

PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE EFICACIA DE LAS APLICACIONES ESPACIALES DE INSECTICIDAS PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti* EN COLOMBIA

DIRECCION REDES EN SALUD PÚBLICA



SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

GRUPO DE ENTOMOLOGÍA

2019

Dirección

Martha Lucia Ospina Martínez
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

Astrid Carolina Flórez Sánchez
Director Técnico
Redes en Salud Pública

Clara del Pilar Zambrano Hernández
Subdirectora
Laboratorio Nacional de Referencia

Patricia Fuya Oviedo
Coordinadora
Grupo de Entomología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

Elaborado por

Liliana Santacoloma
Grupo de Entomología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

Como citar este documento

Instituto Nacional de Salud. "Protocolo de evaluación de eficacia de las aplicaciones espaciales de insecticidas para el control de *Aedes aegypti* en Colombia, 2019".

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCION.....	1
2.	OBJETIVO GENERAL	1
2.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	1
3.	ALCANCE.....	1
4.	RESPONSABILIDAD	2
5.	DEFINICIONES	2
6.	CONDICIONES GENERALES.....	2
6.1.	Materiales y equipos	3
6.1.1	Material biológico	3
6.1.2	Materiales trabajo de campo y laboratorio	3
6.1.3	Elementos de Bioseguridad.....	5
6.1.4	Reactivos.....	5
6.1.5	Equipos.....	5
6.2.	Inspección de las localidades a intervenir.....	6
6.3.	Metodología de muestreo	6
6.4.	Actividades de campo.....	6
6.4.1	Preintervención	6
6.4.2	Intervención	7
6.4.3	Post intervención.....	8
6.5.	Actividades de Laboratorio.....	9
6.5.1	Pre intervención	9
6.5.2	Post intervención.....	9
7.	INDICADORES ENTOMOLÓGICOS	9
7.1.	Jaulas centinela.....	9
7.2.	Ovitrampas	10
8.	DOCUMENTOS DE REFERENCIA	10
9.	ANEXOS	10

1. INTRODUCCION

Las aplicaciones espaciales realizadas para el control de mosquitos tienen como finalidad eliminar rápidamente la población adulta durante el vuelo, al entrar en contacto con el insecticida en el aire. En Colombia, las aplicaciones espaciales están indicadas en casos de epidemia, con el propósito de interrumpir el ciclo de propagación de arbovirosis transmitidas por *Ae. aegypti*. Este tipo de control es una medida complementaria a otros métodos pues su efecto residual es bajo, además, sus costos operacionales son elevados. Por esto, es fundamental garantizar que estas aplicaciones se realicen con criterios de calidad y en el momento oportuno para que sean eficaces. En consecuencia, la evaluación biológica de la eficacia de las fumigaciones se realiza considerando que algunos supuestos mínimos, relacionados con: calibración del equipo y velocidad del vehículo, adecuada dosificación del producto o condiciones ambientales óptimas, se cumplan.

El presente protocolo está basado en las Guías para la evaluación de la eficacia del rociado espacial de Insecticidas para el control del Vector del dengue *Aedes aegypti* (Reiter P y Nathan MB. (2003) y su elaboración contó con los aportes de profesionales de la Red de Entomólogos del país. Por lo tanto su aplicación estará a cargo de los profesionales de entomología médica del Laboratorio de Salud Pública de cada departamento, de biólogos profesionales de las secretarías de salud municipal y de las oficinas de ETV.

2. OBJETIVO GENERAL

Proporcionar la metodología para determinar la eficacia de los insecticidas aplicados en forma de aerosoles en exteriores a ultra bajo volumen (ULV), sobre la mortalidad de poblaciones de mosquitos *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Suministrar las metodologías de muestreo utilizadas en la determinación de la eficacia de las medidas de control sobre las poblaciones de *Ae. Aegypti*.

Implementar una metodología que contribuya a mejorar la calidad de las intervenciones químicas de control en las entidades territoriales.

3. ALCANCE

Este documento será tomado como referencia por los Laboratorios de Entomología de las entidades territoriales, con el fin de evaluar la eficacia de las aplicaciones espaciales de insecticidas ULV utilizadas en el control de *Ae. aegypti*.

4. RESPONSABILIDAD

El presente protocolo será utilizado por los profesionales responsables de la vigilancia entomológica de los Laboratorios de Salud Pública Departamentales y Distritales, con el apoyo del personal técnico del programa local de control de vectores.

5. DEFINICIONES

Aerosol: Formulación contenida en un recipiente, desde el cual es dispersada en forma de finas gotas por efecto de un agente propelente, liberado por una válvula.

Eficacia de un insecticida: capacidad de un insecticida para matar a un insecto dentro de los parámetros esperados o deseados.

Ingrediente activo: sustancia que forma parte de una mezcla y es el componente responsable del causar el efecto deseado.

Fumigación: aplicación de gases y /o agentes fumígenos, nebulización de vapores o gases tóxicos.

Fumigación a ultra bajo volumen (ULV): procedimiento para la aplicación espacial de insecticidas con equipos pesados montados en vehículos, motomochilas, o desde el aire en equipos montados en avionetas o helicópteros. Durante la fumigación se deben generar gotas fraccionadas cuyo diámetro óptimo fluctúa entre 15 y 25 micras. Es denominado también rociado espacial, nebulización, fumigación a volumen ultra reducido o fumigación espacial ULV (ultra low volume).

Nebulización: transformación térmica de un líquido en partículas muy finas (10 micras) que forman una nube.

6. CONDICIONES GENERALES

En la figura 1, se resume las actividades requeridas en la evaluación de intervenciones espaciales, las cuales se subdividen en varias actividades.

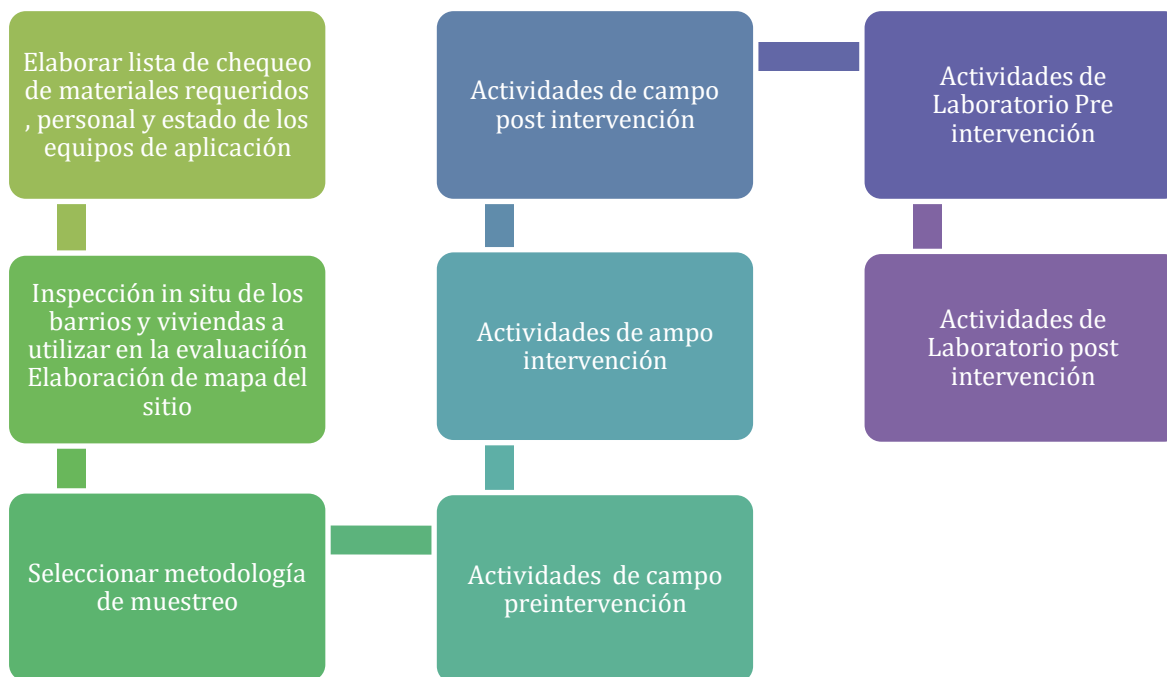


Figura 1. Diagrama de actividades requeridas en una evaluación de eficacia de aplicaciones espaciales (Fuente: Grupo Entomología-INS)-

Antes de planear la evaluación, se debe realizar una lista de chequeo para asegurar que se cuenta con todos los insumos requeridos tanto en el trabajo de campo como de laboratorio. En el numeral 8 y 9 del presente protocolo se detallan los materiales y equipos necesarios para la realización de las evaluaciones de eficacia de las intervenciones de control vectorial.

6.1. Materiales y equipos

6.1.1 Material biológico

Hembras adultas de *A. aegypti* entre 3-6 días de emergencia.

6.1.2 Materiales trabajo de campo y laboratorio

- Algodón
- Aspirador bucal
- Azúcar
- Bandas de caucho
- Cinta de enmascarar de ½ pulgada



- Círculos de 20 cm de diámetro de tul o tela de toldillo, con agujeros en el centro de 0.5 cm de diámetro
- Clips
- Fundas de tul de 7 cm diámetro x 30 cm de largo
- Guantes de látex
- Marcador indeleble
- Neveras de poliestireno
- Papel periódico o papel craft
- Tijeras
- Toallas de papel
- Vasos desechables de nueve onzas (40)
- Jamas
- Ovitrapas
- Aspiradores Procopack
- Pinzas blandas, pinzas de punta fina
- Escobillones de madera
- Alfileres entomológicos
- Neveras de isopropileno o cajas plásticas para transportar las jaulas centinelas con mosquitos.
- Vasos plásticos transparentes
- Bandas de caucho
- Tul con una abertura para el aspirador bucal
- Jaulas centinela o de exposición: estas son pequeños contenedores de mosquitos que permiten el paso del insecticida en el momento de la aplicación (figuras 2 y 3).



Fig. 2 Ejemplo de jaula centinela construida con varillas metálicas formando un cilindro de 7 cm de diámetro x 12 cm de alto, forrada con una funda de tul
Fuente: María Elena Cuellar



Fig. 3 Ejemplo de jaula centinela construida con tul y dos aros de bordar.
Fente: Juan Fernando Ríos.

6.1.3 Elementos de Bioseguridad

- Traje anti fluido
- Máscara con filtros para gases tóxicos
- Guantes

6.1.4 Reactivos

Insecticida con el que se realizarán las aspersiones

6.1.5 Equipos

- Equipo de fumigación (moto mochila, bomba de espalda, etc), debidamente calibrado, con hoja de vida en el que se consignen las actividades realizadas como: tiempo de uso, últimos mantenimientos preventivos y correctivos.
- Equipo Volumétrico: Probeta de 500 o 1000 ml
- Equipos de medición de condiciones ambientales: Termómetro e Higrómetro
- Papel de medición de alcance de la gota: tarjetas de papel hidrosoluble
- Equipos ópticos: Estereoscopio y Microscopio. Equipo de georeferenciación:
- GPS o celular con tecnología satelital

6.2. Inspección de las localidades a intervenir

Antes de iniciar las aspersiones se debe visitar las localidades a intervenir para determinar el área de muestreo y el número de jaulas centinela a utilizar.

Con ayuda de un mapa, delimitar el área de aplicación de acuerdo a los datos epidemiológicos y a la cantidad de insecticida con la que se cuente, es necesario priorizar los recursos. Las aplicaciones se harán en una manzana central y todas sus manzanas a la redonda (simulando un huevo frito).

De igual forma se delimitará una manzana control, que tendrá las mismas condiciones socioeconómicas y demográficas del área de aplicación y evaluación, pero alejada de esta al menos 1 km. Se debe tener especial cuidado para que el insecticida no sea arrastrado por el viento hasta este lugar.

Se tomará como unidad de muestreo las viviendas, para ellos es necesario conocer el número de viviendas y habitantes de la zona. Esta información se usará para determinar el número de viviendas a muestrear, poner las jaulas centinela, ovitrampas, tarjetas hidrosensibles y donde muestrear mosquitos.

6.3. Metodología de muestreo

La utilización combinada de dos metodologías de muestreo sirve para conocer la calidad de la aplicación y el efecto de la misma sobre la densidad del vector. A continuación se describen las metodologías a utilizar:

- Jaulas centinelas colocadas en viviendas seleccionadas al azar dentro de la manzana de evaluación. Los mosquitos a utilizar en las jaulas centinela, consistirán en mosquitos de las filiales F0 o F1. La F0 obtenida en laboratorio a partir de poblaciones de campo, previamente colectados como larvas y mantenidos en el laboratorio hasta su estado adulto y la F1 obtenida en Laboratorio a partir de oviposuras provenientes de hembras F0. En ambos casos las hembras a utilizar en las pruebas deberán tener una edad fisiológica entre 3 a 6 días, contados a partir de su emergencia como adultos.
- Ovitrampas: utilizadas para estimar antes de la aplicación y después de la misma (4 días), la densidad de mosquitos adultos.

6.4. Actividades de campo

6.4.1 Preintervención

- Antes de realizar la intervención objeto de evaluación de eficacia se deben realizar las siguientes actividades:
- Identificar el equipo que se va a utilizar para la aplicación del insecticida, si es motomochila o equipo pesado y los requerimientos de estos para funcionar. Los equipos a emplear deben contar con los certificados de calibración necesarios para garantizar su funcionamiento.

- Una semana antes de realizar la aplicación, será necesario socializar con la población y las autoridades pertinentes el procedimiento que se va a realizar, para contar con su participación y colaboración durante la aplicación y la evaluación. Esto se puede hacer mediante perifoneo o publicidad en los salones comunales, instituciones educativas y con líderes sociales.
- Realizar la selección al azar de las viviendas en las que se ubicarán las jaulas centinela y se realizarán las evaluaciones. Las viviendas deberán estar ubicadas dentro de la manzana central del área de aplicación y serán debidamente identificadas con una cinta de enmascarar ancha ubicada en la parte superior derecha de la puerta principal. Sobre la cinta se escribirá un número consecutivo único para cada vivienda. Se registrarán estos datos en el formato previsto para ello, junto con la dirección de la vivienda y las coordenadas registradas en el GPS.
- Con el fin de estimar la densidad de mosquitos a través de oviposturas, 4 días antes de la aplicación del insecticida se pondrá una ovitrampa en el patio de la vivienda, de no tener patio se hará en la terraza o lo más cerca al depósito de agua de cada una de las viviendas seleccionadas. Este procedimiento se realizará tanto en la manzana de evaluación como en la manzana control. Cada ovitrampa estará marcada con el número de la vivienda donde se colocó.
- Realizar el cálculo de la dilución del insecticida de acuerdo a las indicaciones técnicas y al número de manzanas en las que se realizará la aplicación.

6.4.2 Intervención

- El día de la prueba se tomarán entre 20 y 25 mosquitos de la colonia de *A. aegypti* de máximo seis días de emergencia y se pondrán dentro de cada **jaula centinela**.
- Colocar cuatro **jaulas** por cada vivienda seleccionada para poner las jaulas: una en la ventana exterior, la segunda en la sala, la tercera en la habitación y la cuarta en el patio.
- Cada una de las **jaulas** será marcada usando cinta de enmascarar y marcador permanente según el número de la vivienda y el sitio donde serán colocadas, ej: 1 sala (jaula colocada en la casa 1, en la sala). Cada jaula será acondicionada con un clip abierto o gancho para ser colgada en la vivienda.
- Se procederá a ubicar cada una de las jaulas centinela dentro de las viviendas. Se registrará en el formato diseñado para este fin si se observan mosquitos estropeados o muertos. Los mosquitos estropeados o muertos serán restados en la cuenta de mortalidad de los individuos a las 24 h. las jaulas se colgarán a una altura de 1.5 m del piso aproximadamente.
- Una vez instaladas las jaulas se procederá a seguir la metodología para medición del tamaño de las gotas, esto mediante la técnica de preferencia: algunas de ellas consisten en el uso de tarjetas hidrosensibles o el uso de láminas porta-objetos cubiertas con teflón (Politetrafluoroetileno).

- Al iniciar la aplicación se deben registrar todos los datos: departamento, municipio, barrios tratamiento y control, sector o comuna, insecticida utilizado, concentración, descarga, fecha de calibración de la máquina, fecha y hora de la aplicación, origen de los mosquitos, temperatura, humedad relativa, de ser posible se deberá tomar la velocidad del viento y nombre de los funcionarios que participarán, la información se consignará en el formato diseñado para este fin (Anexo 1: Formato 1)

6.4.3 Post intervención

- Las **jaulas centinela** se recogerán media hora después de la aplicación y en ese momento se registrará en el formato correspondiente, el número de adultos caídos a los 30 minutos. Posteriormente, se introducirán nuevamente las jaulas dentro de las cajas transportadoras, separando con ayuda de papel cartón por grupos las que se colocaron en ventanas, salas, habitaciones y patios del sitio de tratamiento con insecticida. Seguidamente, se colocará algodón con agua de azúcar sobre cada jaula. Las jaulas del control (no expuestas al insecticida) deben recogerse por una persona que no ha manipulado las del sitio tratamiento y guardarse en otra caja (Anexo 1: Formato 1)
- En cada una de las viviendas donde son recogidas las jaulas centinela, se recogerán la **ovitrapa** dejada cuatro días antes y será remplazada por una nueva **ovitrapa** que servirá para estimar la densidad de mosquitos adultos a partir de las posturas. Existen diferentes diseños para las ovitrampas, este depende de la disponibilidad con la que se cuente. Es indispensable que la ovitrapa seleccionada para ser usada permita el conteo de los huevos. La información de la densidad de ovitrampas se consignará en el formato diseñado para este fin (Anexo 2: Formato 2).
- Las nuevas ovitrampas serán recolectadas 4 días (96 horas) después de haber realizado las aplicaciones, la finalidad de este procedimiento es estimar si realmente se logró impactar la población de mosquitos alimentadas y en ovoposición.
- De manera opcional y de acuerdo a la disponibilidad de personal y capacidad logística de cada departamento, las hembras colectadas se llevarán al laboratorio para diseccionar sus abdómenes y evaluar la edad fisiológica mediante la observación de sus ovariolas en el microscopio. Las hembras con más de una postura serán hembras que no murieron durante la aplicación del insecticida y las hembras nulíparas serán hembras recién emergidas.

6.5. Actividades de Laboratorio

6.5.1 Pre intervención

El trabajo de Laboratorio pre intervención está enfocado a la obtención de hembras adultas de *A. aegypti* a utilizar en las pruebas de eficacia. El procedimiento de cría de insectos hace parte de los protocolos de los Laboratorios de Salud Pública de las entidades territoriales y del nivel central, por lo tanto no es objeto del presente protocolo.

6.5.2 Post intervención

Las ovitrampas serán transportadas al laboratorio en donde se estimará el número de huevos colectados. Los datos se consignaran en el formato correspondiente (Anexo 2 Formato 2).

Las jaulas centinela serán llevadas al laboratorio, se pasarán los mosquitos a vasos desechables tapados con tul, a través del orificio del centro de la malla. Este orificio deberá ser tapado con una cantidad de algodón seco que no permita la salida de adultos. Sobre la malla se colocarán algodones impregnados con agua de azúcar para alimentar los mosquitos que queden vivos. Después de 24 horas de reposo se registra la mortalidad en el FOR 1.

7. INDICADORES ENTOMOLÓGICOS

7.1. Jaulas centinela

La mortalidad de los mosquitos expuestos en las jaulas centinela se leerá a las 24 horas. Se descartarán del conteo los que se encontraron caídos antes de la prueba. Se totalizarán los individuos muertos por tratamiento (de jaulas de ventana, sala, etc.), y se calculan porcentajes de mortalidad por tratamiento y general. Todos los datos se registran en el formato previsto. Si hay mortalidad en el testigo y es superior al 20%, la prueba se deberá descartar. Si está entre el 5 y el 20% esta se corregirá mediante la fórmula de Abbott:

Mortalidad corregida

$$\frac{\% \text{ mortalidad tratamiento} - \% \text{ mortalidad control}}{100 - \% \text{ mortalidad en el contro}} \times 100$$

Mortalidades iguales o superiores al 80% en las jaulas centinela del tratamiento, indican que la aplicación espacial se realizó de la manera adecuada y puede ser eficaz para el control del mosquitos *A. aegypti*.

7.2. Ovitrampas

En el caso de las ovitrampas los valores de referencia serán los de la manzana control y los estimados antes de la aplicación. De ser posible se calculará el porcentaje de reducción de acuerdo a la fórmula de Mulla et.al, 1971:

$$\text{Porcentaje de reducción} = 100 - [(C1/T1) \times (T2/C2)] \times 100$$

Donde:

C1= número promedio de huevos por casa para el sitio control (antes de la aplicación)

T1= número promedio de huevos por casa para el sitio de aplicación (antes de la aplicación)

C2= número promedio de huevos por casa para el sitio control (después de la aplicación)

T2= número promedio de huevos por casa para el sitio de aplicación (después de la aplicación)

8. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Ministerio de la Protección Social, Instituto Nacional de Salud, Organización Panamericana de la Salud. (2010). Guía de Vigilancia Entomológica y Control de Dengue. Bogotá.

Mulla M, Norland R, Fanara D, Darwazeh H, Mekean D. (1971). Control of chironomid midges in recreational lakes. *Journal of Economic Entomology* 64:300-307.

Reiter P y Nathan MB. (2003). Guías para la evaluación de la eficacia del rociado espacial de Insecticidas para el control del Vector del dengue *Aedes aegypti*. (2003) Organización Mundial de la Salud WHO/CDS/CPE/PVC/2001.1, Washington.

9. ANEXOS

Anexo 1: Resultados de pruebas de mortalidad de mosquitos adultos en jaulas.

Anexo 2: Conteo de huevos por Ovitrapa

ANEXO 1: Resultados de pruebas de mortalidad de mosquitos adultos en jaulas.

Municipio	Insecticida (dosis)	Fecha calibración máquina	Funcionarios
Barrio tratamiento/Comuna o sector	Descarga insecticida	Fecha y hora de la prueba	
Barrio control/ Comuna o sector	Velocidad del viento	Origen de los mosquitos	

Casa	Dirección	Mosquitos ventana			Mosquitos sala			Mosquitos habitación			Mosquitos patio			Observaciones
		Caidos 30 min.	Muertos 24 h	Total expuestos	Caidos 30 min.	Muertos 24 h	Total expuestos	Caidos 30 min.	Muertos 24 h	Total expuestos	Caidos 30 min.	Muertos 24 h	Total expuestos	
T1														
T2														
T3														
T4														
T5														
T6														
T7														
T8														
Total														
% Mortalidad														
C1														
C2														
Total														
% Mortalidad														

Distancia en metros de las jaulas del intradomicilio a partir de la puerta de entrada de la casa

T1-s	T2-s	T3-s	T4-s	T5-s	T6-s	T7-s	T8-s	C1-s	C2-s
T1-h	T2-h	T3-h	T4-h	T5-h	T6-h	T7-h	T8-h	C1-h	C2-h
T1-p	T2-p	T3-p	T4-p	T5-p	T6-p	T7-p	T8-p	C1-p	C2-p

Observaciones adicionales:


Fuente: Laboratorio de Entomología

ANEXO 2: Conteo de huevos por Ovitrapa

Municipio	Fecha de <u>Instalacion</u> de las trampa
Barrio tratamiento/Comuna o sector	Fecha de retiro de las trampas
Barrio control/ Comuna o sector	Funcionarios:

Casa	Dirección	Ubicación de la <u>ovitrampa en intradomicilio</u>	Numero promedio de Huevos Pre-tratamiento	Numero promedio de Huevos Pos-tratamiento
T1				
T2				
T3				
T4				
T5				
T6				
T7				
T8				
Total				
C1				
C2				
Total				

Fuente: Laboratorio de Entomología

 <p>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD</p>	ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
	Liliana Santacoloma	Olga Patricia Fuya	Susanne Carolina Ardila
	Responsable técnico Entomología	Líder técnico Grupo Entomología	Coordinadora Grupo de Entomología