
GUÍA PARA DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD Y/O RESISTENCIA DE MOSQUITOS A INSECTICIDAS

1.- Referencia normativa y Alcance.

El Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (**CENAPRECE**), establece como objetivo en su Programa de Trabajo “Normar, evaluar y regular la operación de los programas de prevención y control de enfermedades, para disminuir sus riesgos y brindar a la población atención con calidad y equidad”.

De acuerdo al numeral **2** la **Norma Oficial Mexicana para la Vigilancia Epidemiológica, Prevención y Control de las Enfermedades Transmitidas por Vector NOM-032-SSA2-2010**, que a la letra dice “Es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional para el personal de los Servicios de Salud de los sectores público, social y privado que conforman el Sistema Nacional de Salud que efectúen acciones de vigilancia, prevención y control de dengue”.

Para la aplicación de los presentes procedimientos, es necesario consultar las siguientes Normas Oficiales Mexicanas:

Norma Oficial Mexicana NOM-045-SSA1-1993, Plaguicidas. Productos para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano e industrial. Etiquetado.

Norma Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009, Plaguicidas: Que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico.

Para fines prácticos, los numerales y apartados que se citan corresponden únicamente a la NOM 032-SSA2-2010 de Vectores, en caso de citarse otra Norma Oficial Mexicana, ésta se especificará en detalle.

Para el particular de esta guía, corresponde el **apartado 6.4** y los **numerales 6.4.1.4. al 6.4.1.8.4**, donde se establecen los mínimos recomendables de mortalidad sobre *Aedes aegypti* en los bioensayos.

Adulticidas: rociados espaciales en pruebas de penetración lineal “ocasiona una mortalidad aguda $\geq 90\%$ a 80 m.”

Adulticidas: rociados espaciales en pruebas domiciliarias con obstáculos “una mortalidad $\geq 75\%$ ”.

Adulticidas: rociados residuales intradomiciliarios “Mortalidad aguda $\geq 98\%$ y efecto residual $\geq 75\%$ durante 4 meses como mínimo”.

Larvicidas: aplicaciones manuales y residualidad “Mortalidad aguda $\geq 98\%$ y/o inhibición de la emergencia $\geq 90\%$, con efecto residual en insecticidas químicos sintéticos y biorracionales > 2 meses y efecto residual en insecticidas biológicos > 3 semanas.

Es importante señalar que “las evaluaciones que realicen las Instituciones de Investigación a que refiere el **numeral 6.4.1.4.**, se realizarán para demostrar la eficacia de los insumos y equipos para el control del insecto vector y sus conclusiones servirán al **CENAPRECE** para emitir las recomendaciones por región que correspondan, en el marco de los programas de salud pública de su competencia” (**numeral 6.4.1.10**).

Asimismo, “se recomienda que las entidades federativas efectúen monitoreos periódicos de la eficacia biológica de los insecticidas en uso, con el fin de detectar, de forma temprana la aparición de resistencia” (**Numeral 6.4.1.16**).

2.- Términos y definiciones.

Los términos y definiciones utilizados en la presente guía son referidos en la **NOM 032-SSA2-2010** y en los Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica de Fiebre por Dengue y Fiebre Hemorrágica por Dengue.

Caso probable de fiebre por dengue, todo caso sospechoso que presente fiebre y dos o más de las siguientes características: cefalea, mialgias, artralgias, exantema o dolor retro ocular. En menores de 5 años, el único signo a considerar puede ser la fiebre.

4.1.3. Aedes, al género de la clase Insecta; del orden Diptera de la familia Culicidae, subfamilia Culicinae, tribu Aedini, 80 géneros y 2 grupos inciertos, abarcando 1,255. Actualmente

las especies transmisoras del virus del dengue, fiebre amarilla, otros flavivirus y alfavirus, se clasifican dentro del género *Stegomyia*, es decir *Stegomyia aegypti* y *St. albopictus*. No obstante, para evitar confusiones y por costumbre se seguirá denominando a las especies anteriores como miembros del género *Aedes*.

4.1.17. Bio-degradación, al proceso de degradación o metabolismo de agentes químicos (insecticidas, fármacos, agentes libres, etc.) en su paso por los sistemas biológicos.

4.1.19. Carbamatos, al grupo de insecticidas derivados de ácido carbámico, que actúa interfiriendo el impulso de una célula nerviosa a cualquier tejido, al inhibir la acción de la enzima acetilcolinesterasa y perpetuar la señal nerviosa.

4.1.20. Carga de insecticida, a la cantidad de un preparado de insecticida, en polvo o líquido, necesaria para abastecer el depósito de una bomba aspersora.

4.1.23. Control biorracional, a la utilización de sustancias químicas de efecto selectivo sobre el insecto o ácaro objeto del control, normalmente asemejando un metabolito esencial en su metabolismo o es una toxina que se activa en artrópodos, con bajo riesgo para el humano, vida silvestre y ambiente temporal (manipulación del ambiente) el hábitat de los transmisores de enfermedades.

4.1.25. Control químico, al procedimiento aplicado contra los vectores, en sus estadios larvarios o inmaduros y de imagos o adultos, utilizando sustancias tóxicas con efecto insecticida, garrapaticida o nematocida.

4.1.37. Degradación de agente de control, al proceso físico por el cual se degrada un agente de control y que es comúnmente, la sensibilidad al calor (termo-labilidad) o luz (fotolabilidad).

4.1.38. Dengue, a la enfermedad producida por arbovirus de la familia Flaviviridae, pertenecientes a cuatro serotipos del virus del dengue y que son transmitidos por la picadura de las hembras de ciertas especies de mosquito casero común *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus*. La enfermedad es importante porque produce brotes explosivos de formas clásicas, con brotes simultáneos de formas hemorrágicas o de choque grave en menor cantidad.

4.1.47. Enfermedades transmitidas por vector, a los padecimientos en los que el agente causal o infeccioso requiere la participación de un artrópodo como hospedero o transmisor para completar su ciclo de vida y para mantener su población en hospederos vertebrados susceptibles. Se incluyen paludismo, dengue, leishmaniosis, oncocercosis, tripanosomiasis, rickettsiosis, virus del Oeste del Nilo y otras arbovirosis. Recientemente, el concepto se ha ampliado para referir a otros animales como vectores, entre éstos, a algunos mamíferos.

1.50. Equipo de aspersión, a los aparatos, generalmente bombas, diseñados para rociar los insecticidas al aire o sobre una superficie.

4.1.51. Experto en insecticidas, al personal profesional, adscrito a instituciones de enseñanza e investigación nacional e internacional, reconocido en el campo de los insecticidas para su uso en salud pública y que manifiesta por escrito no tener conflicto de intereses.

4.1.54. Fumigación, a la desinfección que se realiza mediante la aspersión o nebulización de vapores o gases tóxicos, para el control y eventual eliminación de especies nocivas para la salud o que causan molestia sanitaria.

4.1.56. Grupo de Expertos en insecticidas, al que está integrado por personal profesional, adscrito a instituciones de enseñanza e investigación nacionales, de prestigio reconocido en el campo de insecticidas para su uso en salud pública sin que tengan conflicto de intereses.

4.1.59. Imago, al insecto en su última etapa de desarrollo y que es sexualmente maduro o adulto

4.1.60. Imagocida, al insecticida que mata imagos o adultos de insectos.

4.1.61. Insecto, al artrópodo de la Clase Hexápoda o Insecta que se caracteriza por tener tres pares de patas, un par de antenas y su cuerpo está dividido en tres regiones bien diferenciadas: cabeza, tórax y abdomen.

4.1.62. Insecticida, a los plaguicidas de uso urbano de origen químico, bioquímico, microbial, botánico o misceláneo, que eliminan a los insectos vectores o evitan el contacto con el

humano, que están dirigidos a cualquiera de sus estadios de desarrollo (huevo, larva, pupa o imago).

4.1.63. Institución de Investigación Mexicana, a las instituciones que cuenten con la infraestructura humana y física, así como con la experiencia necesaria para evaluar insumos y equipos para el control de insectos vectores, con base en información, comprobación de hechos o recomendaciones técnicas.

4.1.64. Larva, pupa y ninfa, a los estados juveniles de los artrópodos. Ninfa se aplica a los artrópodos con desarrollo inmaduro sin metamorfosis o con metamorfosis parcial (hemimetábolos). Larva y pupa son etapas sucesivas en insectos con metamorfosis completa (holometábolos).

4.1.65. Larvicida, al insecticida que mata larvas de los insectos.

4.1.71. Mortalidad aguda, al cálculo de mortalidad en bioensayos con insectos o ácaros la cual se mide hasta 24 o 48 horas después de la exposición a insecticidas químicos, biológicos o biorracionales.

4.1.73. Nebulización ULV, volumen ultra reducido, al procedimiento para la aplicación espacial de los insecticidas con equipos pesados montados en vehículos o motomochilas, en formulaciones que puedan generar gotas fraccionadas cuyo diámetro óptimo debe fluctuar entre 15 y 25 micras. Es denominado también rociado o tratamiento espacial.

4.1.76. Organoclorados, a los insecticidas químicos orgánicos sintéticos, cuya estructura química heterocíclica contiene cloro y cuyo modo de acción específica es la de afectar el impulso eléctrico, mediante la inactivación del canal de sodio en el axón nervioso.

4.1.77. Organofosforados, al grupo de insecticidas químicos sintéticos que contienen fósforo y cuyo modo de acción es afectar los procesos de comunicación de las neuronas con los tejidos al inhibir la acción de la enzima acetilcolinesterasa en el espacio sináptico.

4.1.90. Piretroides, a los insecticidas de origen natural (piretrinas) o sintético, teniendo como núcleo químico los grupos funcionales ciclopropano carboxilato y cuyo modo de acción

(similar al de los organoclorados) es el de afectar el transporte de iones sodio a través de la membrana del axón nervioso.

4.1.98. Resistencia, a la capacidad adquirida por una población de insectos para tolerar dosis de un tóxico que sería letal para la mayoría de los individuos de una población normal de una misma especie. Se habla de resistencia manifiesta cuando la mortalidad en insectos expuestos en ensayos convencionales (larvicidas o adulticidas) es menor al 80%. Cuando la mortalidad es entre 80 y 97% se puede hablar de resistencia incipiente, mientras si la mortalidad es igual o mayor al 98%, se habla de una población susceptible al insecticida en estudio. Otra forma de evaluarla es mediante la diferencia en la razón de resistencia (RR) al comparar la población de insectos de campo con una población susceptible de referencia de laboratorio. Cuando la RR (Dosis letal 50 en de población campo campo/Dosis letal 50 en población de referencia) es menor a 5 veces, se habla de población sensible, cuando es entre RR = 5-9 se habla de resistencia incipiente y cuando la RR en población de campo con respecto a la de laboratorio es mayor a 10 veces, entonces se habla de resistencia manifiesta.

4.1.103. Rociado espacial, a la aplicación de insecticida en formulación no residual a volumen ultra bajo o ultra reducido en exteriores en zonas habitadas o naturales inundadas, mediante aplicaciones en tierra con equipos pesados montados en vehículos, motomochilas o desde el aire en equipos montados en avionetas o helicópteros.

4.1.104. Rociado residual domiciliario, a la aplicación de un insecticida de efecto residual variable, en las superficies (paredes y techos) de las viviendas y de sus anexos.

4.1.110. Transmisores del dengue, a los insectos del orden Hemiptera, familia *Culicidae*, subfamilia *Aedinae*, Género *Aedes*, cuyas especies vectores en México son *Ae. aegypti* y posiblemente *A. albopictus*.

3.- Contexto de la organización.

Se debe garantizar el ejercicio de las funciones y actividades del componente, el cual se establece en el diagrama de funciones cruzadas de aplicación de pruebas biológicas.

4.- Gestión integrada.

En virtud de que la Información, es fuente primordial para la toma de decisiones con base en su calidad, riqueza, temporalidad y accesibilidad, es necesario que se cumpla oportunamente con los compromisos establecidos en esta guía.

Los resultados de las actividades y las necesidades operativas deben comunicarse, para la oportuna toma de decisiones, a los componentes que conforman el programa de Dengue (**Control Larvario, Entomología, Rociado Residual, Nebulización**) y a las diferentes áreas involucradas dentro del Sector Salud (**Epidemiología, Laboratorio, Promoción de la Salud, Atención médica, Riesgos Sanitarios, Comunicación social, Recursos Financieros y Recursos Humanos**); y a todas aquellas instituciones estatales, jurisdiccionales y municipales que en su momento participen en las acciones de control del vector.

5.- Capacitación.

De acuerdo con la **NOM-032-SSA2-2010** en el numeral **6.6. Capacitación general**. El personal de los servicios del Sistema Nacional de Salud debe recibir capacitación inicial y adiestramiento continuo con base en los manuales de organización y procedimientos vigentes del **CENAPRECE** vigentes para el fomento de la salud.

6.- Planificación.

Planificar las actividades con base al tipo de prueba biológica a realizar, marca del insecticida y características de la maquina nebulizadora. Será la mesa de información, a través del personal responsable de la **Plataforma**, quienes elaboren y entreguen la cartografía, con las áreas delimitadas y datos básicos necesarios a los responsables del Componente.

7.- Programación.

Insumos mínimos necesarios

El material biológico debe ser proporcionado por el laboratorio de bioensayo. El laboratorio deberá estar certificado por el **INDRE** y el **CENAPRECE**. De no contar con laboratorio certificado,

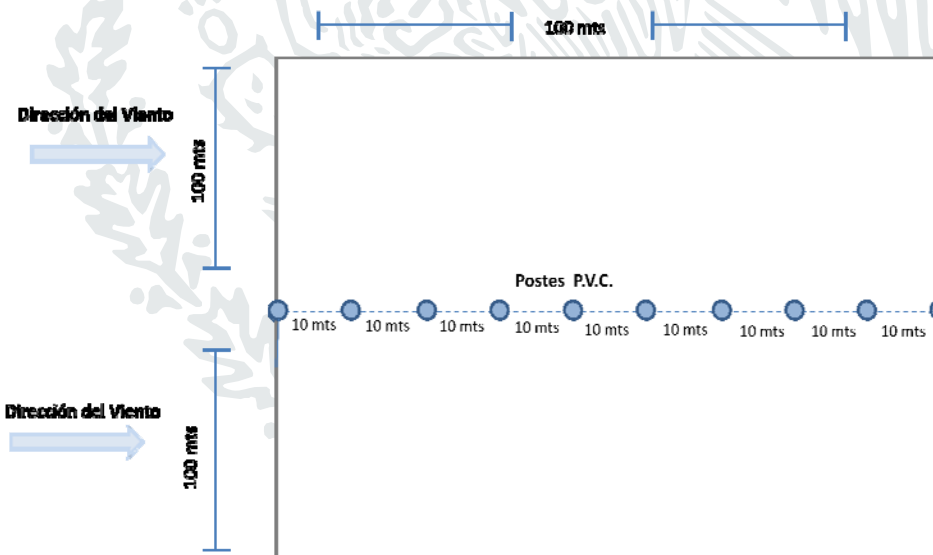
apegarse al **Manual para la colecta, cría e instalación de insectario para *Aedes aegypti***, disponible en la página del **CENAPRECE**.

Insumos para las pruebas

- Jaulas cilíndricas de 20 cm de altura y 10 cm de diámetro, forradas con tela *tul* de nylon de 1.2 mm de apertura de malla.
- Tubo suctor o de *castro* (tubo de vidrio y manguera látex)
- Termohigrómetro
- Anemómetro
- Postes de PVC de 1.5 m de altura y diámetro de $\frac{3}{4}$ de pulgada
- Vasos encerados
- Marcador indeleble
- Masking tape
- Algodón
- Laminillas

Requerimiento mínimo para el área

Se recomienda una área de 200 mts. de largo por 100 mts. de ancho, (para realizar una prueba lineal se debe tener en cuenta que es a campo abierto y sin presencia de obstáculos).



Requerimiento de la Máquina Nebulizadora

- Calibrar la descarga de acuerdo a la etiqueta del producto.
- Calibrar el tamaño de gota (15 a 24 micras).
- Revisar que el funcionamiento de la máquina nebulizadora sea óptimo.

8. Operación.

8.1 Prueba Biológica Lineal

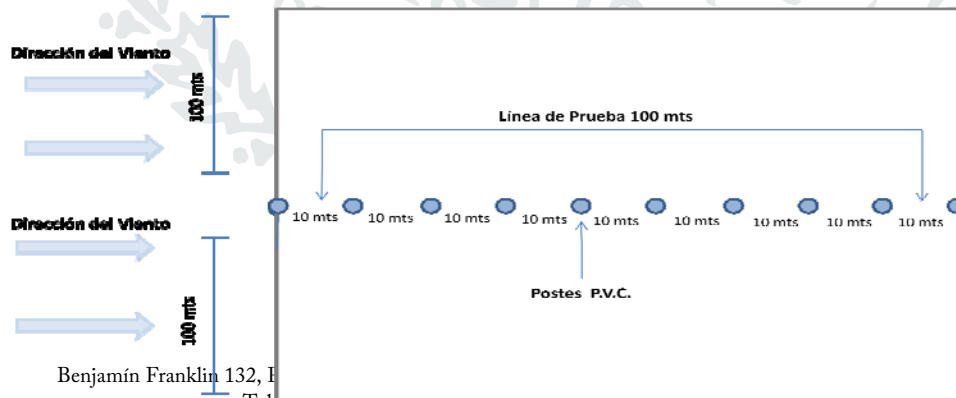
1.- Transferir del insectario, utilizando un tubo suctor, de 15 a 20 hembras a las 10 jaulas y a la jaula *testigo* y/o en su caso 20 jaulas con dos jaulas *testigo*. Hacer la transferencia de especímenes con 3 ó 4 horas de anticipación al bioensayo. Colocar el grupo *testigo* fuera del área de prueba, a una distancia tal, que esté fuera del alcance del insecticida.

2.- Transportar las Jaulas, de preferencia, en cajas de cartón al área de prueba. Cada jaula debe llevar un algodón impregnado con agua azucarada y la caja debe cubrirse con una franela húmeda para mantener a los mosquitos en condiciones apropiadas.

3.- Visitar el área seleccionada dos o tres días antes de realizar la prueba con la finalidad de conocer el patrón de comportamiento de factores abióticos, principalmente velocidad y dirección del viento.

4.- Colocar los postes de **PVC** a una distancia de 10 mts. de separación entre cada uno, hasta completar 10, de tal forma que se alcance una línea de prueba de 100 metros, tomando en cuenta que la colocación será siempre a favor del viento, de acuerdo a la posición del equipo nebulizador, como se muestra en el diagrama.

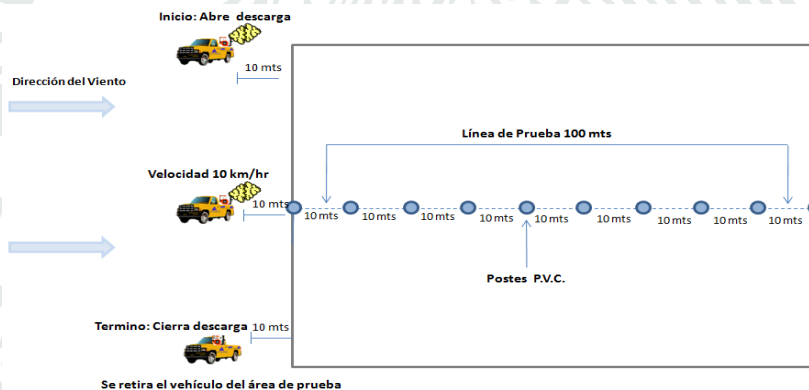
Área de Prueba



5.- Colgar las jaulas en cada uno de los postes, respectivamente etiquetadas, para determinar si el insecticida alcanzó a llegar hasta la jaula más distante. Los *testigos* también deberán exponerse al medio ambiente, aunque éstos deberán ubicarse lejos del área nebulizada para que no sean alcanzados por el insecticida durante la prueba.

6.- Registrar los datos de factores ambientales (temperatura, humedad relativa, velocidad y dirección del viento), durante la prueba y al término de la misma, a fin de correlacionar las variables ambientales que pudiesen influir en la mortalidad. Registrar los datos en el formato anexo: nombre químico del insecticida, registro de Cicloplafest, número de lote, etc..

7.- La prueba inicia al momento de abrir la llave de paso para iniciar la descarga de insecticida. La calibración se determinará por el tipo de insecticida y la boquilla deberá estar posicionada en un ángulo de 35°. El vehículo iniciará el recorrido a una velocidad de 10 km/hr; y hará el recorrido a 10 mts. de distancia entre la línea de prueba. La llave de paso debe cerrarse al completar los 200 mts., como se indica en el diagrama. De haber presencia de lluvia se pospone el bioensayo.



8.- Mantener un tiempo de exposición de 30 minutos, para conocer el número de mosquitos *caídos*.

9.- Tomar las lecturas correspondientes de cada una de las jaulas y anotar el número de mosquitos derribados, sólo se registraran aquellos mosquitos que se encuentren *caídos* en la base de la jaula.

10.- Retirar las jaulas y trasladar los mosquitos expuestos a *vasos de recuperación*, se mantendrán con algodón (agua azucarada), a temperatura y humedad relativa favorable (27°C, Humedad de 70 a 80%). Llevar a cabo este procedimiento en el área de prueba, si las condiciones no lo permiten, se hará en el laboratorio, siempre y cuando el tiempo del traslado no sea mayor a 40 minutos.

11.- A partir de la primera lectura, las siguientes se deberán tomar a las 3, 6, 12 hrs., y determinar la mortalidad a las 24 horas. Las lecturas al grupo *testigo* se tomarán en la misma secuencia de tiempo. Cuando la mortalidad en los testigos esté comprendida entre el 5% y 20%, convendrá corregir los porcentajes de mortalidad mediante la fórmula de *Abbott*:

$Mortalidad \% \text{ en los expuestos --- Mortalidad \% en los testigos } \times 100$

$100 --- mortalidad \% \text{ en los testigos}$

La interpretación de los resultados será tanto más exacta cuando más fidedignos sean los datos obtenidos.

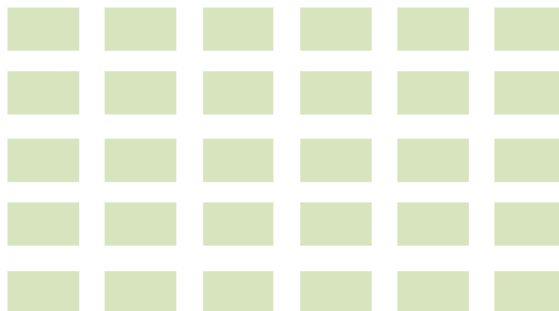
8.2 Prueba Biológica con Obstáculos

Se llaman pruebas biológicas con obstáculos porque las jaulas se colocan dentro y fuera de una vivienda.

Para la realización de este tipo de prueba se debe partir de los puntos 1 y 2 anteriormente mencionados en las pruebas lineales.

3.- Delimitar el área donde se va a realizar el bioensayo. Elegir con el apoyo de un croquis las manzanas que se van a trabajar.

Delimitación del Área

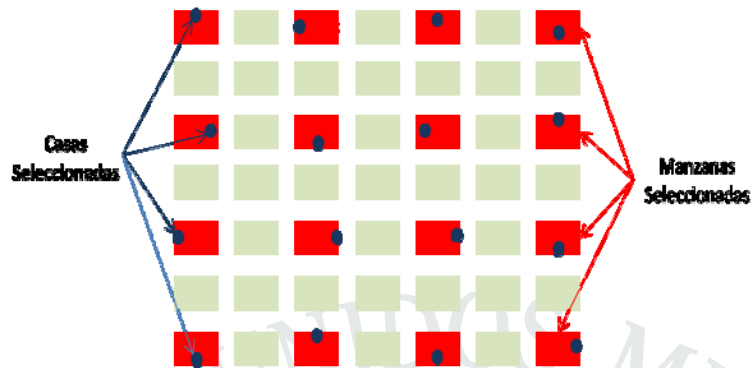


4.- Medir los factores ambientales al llegar al área, durante la prueba y al término de la misma, en el formato PB-O disponible en la página Web del CENAPRECE y/o la Plataforma de Vigilancia Entomológica y Control Integral del Vector. Se recomienda haber visitado un día antes las casas donde se van a colocar las jaulas con la finalidad de evitar contratiempos al momento del estudio.

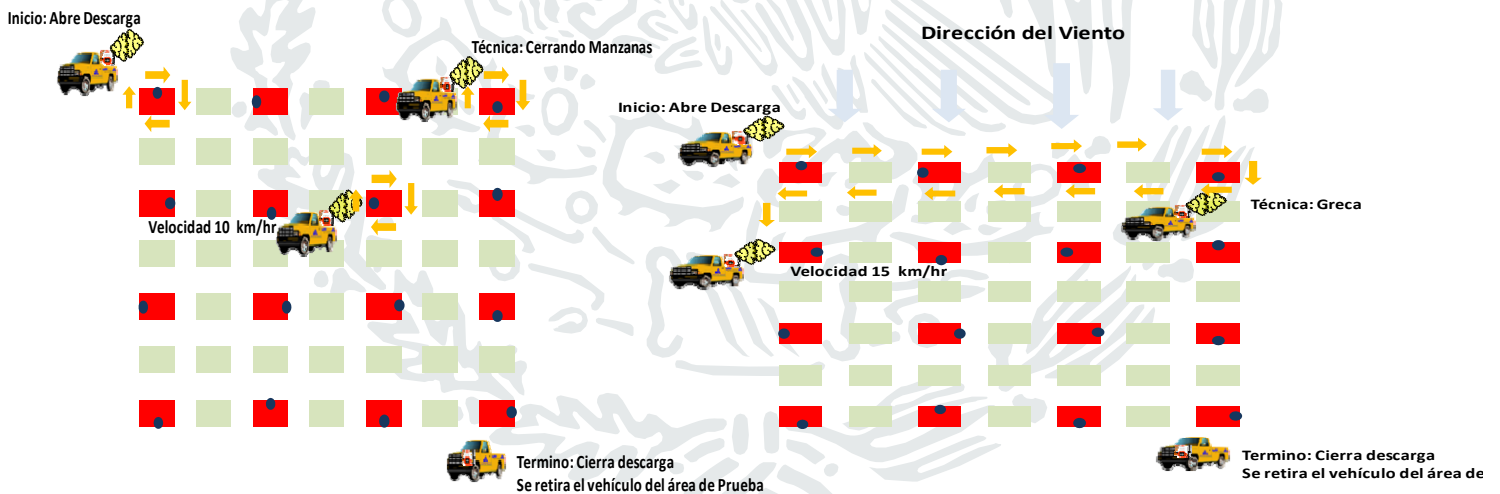
5.- Seleccionar un mínimo de 16 manzanas y colocar las jaulas una en el interior y otra en el exterior, ya sea en el patio posterior o anterior de cada vivienda, para alcanzar un total de 32 jaulas, cada una conteniendo de 15 a 20 mosquitos hembra y debidamente etiquetadas. Ubicarlas cada dos o tres manzanas. Es importante mencionar que la colocación de las jaulas, tanto dentro como fuera de la vivienda, se hará con la intención de que el insecticida tenga la posibilidad de llegar hasta ellas. No deben colocarse en un lugar totalmente cerrado y donde el insecticida no tenga oportunidad de penetrar.

Lo anterior debe analizarse cuidadosamente y aplicar un criterio que permita evaluar de forma efectiva y de acuerdo a los obstáculos que se encuentren la posibilidad de penetración del insecticida. Colocar las jaulas *testigo* en las mismas condiciones ambientales a que están expuestas las de la prueba, una en el interior y otra en el exterior de la vivienda elegida, a una distancia suficientemente retirada del área de prueba.

En el gráfico se muestra la distribución, ubicación y selección correcta de las casas por manzana, donde se colocarán las jaulas



6.- La prueba inicia en la manzana número 1 de acuerdo a su ubicación en el croquis. Es importante resaltar que se deben enumerar las manzanas para tener un mejor control del bioensayo. **Abrir la descarga e iniciar el recorrido a 10 km/hr., rodeando la manzana a 3 metros de la distancia de las viviendas o a 15 km/hr con la técnica greca.** La prueba finaliza cuando se nebuliza la última manzana del área seleccionada. Cerrar la descarga y retirar el vehículo del área. El proceso se describe gráficamente en el siguiente diagrama.



Cabe mencionar que la dosis del insecticida, la calibración para la descarga y la velocidad del vehículo estarán sujetas a la técnica de aplicación, y al producto sujeto de la evaluación.

7.- Mantener un tiempo de exposición de 30 minutos, a partir del cierre de la descarga en la última manzana nebulizada.

8.- Tomar la lectura de cada una de las jaulas y anotar el número de mosquitos *caídos*. Registrar únicamente aquellos mosquitos que se encuentren *caídos* en la base de la jaula.

9.- Retirar las jaulas del área. Trasladar los mosquitos expuestos a *vasos de recuperación*, cada uno con su algodón (agua azucarada), a temperatura y humedad favorable. Realizar este procedimiento en el área de prueba. Si las condiciones no lo permiten, lo podrá llevar a cabo en el laboratorio, siempre y cuando el tiempo de trasladado no sea mayor a 40 minutos.

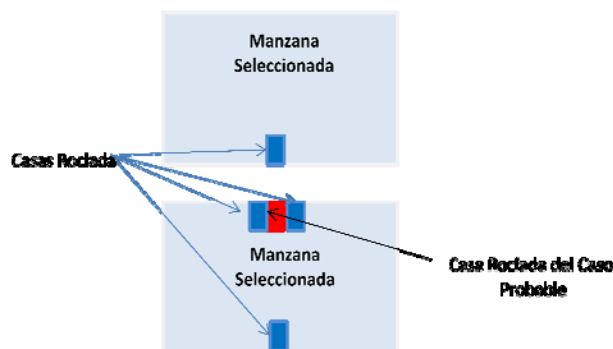
10.- A partir de la primera lectura, las siguientes se deberán tomar a las 3, 6, 12 hrs., determinando la mortalidad a las 24 horas. Las lecturas al grupo *testigo* se tomarán en la misma secuencia de tiempo. Cuando la mortalidad en los *testigos* está comprendida entre el 5% y 20%, convendrá corregir los porcentajes de mortalidad mediante la fórmula de *Abbott*.

8.3 Prueba Biológica de Pared

El tiempo de la acción residual de los insecticidas utilizados en salud pública tiene gran importancia para los programas de lucha contra insectos vectores. Con el objetivo de evaluar la eficacia y dosis correcta de los insecticidas aplicados con Motomochila, rociado rápido (**RR**), en el interior de las viviendas, se expondrán mosquitos en paredes previamente impregnadas con insecticida, y así medir su efecto residual.

1.- Seleccionar las casas donde se va a realizar el bioensayo. Principalmente aquellas casas rociadas en atención a casos probables. No anticipar a los rociadores sobre las evaluaciones para que no dejen dosis mayores.

Área seleccionada



2.- Obtener del insectario hembras adultas y colocarlas en vasos encerados, cada vaso con su algodón impregnado de agua azucarada y transportar en cajas de cartón, cubiertas con una franela húmeda.

3.- Colocar y fijar los conos de acetato en las paredes a evaluar. Distribuirlos dentro de la vivienda colocando de tres a cinco conos en salas y recamaras, principalmente. La altura de ubicación de los conos estará determinada por la técnica de aplicación del rociado rápido (RR).

4.- Meter y fijar dentro de cada cono de 10 a 15 mosquitos hembra. Utilizar un tubo *suctor* con punta curva con el que se facilitará la introducción y extracción de los especímenes.

5.- El tiempo de exposición será de entre 25 y 30 minutos.

6.- Antes de extraer los mosquitos, se hace una primera lectura del número de especímenes caídos. Pasar los mosquitos expuestos a *vasos de recuperación*, cada vaso con su algodón impregnado con agua azucarada. Transportar en cajas de cartón cubiertas con una franela húmeda. Tomar las lecturas siguientes a las 3, 6, 12 y 24 horas para dictaminar la mortalidad.

7.- Colocar un grupo *testigo* dentro de una vivienda que no haya sido rociada. La colocación se hará con la misma técnica mencionada en los puntos 3 y 4, y los mosquitos *testigo* seguirán el mismo proceso que los mosquitos expuestos.

8.- Registrar durante la prueba los datos en el formato PB-P: Ficha técnica del insecticida, temperatura, humedad y la mortalidad a las 24 hrs. Cada formato corresponderá a una vivienda. Realizar un mínimo de 3 repeticiones de la prueba en la misma semana con diferentes tipos de sustrato.

8.4 Prueba Biológica con Larvicida (*temefos*)

Preparación

1.- Colectar larvas de un solo lote (Localidad o Colonia), y no combinar con el de otras áreas. En su defecto poner a emerger huevos en charolas, en el laboratorio.

2.- Sólo se ocuparán larvas de tercer estadio, **no** utilizar larvas de cuarto estadio por que al momento de entrar en contacto con el *temefos* aceleran su metabolismo (del 40 al 50% llegaría a pupar y por consecuencia el bioensayo no sería útil).

3.- Usar recipientes con capacidad de un litro. En 10 de ellos se aplicará el producto a evaluar y un recipiente más que se utilizará como testigo.



4.- Llenar cada recipiente con un litro de agua, tomarla directamente de la toma de agua. No utilizar agua de tinacos u otro tipo de contenedor que pudiera haber sido tratado con larvicida.

5.- Colocar 10 larvas de tercer estadio en cada recipiente, incluyendo el que contiene al grupo *testigo*.

6.- Seleccionar de forma aleatoria un costal de *temefos*, de aquellos que se estén utilizando en campo al momento de la prueba y obtener una muestra de la parte media del costal; pesarla en una balanza *granataria* en cantidades de 0.1 grs.

7.- Aplicar en cada recipiente con larvas la cantidad pesada (0.1 grs).

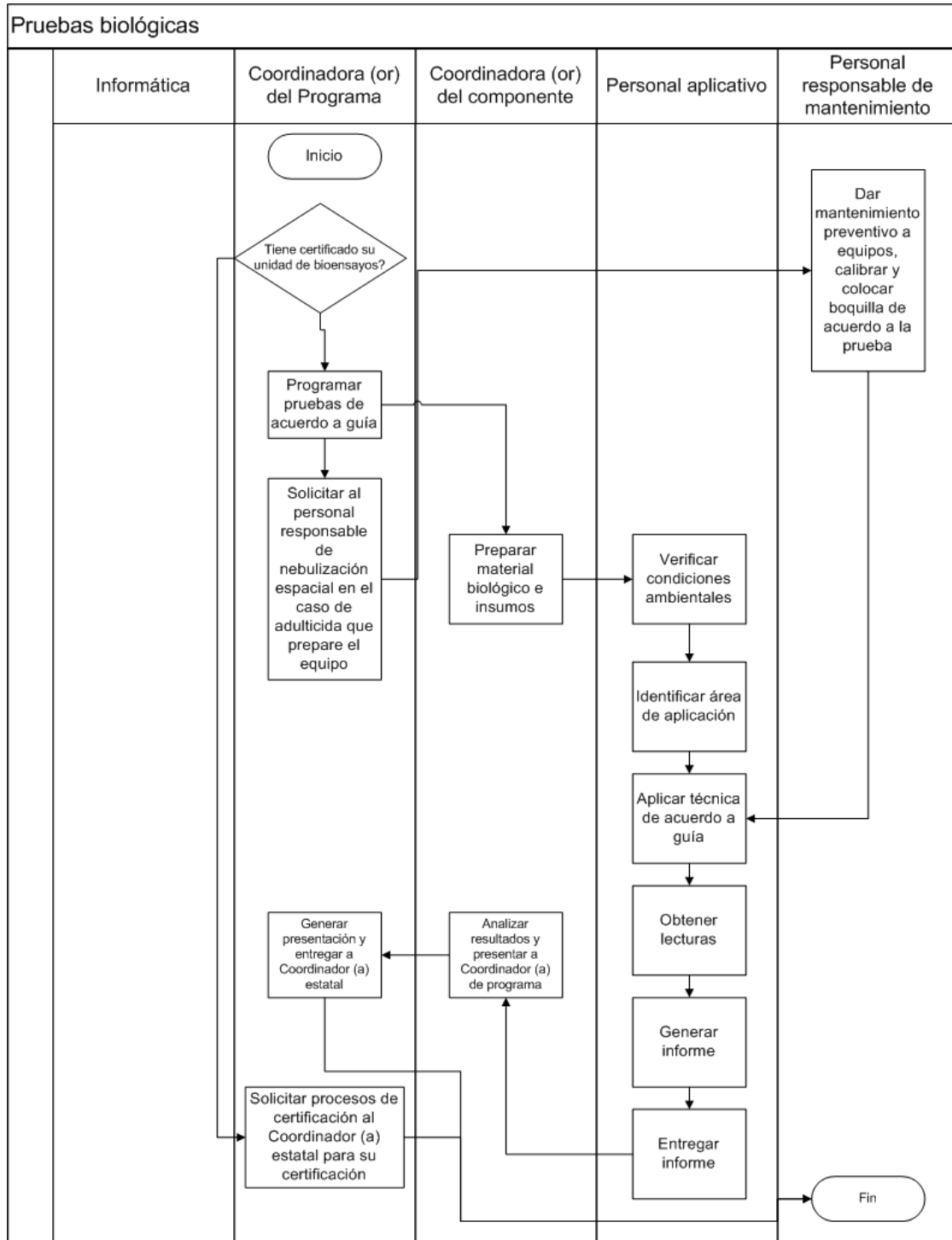
8.- Registrar los datos de los factores ambientales, principalmente temperatura y humedad relativa, cada vez que se tome una lectura. Se deberán registrar los datos del producto como son la formulación química, nombre comercial, número de lote, fecha de caducidad y número de registro de **CICLOPLAFEST**.

9.- Una vez aplicado el *temefos* en los recipientes, y a partir de ese momento se tomará el tiempo. Para registrar el número de *caídos*, las lecturas se tomarán a las 1, 3, 6, 12 y 24 hrs. siendo esta última la que indique la mortalidad.

Es importante señalar que el número de repeticiones de la prueba estará en función de los insumos y recursos humanos con que cuente la Jurisdicción, o del propio interés por detectar oportunamente alguna resistencia al producto, es decir que entre más repeticiones, mayor significancia tendrá el bioensayo.

Para evaluar el efecto residual del producto la prueba se puede realizar en campo. Seleccionar un mínimo de 5 contenedores por vivienda (tanques, tambos, piletas, tinacos). Dosificar adecuadamente la cantidad de *temefos* y dar seguimiento semanal para conocer el tiempo efectivo de duración del ingrediente activo.

Anexo 1. Algoritmo de Procedimientos



FORMATOS PARA PRUEBAS BIOLÓGICAS

Formato para Pruebas Biológicas Lineales para 10 Jaulas.

PRUEBAS BIOLÓGICAS LINEALES							PB-L
Estado: _____		Municipio: _____		Localidad: _____		Colonia: _____	Jurisdicción Num. _____
Concepto	Temperatura °C	Humedad Relativa %	Velocidad del Viento	Lluvias Si / No	Ficha Técnica del Insecticida		
Registro a la Llegada del Area					Nombre Comercial		
Registro Durante el Bioensayo					Nombre Químico		
Registro al retirarse del Bioensayo					Formulación		
Marca de la Maquina Nebulizadora: _____				Modelo: _____		Mezcla	
Numero de Serie: _____		Inclinación de la Boquilla: _____		Descarga ml/min: _____		Fecha de servicio de la Maquina: _____	
Tamaño de Gota: _____		Marca del Calibrador: _____		Modelo: _____		Registro CICLOPLAFEST	
VEHICULO Marca: _____		Modelo: _____		Velocidad al Momento de la Prueba: _____			
Material Biológico							
Estado: _____		Municipio: _____		Localidad y/o Colonia: _____			
Genero: _____		Especie: _____		Numero de Mosquitos Expuestos: _____			
Numero de Jaula	Mosquitos Expuestos	Caidos				Mortalidad 24 hrs.	Hora de Inicio de la Prueba
		30'	3 hrs	6 hrs	12 hrs		Hora al Terminar la Prueba
1							Comentarios:
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
SUMA							
TESTIGOS							
						Mortalidad Final a las 24 hrs	
Nombre y Firma de Quien Coordino el Bioensayo				Nombre y Firma de Auxiliares del Bioensayo			

Formato para Pruebas Biológicas Lineales para 20 Jaulas.

PRUEBAS BIOLÓGICAS LINEALES							PB-L
Estado: _____		Municipio: _____		Localidad: _____		Colonia: _____	Jurisdicción Num. _____
Concepto	Temperatura °C	Humedad Relativa %	Velocidad del Viento	Lluvias Si / No	Ficha Técnica del Insecticida		
Registro a la Llegada del Area					Nombre Comercial		
Registro Durante el Bioensayo					Nombre Químico		
Registro al retirarse del Bioensayo					Formulación		
Marca de la Maquina Nebulizadora: _____			Modelo: _____		Mezcla		
Numero de Serie: _____		Inclinación de la Boquilla: _____		Descarga ml/min: _____		Fecha de servicio de la Maquina: _____	
Tamamaño de Gota: _____		Marca del Calibrador: _____		Modelo: _____		Registro CICLOPLAFEST	
VEHICULO Marca: _____		Modelo: _____		Velocidad al Momento de la Prueba: _____			
Material Biológico							
Estado: _____		Municipio: _____		Localidad y/o Colonia: _____			
Genero: _____		Especie: _____		Numero de Mosquitos Expuestos: _____			
Numero de Jaula	Mosquitos Expuestos	Caidos				Mortalidad 24 hrs.	Hora de Inicio de la Prueba
		30'	3 hrs	6 hrs	12 hrs		Hora al Terminar la Prueba
1							Comentarios:
1-A							
2							
2-A							
3							
3-A							
4							
4-A							
5							
5-A							
6							
6-A							
7							
7-A							
8							
8-A							
9							
9-A							
10							
10-A							
SUMA							
TESTIGOS							
						Mortalidad Final a las 24 hrs	
Nombre y Firma de Quien Coordino el Bioensayo				Nombre y Firma de Auxiliares del Bioensayo			

Formato para Pruebas Biológicas con Obstáculos

PRUEBAS BIOLÓGICAS CON OBSTACULOS

PB-0

Estado: _____		Municipio: _____		Localidad: _____		Colonia: _____		Jurisdicción Num. _____	
Concepto		Temperatura °C	Humedad Relativa %	Velocidad del Viento	Lluvias Si / No	Ficha Técnica del Insecticida			
Registro a la llegada del Área						Nombre Comercial			
Registro Durante el Bioensayo						Nombre Químico			
Registro al retirarse del Bioensayo						Formulación			
Marca de la Máquina Nebulizadora: _____				Modelo: _____		Mezcla			
Número de Serie: _____		Inclinación de la Boquilla: _____		Descarga ml/min: _____		Fecha de servicio de la Máquina: _____			
Tamaño de Gota: _____		Marca del Calibrador: _____		Modelo: _____		Registro CICLOPLAFEST _____			
VEHICULO		Marca: _____		Modelo: _____		Velocidad al Momento de la Prueba: _____			
Material Biológico									
Estado: _____		Municipio: _____		Localidad y/o Colonia: _____					
Genero: _____		Especie: _____		Número de Mosquitos Expuestos: _____					
Número de Jaula	SITIO DE COLOCACION EN LA VIVIENDA	Mosquitos Expuestos	Caidos				Mortalidad 24 hrs.	Hora de Inicio de la Prueba	
			30'	3 hrs	6 hrs	12 hrs		Hora al Terminar la Prueba	
1							Tiempo que Duro la Prueba		
2							Comentarios:		
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									
SUMA									
TESTIGOS									
						Mortalidad Final a las 24 hrs			
Nombre y Firma de Quien Coordino el Bioensayo				Nombre y Firma de Auxiliares del Bioensayo					

Formato para Pruebas Biológicas de Susceptibilidad

PRUEBAS BIOLÓGICAS DE SUSCEPTIBILIDAD

Estado: _____ Municipio: _____ SEMANA EPI. _____
 Localidad: _____ Jurisdicción Num. _____

Ficha Técnica del Insecticida	
Nombre Comercial	_____
Nombre Químico	_____
Formulación	_____
Registro CICLOPLAFEST	_____



Material Biológico			
Estado: _____	Municipio: _____	Localidad y/o Colonia: _____	
Genero: _____	Especie: _____	Criada en Laboratorio u obtenida en Campo: _____	

Numero	Larvas Expuestas	Caidos				Mortalidad 24 hrs.
		1 hr	3 hrs	6 hrs	12 hrs	
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
SUMA						
TESTIGOS						

Nombre y Firma de Quien Coordino el Bioensayo

Nombre y Firma de Auxiliares del Bioensayo



Formato para Pruebas Biológicas de Pared

SALUD SECRETARÍA DE SALUD		PRUEBAS BIOLÓGICAS DE PARED		PB-P			
Estado: _____		Municipio: _____		Localidad: _____			
Municipio: _____		Localidad: _____		Colonia: _____			
Ficha Técnica del Insecticida				Jurisdicción Num. _____			
Nombre Comercial	_____	Marca de la Motomochila: _____					
Nombre Químico	_____	Modelo: _____					
Formulación	_____	Descarga ml/min: _____					
Mezcla	_____	Numero de Serie: _____	Temperatura °C	Humedad Relativa %			
Registro CICLOPLAFEST	_____	Numero de Boquilla: _____					
Material Biológico							
Estado: _____		Municipio: _____		Localidad y/o Colonia: _____			
Genero: _____		Especie: _____		Numero de Mosquitos Expuestos: _____			
Numero de Cono	TIPO DE SUSTRATO*	Mosquitos Expuestos	Caidos				Mortalidad 24 hrs.
			30'	3 hrs	6 hrs	12 hrs	
1							
2							
3							
4							
5							
SUMA							
TESTIGOS							
						Mortalidad Final a las 24 hrs	
Nombre y Firma de Quien Coordino el Bioensayo			Nombre y Firma de Auxiliares del Bioensayo				

Bibliografía

WHO/HTM/ NTD/WHOPES 2009.2. World Health Organization (WHO). 2009. *Guidelines for efficacy testing of insecticides for indoor and outdoor ground-applied space spray applications.*

WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1. World Health Organization (WHO). 2006. *Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health.*