colectadas del septo al segundo día, donde se observa la ausencia del n-heneicosano.

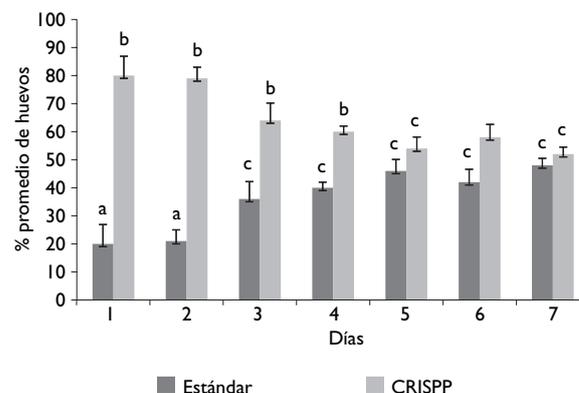


FIGURA 2. PORCENTAJE PROMEDIO DE HUEVOS DE *AE. AEGYPTI* PUESTOS EN LA OVITRAMPA CRISPP Y OVITRAMPA ESTÁNDAR COLOCADAS EN LOS PATIOS DE CASAS EN DOS COLONIAS DE TAPACHULA, CHIAPAS DURANTE EL PERIODO DE JUNIO-SEPTIEMBRE DE 2011. LETRAS IGUALES INDICAN NO DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ($p<0.05$)

Discusión

Los resultados obtenidos en el estudio muestran que la ovitrampa CRISPP puede ser una opción para ser considerada dentro de los programas de monitoreo y control de los vectores de dengue. Al colocarle a la OC un septo conteniendo 3-metil-indol y n-heneicosano, los cuales han sido reportados como atrayentes de oviposición de diferentes especies de mosquitos,^{22,23} y una malla tricot cubriendo la superficie del agua,²⁶ la ovitrampa cambia su función de ser un sistema de monitoreo pasivo a un sistema de monitoreo y control bajo el esquema de "atraer y matar". La utilización de ovitrampas estándares ha sido un método efectivo para detectar la presencia de hembras grávidas, y es usado en los sistemas de vigilancia entomológica y para evaluar medidas de control vectorial, sin embargo, su uso requiere de una costosa logística que incluye su revisión semanal debido a que, de no hacerlo, la ovitrampa se convierte en un criadero más.²⁷ Para evitar esto, se han elaborado y evaluado ovitrampas letales utilizando, entre otros, infusiones de pasto bermuda (*Cynodon dactylon*) como atrayente de oviposición^{32,33} y *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*³⁴ como reductor de poblaciones con resultados alentadores, sin embargo, al ser las infusiones sistemas de fermentación dinámica y no controlada, permiten que el efecto cambie de atrayente a repelente por aumento de concentración a través del tiempo. A pesar de que en los resultados del presente estudio se

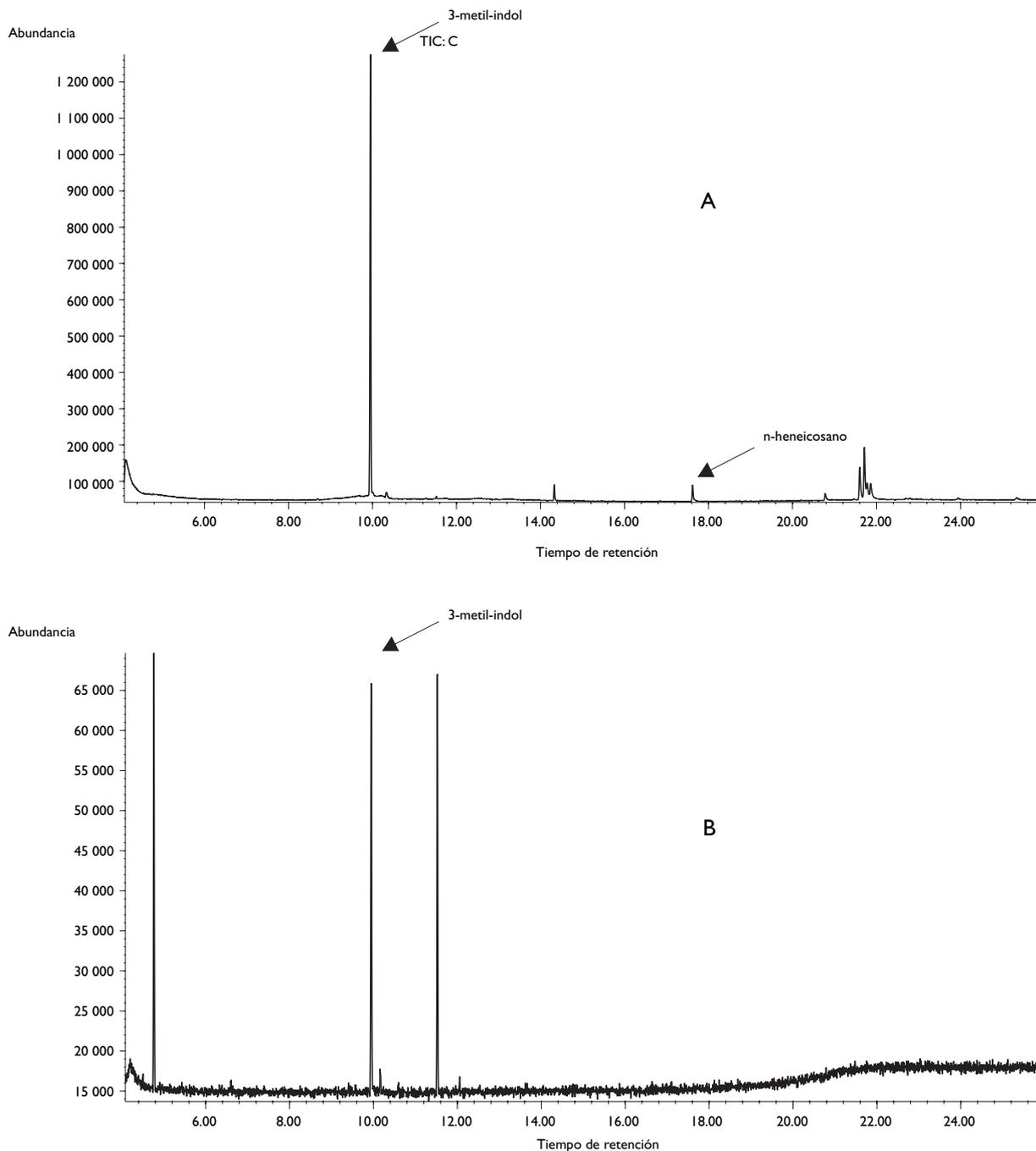


FIGURA 3. A). PERFIL CROMATOGRÁFICO DE SOLUCIÓN DE 3-METIL-INDOL (500 PPM) Y N-HENEICOSANO (10 PPM) B). PERFIL CROMATOGRÁFICO DE LA MEZCLA DE 3-METIL-INDOL Y N-HENEICOSANO CAPTURADO POR SPME A LAS 24 HORAS DURANTE LOS MUESTREOS REALIZADOS PARA DETERMINAR RESIDUALIDAD DE LOS ATRAYENTES EN EL PERIODO DE JUNIO-SEPTIEMBRE DE 2011 EN TAPACHULA, CHIAPAS.

observa que los estándares comerciales permanecieron atrayendo a las hembras grávidas cuatro días (el cual es bajo a comparación de los 15 que fueron reportados por infusiones de pasto bermuda), la residualidad se considera que puede aumentarse mediante un procesamiento de los compuestos atrayentes con técnicas de microencapsulación con liberación controlada, como ya han sido realizados para algunas sustancias con diversos efectos sobre mosquitos.³⁵ En el presente estudio, la efectividad máxima producida por los atrayentes se encontró a las 24 horas y fue reduciéndose a través del tiempo coincidiendo con la pérdida del n-heneicosano, lo cual sugiere que la mezcla de los atrayentes debería estar regulada mediante la utilización de liberadores más efectivos.³⁶

Resultados de estudios realizados en condiciones de laboratorio han demostrado un efecto residual de atracción de cuatro días con una mezcla de compuestos que incluyeron 3-metil-indol, *p*-cresol y fenol agregados sobre papel filtro (sustrato de oviposición) y n-heneicosano que fue agregado directamente al agua.²⁴ La similitud entre la residualidad obtenida en ambos estudios indican que los factores ambientales no afectaron la residualidad como se ha reportado para las feromonas sexuales de algunas especies de lepidópteros.³⁷

Otros estudios sobre el diseño y efectividad de una ovitrampa con características ovicidas mostraron un decremento en el índice de Breteau de 36%, en comparación con los sitios con ovitrampas estándares cuyo índice se incrementó hasta 500%.^{26,27} La alta efectividad mostrada por la trampa ovicida se debió a una integración de estrategias como la eliminación de criaderos y participación comunitaria, entre otros. En el presente estudio no se determinaron los índices entomológicos como una forma de evaluación de la efectividad de la OC, sin embargo, los resultados exhibidos aquí son un indicador de que además de ser una medida de monitoreo, la OC puede funcionar como una medida de control (captura masiva) y su utilización puede realizarse de forma integral con otros métodos. Otras ovitrampas letales conteniendo insecticidas organofosforados, piretroides, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* y copépodos (*Mesocyclops longisetus*) como reguladores de poblaciones^{34,38-40} han sido evaluadas con buenos resultados, aunque, en el primer y segundo caso su uso no se recomienda en áreas que presenten resistencia por lo que el monitoreo de ella debe hacerse continuamente, además de que una vez que se pierda la toxicidad del insecticida (aproximadamente cuatro semanas) la ovitrampa se vuelve un criadero más, con lo cual se reduciría su costo-efectividad. En el tercer y cuarto caso no es recomendable en áreas con poca infraestructura

para el cultivo y cría de enemigos naturales. En este estudio, la incorporación de una malla tipo tricot (que es de bajo costo y de fácil obtención) provocó la mortalidad total de los adultos emergidos en comparación con la ovitrampa estándar. Esta mortalidad sugiere la utilización de la OC en los sistemas de vigilancia entomológica en lugar de la OE, ya que evitaría, en caso de que no se pueda revisar semanalmente, que ésta pase de ser un sistema de monitoreo a un criadero más como ocurre actualmente.²⁶ Otra utilización de la OC estaría dirigida a su incorporación en espacios baldíos o donde se complique el acceso para su monitoreo. Por lo tanto, la posibilidad de incorporar la OC a los sistemas de vigilancia y control de los vectores del dengue es una opción viable por el hecho de incorporar material de reciclaje, contener atrayentes de bajo costo (1g de n-heneicosano alcanza para impregnar 100 millones de septos y con 5g de 3-metil-indole se pueden impregnar 10 millones de septos) y fácil obtención, así como la utilización una malla tricot para provocar la muerte del adulto. Finalmente, se sugieren más estudios que impliquen investigar la probabilidad de la ovitrampa CRISPP como una medida sustentable dentro de los sistemas de vigilancia y control del dengue en México, así como la implementación de un sistema de captura para las hembras grávidas atraídas y un análisis que sustente el riesgo real de la no revisión semanal de las ovitrampas estándares utilizadas actualmente en los sistemas de vigilancia entomológica en el país.

Agradecimientos

El presente estudio fue parte del proyecto 78917 "Desarrollo y evaluación a mediana escala de una ovitrampa con atrayentes químicos para el monitoreo y control de *Aedes aegypti*, vector del dengue" financiado por el FOMIX-COCYTECH. Se agradece a, Farah Zamira Vera Maloof, Sandra Meza Robles y Crescencio Díaz Espinoza por su apoyo en la realización de este estudio.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declararon no tener conflicto de intereses.

Referencias

1. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and surge as a global public health problem. En: Gubler DJ, Kuno G, eds. Dengue and dengue hemorrhagic fever. London: CAB International, 1997:1-22.
2. Salazar MI, Richardson JH, Sánchez-Vargas I, Olson KE, Beaty BJ. Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes. BMC Microbiology 2007;7:9.

3. Hu W, Clements A, Williams G, Tong S. Spatial analysis of notified dengue fever infections. *Epidemiol Infect* 2011;139:391-399.
4. Lloyd L. Mejores prácticas para la prevención y el control del dengue en las Américas. Environmental Health Project, Resumen Ejecutivo 2003:20-22.
5. Gubler DJ, Clark GG. Community involvement in the control of *Aedes aegypti*. *Acta Tropica* 1996;61:169-179.
6. Arias J. El dengue en Cuba. *Rev Panam Salud Pública* 2002;11:221-222.
7. Spiegel JM, Yassi A, Tate R. Dengue in Cuba: mobilization against *Aedes aegypti*. *Lancet Infectious Diseases* 2002;2:207-208.
8. Spiegel JM, Bennett S, Hattersley L, Hayden MH, Kittayapong P, Nalin S, et al. Barriers and bridges to prevention and control of dengue: the need for a social-ecological approach. *EcoHealth Journal* 2005;2:273-290.
9. Defoliart GR, Watts DM, Grimstad PR. Changing patterns in mosquito-borne arboviruses. *J Am Mosq Control Assoc* 1986;2:437-455.
10. García-Rejón JE, Loroño-Pino MA, Farfan-Ale JA, Flores-Flores L, Rosado-Paredes EP, Rivero-Cárdenas N, et al. Dengue virus-infected *Aedes aegypti* in the home environment. *Am J Trop Med Hyg* 2008;79:940-950.
11. García-Rejón JE, López-Uribe MP, Loroño-Pino MA, Farfan-Ale JA, Nájera-Vázquez MR, Lozano-Fuentes S, et al. Productive container types for *Aedes aegypti* immature in Mérida, México. *J Med Entomol* 2011;48:644-650.
12. Fay RW, Perry AS. Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosq News* 1965;25:276-281.
13. Fay RW, Eliason DA. A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosq News* 1966;26:531-535.
14. Reiter P, Nathan M. Guidelines for assessing the efficacy of insecticidal space sprays for control of the dengue vector *Aedes aegypti*. Geneva World Health Organization, 2001.
15. Kloter KO, Bowman DD, Carroll MK. Evaluation of some ovitrap materials used for *Aedes aegypti* surveillance. *Mosq News* 1983;43:438-441.
16. Ritchie SA, Long S, Hart A, Webb CE, Russell RC. An adulticidal sticky ovitrap for sampling container-breeding mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 2003;19:235-242.
17. Chua KB, Chua IL, Chua IE, Chua KH. Differential preferences of oviposition by *Aedes* mosquitoes in man-made containers under field condition. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004;35:599-607.
18. Lenhart AE, Walle M, Cedillo H, Kroeger A. Building a better ovitrap for detecting *Aedes aegypti* oviposition. *Acta Tropica* 2005;96:56-59.
19. Chadee, DD. Oviposition strategies adopted by gravid *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) as detected by ovitraps in Trinidad, West Indies (2002-2006). *Acta Tropica* 2009;111:279-283.
20. Williams CR, Ritchie SA, Long S, Dennison N, Russell RC. Impact of a bifenthrin-treated lethal ovitrap on *Aedes aegypti* oviposition and mortality in North Queensland, Australia. *J Med Entomol* 2007;44:256-262.
21. Millar JG, Chaney JD, Mulla MS. Identification of oviposition attractants for *Culex quinquefasciatus* from fermented bermuda grass infusions. *J Am Mosq Control Assoc* 1992;8:11-17.
22. Mendki MJ, Ganesan K, Prakash S, Suryanarayana MVS, Malhotra RC, Rao KM, et al. Heneicosane: an oviposition attractant of larval origin in *Aedes aegypti*. *Curr Sci India* 2000;78:1295-1296.
23. Seenivasagan T, Sharma KR, Sekhar K, Ganesan K, Prakash S, Vijayaraghavan R. Electroantennogram, flight orientation, and oviposition responses of *Aedes aegypti* to the oviposition pheromone n-heneicosane. *Parasitol Res* 104 2009;827-833.
24. Baak-Baak CM, Rodríguez-Ramírez AD, García-Rejón JE, Ríos-Delgado SM, Torres-Estrada JL. Development and laboratory evaluation of chemically-based baited ovitrap for the monitoring of *Aedes aegypti*. *J Vector Ecol* 2013, 38(1):175-181.
25. Briones-Roblero CI, Vázquez Corzo S, Del Carpio-Estrada LA, Orozco-Magdaleno CE, Pérez-García G, Ramírez-Aguilar FJ. Factores asociados e índice de correlación entre el diagnóstico clínico y de laboratorio de dengue. *Hig Sanid Ambient* 2011: 807-814.
26. Chan, KL, Kiat NS, Koth TK. An autocidal ovitrap for the control and possible eradication of *Aedes aegypti*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1977;8:56-61.
27. Cheng Min-Lee, Beng-Chuan Ho, Bartnett E, Goodwin N. Role of a modified ovitrap in the control of *Aedes aegypti* in Houston, Texas, EUA. *Bull World Health Organ* 1982;60:291-296.
28. Service MW. Mosquito ecology. Field sampling methods. London, England: Applied Science Publishers LTD. 1976;582.
29. Pawliszyn J. Solid phase microextraction-theory and practice. New York: Wiley, 1997.
30. Ríos-Delgado SM, Rodríguez-Ramírez AD, Cruz-López L, Escobar-Pérez LA, Aburto-Juárez ML, Torres-Estrada JL. Respuesta de *Anopheles albimanus* a compuestos volátiles de casas del sur de Chiapas, México. *Salud Publica Mex* 2008;50:367-374.
31. Zar JH. Biostatistical analysis. 4th ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1999.
32. Reiter P, Amador MA, Colon N. Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. *J Am Mosq Control Assoc* 1991;7:52-55.
33. Polson KA, Curtis Ch, Seng Ch M, Olson JG, Chantla N, Rawlins SC. The use of ovitrap baited with hay infusion as a surveillance tool for *Aedes aegypti* mosquitoes in Cambodia. *Dengue Bull* 2002;26:178-184.
34. Santos SRA, Melo-Santos MAV, Regis L, Albuquerque CR. Field evaluation of ovitraps consociated with grass infusion and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to determine oviposition rates of *Aedes aegypti*. *Dengue Bulletin* 2003;27:156-162.
35. Michaelakis A, Mihou AP, Koliopoulos G, Couladouros EA. Influence of the microencapsulated pheromone from aged infusion as an oviposition medium of the West Nile virus vector *Culex pipiens*. *Parasitol Res* 2009;104:1005-1009.
36. Atterholt AC, Delwiche MJ, Rice RE, Krochta JM. Study of biopolymers and paraffin as potential controlled-release carriers for insect pheromones. *J Agric Food Chem* 1998;46:4429-4434.
37. Webster RP, Yin C-M. Effects of photoperiod and temperature on calling behaviour of the gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae). *The Canadian Entomologist* 1997;129:843-854.
38. Zeichner BC, Perich MJ. Laboratory testing of a lethal ovitrap for *Aedes aegypti*. *Med and Vet Entomol* 1991;13:234-238.
39. Sithiprasasna R, Mahapibul P, Noigamol C et al. Field evaluation of a lethal ovitrap for the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand. *J Med Entomol* 2003;40:455-462.
40. Torres-Estrada JL, Rodríguez MH, Cruz-López L, Arredondo-Jiménez JI. Selective oviposition by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in response to mesocyclops longisetus (Copepoda: Cyclopoidea) under laboratory and field conditions. *J Med Entomol* 2001;38:188-192