

Esta norma fue consultada a través de InfoLEG, base de datos del Centro de Documentación e Información, Ministerio de Economía y Finanzas Públicas.

## **Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica**

### **SALUD PUBLICA**

#### **Disposición 143/2009**

**Incorpórase a la Disposición ANMAT N° 7292/98, la categoría denominada "Plaguicida de Uso exclusivo en Salud Pública".**

Bs. As., 20/1/2009

VISTO La Resolución N° 709/98 del ex Ministerio de Salud y Acción Social, las Disposiciones ANMAT N° 7292/98 y 7334/99, y el Expediente N° 1-47-2110-4514/08-9.

#### **CONSIDERANDO:**

Que la Resolución ex M.S. y A.S. N° 709/98 regula el registro de los productos de uso doméstico, denominados genéricamente productos domisanitarios, creando el Registro Nacional de Productos Domisanitarios.

Que asimismo establece que esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (A.N.M.A.T.) organizará y reglamentará el funcionamiento del referido Registro y dictará las normas aclaratorias y complementarias necesarias.

Que el artículo 3° de la Resolución ex M.S. y A.S. N° 709/98 define al producto domisanitario como "a aquellas sustancias o preparaciones destinadas a la limpieza, lavado, odorización, desodorización, higienización, desinfección o desinfestación para su utilización en el hogar, y/o ambientes colectivos públicos y/o privados".

Que asimismo la aludida Resolución establece en el artículo 6° que a los efectos de la registración, los productos serán considerados de Riesgo I y de Riesgo II, considerando a los insecticidas destinados a campañas de salud como productos de riesgo II, Grupo B, según el Anexo II de la mencionada norma.

Que en virtud de lo dispuesto en la Resolución ex M.S. y A.S. N° 709/98 esta Administración Nacional dictó la Disposición A.N.M.A.T. N° 7292/98, definiendo al producto desinfestante como aquél que tenga por finalidad, controlar y prevenir todas las plagas que puedan afectar los ambientes domiciliarios, colectivos o públicos (cfr. Anexo XI, Definiciones, punto 3.1.7)

Que asimismo establece que para registrar productos desinfestantes las empresas deben informar, entre otros datos, la categoría/Clase de uso mediante declaración jurada.

Que según lo establece la Disposición ANMAT N° 7292/98, existen dos categorías o Clases de Uso que son: Productos de venta libre al consumidor y Productos de venta restringida a entidades especializadas.

Que hasta la fecha los productos destinados a ser empleados en el control de plagas de interés sanitario se han inscripto como productos de venta restringida a Entidades Especializadas por no estar contemplada una categoría específica en la normativa vigente.

Que la evaluación riesgo beneficio depende, entre otros muchos factores, de la categoría de uso.

Que el registro de productos para uso exclusivo en Salud Pública implica la presentación de ensayos de eficacia de laboratorio y de campo sobre el vector blanco.

Que es necesario establecer pautas de rotulado específicas para esta categoría de productos, que complementen lo exigido a este respecto por la Disposición ANMAT N° 7292/98.

Que ha resultado necesario establecer prohibiciones o restricciones respecto de la presencia o concentración de determinados principios activos en productos de venta libre al consumidor y de venta restringida a entidades especializadas.

Que, sin embargo, podría aceptarse la presencia o concentraciones más altas de dichos activos en productos a ser utilizados en campañas de salud y/o en acciones de lucha antivectorial, teniendo en cuenta la calificación de los aplicadores, las supervisiones y controles a las que están sometidas dichas acciones, la necesidad indispensable de prevenir enfermedades contra las cuales no existen aún vacunas ni tratamientos médicos y la detección de resistencia a insecticidas en poblaciones de insectos vectores.

Que en base a lo expuesto, resulta necesaria la incorporación explícita de una tercer categoría o clase de uso de productos registrados para uso exclusivo en acciones de lucha antivectorial por parte de organismos estatales de Salud Pública.

Que en consecuencia, es oportuno definir los productos registrados para uso exclusivo en Salud Pública.

Que la evaluación de riesgo de los formulados para uso exclusivo en salud Pública debe contemplar no sólo la toxicidad del formulado, sino también la plaga a combatir, la epidemiología de la enfermedad a prevenir, la calificación de los trabajadores que operan en la guarda y aplicación de los productos, el medio en que se aplicará, la forma de aplicación, el tipo de formulado y de envase, el nivel de exposición del ser humano, el impacto potencial sobre el ambiente, y todo otro factor que los evaluadores estimen considerar.

Que por Disposición ANMAT Nº 2659/08, se ha prohibido la Venta Libre y la Venta Profesional de productos desinfectantes domisanitarios cuyas formulaciones contengan el principio activo malatión.

Que en la misma Disposición se ha establecido la prohibición de la venta libre de formulaciones de productos desinfectantes domisanitarios que contengan el principio activo diclorvós y se ha fijado su concentración máxima permitida en no más de 0,5% en formulaciones de productos desinfectantes domisanitarios líquidos no presurizados de Venta y Uso Profesional exclusivo.

Que la Disposición ANMAT Nº 2659/08 también ha establecido la prohibición del uso del principio activo diclorvós en formulaciones de productos en aerosol.

Que los principios activos malatión y diclorvós podrían resultar una alternativa necesaria bajo condiciones de registro de formulados más estrictas, considerando la resistencia de poblaciones de *Triatoma infestans* detectada en nuestro país frente a los principios activos piretroides

Que es indispensable la incorporación a la normativa de un protocolo para evaluación de eficacia de los productos a registrar sobre el *Aedes aegypti*.

Que en virtud de todo lo expresado corresponde incorporar una categoría más de uso a las fijadas por la Disposición ANMAT Nº 7292/98 que establece los requisitos que se deben cumplimentar a los fines del registro de los productos domisanitarios.

Que se considera pertinente acotar las exigencias establecidas por el art. 3º de la Disposición ANMAT 7334/99 específicamente a los productos fumígenos vinchuicidas.

Que en consecuencia, resulta necesario sustituir el art. 3º de la Disposición ANMAT 7334/99.

Que el Instituto Nacional de Alimentos y la Dirección de Asuntos Jurídicos de esta Administración han tomado la intervención que les compete.

Que se actúa en virtud de las facultades conferidas por el Decreto 1490/92 y Decreto Nº 253/08.

Por ello,

EL INTERVENTOR DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA

DISPONE:

**Artículo 1º** — Incorpórase a la Disposición ANMAT Nº 7292/98, la categoría denominada "Plaguicida de Uso exclusivo en Salud Pública". A los fines de su registro serán de aplicación los requisitos exigidos por la Disposición A.N.M.A.T. Nº 7292/98 para productos de riesgo II B y sus actualizaciones y lo dispuesto en la presente Disposición.

**Art. 2º** — Establécese la siguiente definición de Plaguicida de Uso exclusivo en Salud Pública:

"Plaguicida de uso exclusivo en Salud Pública: plaguicida formulado que únicamente será utilizado en

acciones y/o campañas estatales contra vectores de enfermedades humanas; a ser aplicado en áreas o espacios interiores o exteriores de viviendas, peridomicilios, edificios, e instalaciones públicas".

**Art. 3º** — Prohíbese la comercialización, distribución, circulación, publicidad o cesión gratuita de los productos registrados bajo la categoría establecida en el artículo 1º de la presente para otros fines y usos distintos de los contemplados en el artículo 2º.

**Art. 4º** — Sustitúyese el art. 3º de la Disposición ANMAT 7334/99, el cual quedará redactado de la siguiente manera:

"Los productos fumígenos vinchuquicidas se deben someter a Pruebas de Seguridad realizadas en no menos de 50 unidades informando: a) Porcentaje de encendido, b) Porcentaje de anomalías si las hubiera (explosiones, derrame de contenido, etc.)."

**Art. 5º** — Las empresas titulares de certificados de Registro Nacional de Productos de Uso Doméstico (RNP-UD) correspondientes a productos para Venta y uso restringidos a Entidades Especializadas, destinados a su empleo en acciones de lucha antivectorial, deberán iniciar el trámite de solicitud de registro del producto bajo la categoría de "Plaguicida de Uso Exclusivo en Salud Pública", dentro de los 30 días hábiles posteriores a la entrada en vigencia de la presente.

**Art. 6º** — Autorízase el empleo del principio activo diclorvós en potes fumígenos vinchuquicidas destinados como "Plaguicida de Uso exclusivo en Salud Pública".

**Art. 7º** — Autorízase el empleo del principio activo malatión en formulaciones destinadas a "Uso exclusivo en Salud Pública", con una concentración de la impureza isomalatión que no supere los límites establecidos por FAO/OMS, con tiempo de validez acotado y estrictas indicaciones relativas a condiciones de almacenamiento en sus rótulos.

**Art. 8º** — El rotulado de los productos de "Plaguicida de Uso Exclusivo en Salud Pública" debe cumplimentar los requisitos establecidos por la Disposición ANMAT Nº 7292/98 y sus modificatorias, así como los que constan en el Anexo I de la presente disposición.

**Art. 9º** — Los Plaguicidas de Uso Exclusivo en Salud Pública cuyo empleo se proponga para el control del *Aedes aegypti* deben someterse a ensayos de eficacia de campo según el Protocolo marco elaborado por el Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas, CIPEIN, Centro colaborador de la OMS en nuestro país en susceptibilidad y resistencia de los insectos vectores de la Enfermedad de Chagas y del Dengue, Protocolo que consta en el Anexo II de la presente.

**Art. 10.** — Regístrese, dése a la Dirección Nacional de Registro Oficial para su publicación. Notifíquese a las cámaras y asociaciones profesionales correspondientes. Comuníquese a la Dirección de Planificación y Relaciones Institucionales. Cumplido, gírese al INAL para la continuación del trámite y archívese. — Ricardo Martínez.

#### ANEXO I- ROTULADO

##### CONDICIONES GENERALES.

Las leyendas, representaciones gráficas, figuras, pictogramas o diseños necesarios del etiquetado, deben aparecer claramente visibles y fácilmente legibles, evitando confundir o inducir al mal uso del producto. Los materiales de impresión empleados, deberán ser de una calidad tal, que resistan la acción de los agentes atmosféricos bajo condiciones normales de uso y almacenamiento.

Las leyendas deberán ser claras, precisas, concisas y veraces.

La etiqueta debe abarcar, por lo menos, el 75 por ciento de la superficie total del envase en presentaciones de cinco litros o cinco kilos. Para envases o empaques superiores se deberá adecuar la etiqueta al tamaño del envase.

El tamaño de la letra en el panel principal deberá ser:

| Superficie del rotulo del panel principal   | Tamaño de letra en mm              |                         |
|---------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
|                                             | Frases de Advertencia en Mayúscula | Advertencias para Niños |
| Hasta 32 cm <sup>2</sup>                    | 2.1mm                              | 2.1mm                   |
| de 32 cm <sup>2</sup> a 64 cm <sup>2</sup>  | 3.5 mm                             | 2.1 mm                  |
| de 64 cm <sup>2</sup> a 97 cm <sup>2</sup>  | 4.2 mm                             | 2.8 mm                  |
| De 97 cm <sup>2</sup> a 194 cm <sup>2</sup> | 4.9 mm                             | 3.5 mm                  |
| Mayor de 194 cm <sup>2</sup>                | 6.3 mm                             | 4.2 mm                  |

- El tamaño mínimo de letra debe ser de 2.1 mm. para cualquier caso.

#### PANEL PRINCIPAL.

- DENOMINACION DEL PRODUCTO (Ejemplos: insecticida, raticida) Tipo de formulado: Forma física.
- MARCA.
- Composición (nombre común y concentración de cada uno de los principios activos y otros componentes de importancia toxicológica).
- Debajo de la marca deben figurar las siguientes leyendas de manera destacada:

#### PARA USO EXCLUSIVO EN SALUD PUBLICA

#### **PROHIBIDO SU USO PARA FINES DISTINTOS AL CONTROL INSTITUCIONAL DE PLAGAS DE INTERES SANITARIO**

#### PROHIBIDA SU VENTA LIBRE O A ENTIDADES ESPECIALIZADAS PARA EL USO PROFESIONAL.

Además, deberán constar en el rótulo los siguientes datos, así como los exigidos por la Disposición ANMAT N° 7292/98 y sus actualizaciones.

#### Ambitos de aplicación

- Forma de aplicación requerida y/o preferida
- Cantidad de insecticida a ser aplicado
- Restricciones de uso, tales como factores climáticos, hora del día, estación del año, contaminación de áreas sensibles, superficies a tratar, exposición de especies no blanco, y todo otro dato de importancia.
- Métodos de aplicación permitidos.
- Intervalos entre aplicaciones teniendo en cuenta todos los usos posibles.
- Tiempo de reingreso a los locales desinfestados.
- Protección de los aplicadores
- Centro Nacional de Intoxicaciones 0800-333-0160

#### ANEXO II

Protocolo de ensayo de campo para la evaluación de productos para el control de Aedes aegypti

Objetivo: Evaluar la eficacia de los insecticidas potencialmente utilizables en campañas de control del *Aedes aegypti* como adulticidas, aplicados según las técnicas convencionales de Ultra Bajo Volumen, en equipamiento pesado montado en vehículo mediante niebla fría y en equipos portátiles, tanto en termonebulización como en niebla fría.

#### Consideraciones generales:

1. Debido a la elevada exposición del aerosol aplicado en zonas urbanas, el producto deberá ser acompañado de un informe de factibilidad de uso, mediante parámetros toxicológicos y ambientales (Por ejemplo, irritación ocular, dérmica e inhalatoria).
2. El informe de rendimiento del producto deberá incluir cualquier causa de posible descalificación, como formación de grumos, ruptura de la emulsión, excesiva corrosión, inflamabilidad, etc.
3. La evaluación de eficacia como producto para el control de *Aedes* es requisito para campañas oficiales y no para uso profesional de control de mosquitos en forma privada.
4. Se deja establecido que las condiciones aquí redactadas son pasibles de correcciones y/o modificaciones por organismos competentes en la materia.

### Capítulo 1 - Consideraciones sobre el material biológico

Los ensayos de impacto directo se realizarán sobre cepas de mosquitos susceptibles de referencia, como por ejemplo la Cepa Rockefeller. El objetivo es evaluar la eficacia de un producto, independientemente del nivel de susceptibilidad local de la población de insectos.

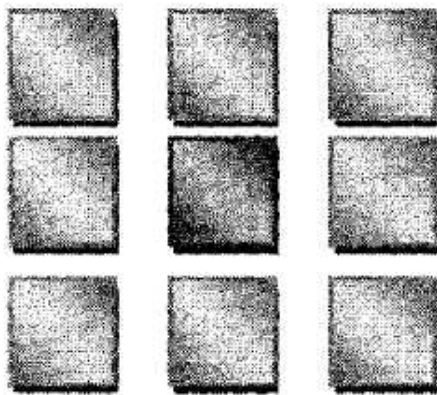
Las mediciones de impacto poblacional se realizarán sobre la población de campo de la zona bajo ensayo, que no deberá registrar resistencia a los productos bajo evaluación.

Detalles sobre la cría se desarrollan en el Anexo 4

### Capítulo 2 - Consideraciones sobre el área de ensayo

Las áreas tratadas y las no tratadas deben ser tan similares como sea posible con respecto al tipo de viviendas, características socio-económicas, diseño de las calles y otros factores que probablemente puedan afectar los mosquitos destinatarios y el movimiento del aerosol

Para minimizar el efecto de mosquitos que entran de los barrios no tratados del área tratada debe incluir una zona "buffer" o de amortiguación, que se extienda idealmente 1000 m más allá del área central de evaluación entomológica. Las barreras naturales, como los ríos, espacios abiertos grandes, o bosques densos pueden sustituir la zona "buffer" o de amortiguación.



Para el ensayo de máquinas portátiles se recomienda tomar 20 casas al azar en la zona central de un

bloque de nueve manzanas, de tres manzanas de lado, tratadas completamente.

Para el ensayo con equipamiento pesado, la maquinaria deberá cubrir una zona de tres hectáreas de lado, y las jaulas y/u ovitrampas ser colocadas en viviendas de la manzana central.

Se deberán considerar además otras dos zonas, una del blanco sin tratamiento, y otra del blanco positivo, contrastando contra Permetrina, en cualquiera de su enriquecimiento en isómeros, formulación CE, según metodología de uso corriente.

La metodología de aplicación será detallada en el anexo 3.

### Capítulo 3 – Consideraciones sobre los métodos de monitoreo

Se recomienda un método de medición de impacto global del rociado (impacto sobre la población local del mosquito vector) y otro de impacto directo de eficacia del producto.

Un monitoreo pre-tratamiento deberá ser llevado a cabo en dos áreas durante por lo menos tres días; un área tratada y otra área no tratada; ambas áreas deberán ser diariamente monitoreadas hasta que la población de mosquitos en el área rociada recupere los niveles encontrados en el pretratamiento. El impacto del tratamiento se evalúa comparando los cambios en el recuento diario de la población en el área tratada contra el área no tratada.

Se recomienda como método de monitoreo de la población de *Aedes aegypti* el uso de ovitrampas con infusión olfatoria atrayente, a través de la presencia de huevos (oviposición).

Detalles de esta metodología se desarrollan en el Anexo 1.

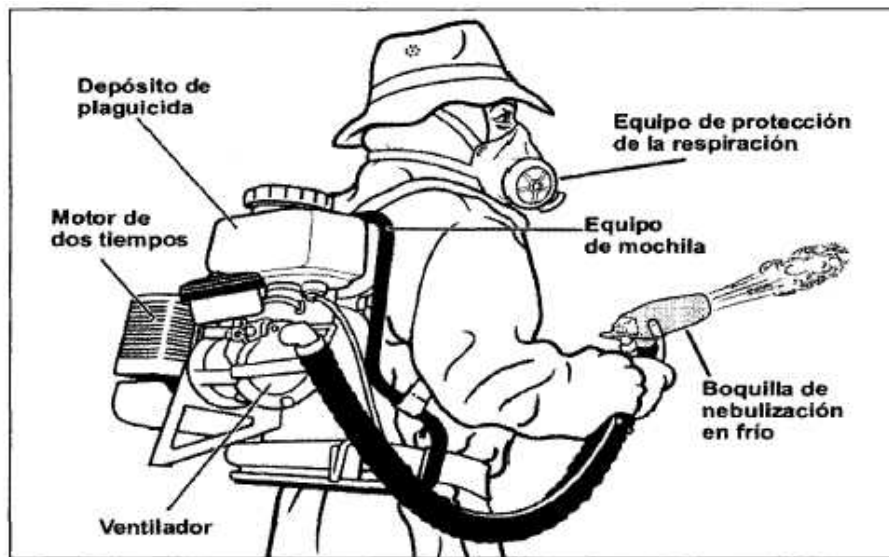
Para la medición directa de la eficacia del producto a ensayar se recomienda la evaluación de mortalidad a 24 y 48 hs. en jaulas con mosquitos adultos.

Detalles de esta metodología se desarrollan en el Anexo 2.

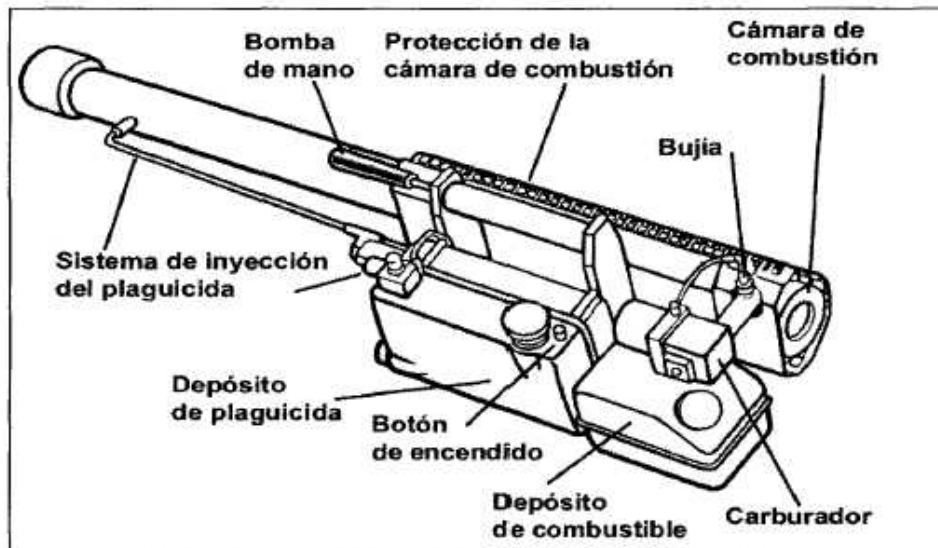
### Capítulo 4 - Consideraciones sobre los equipos de aplicación

Se recomienda la evaluación del producto en la metodología de ULV en:

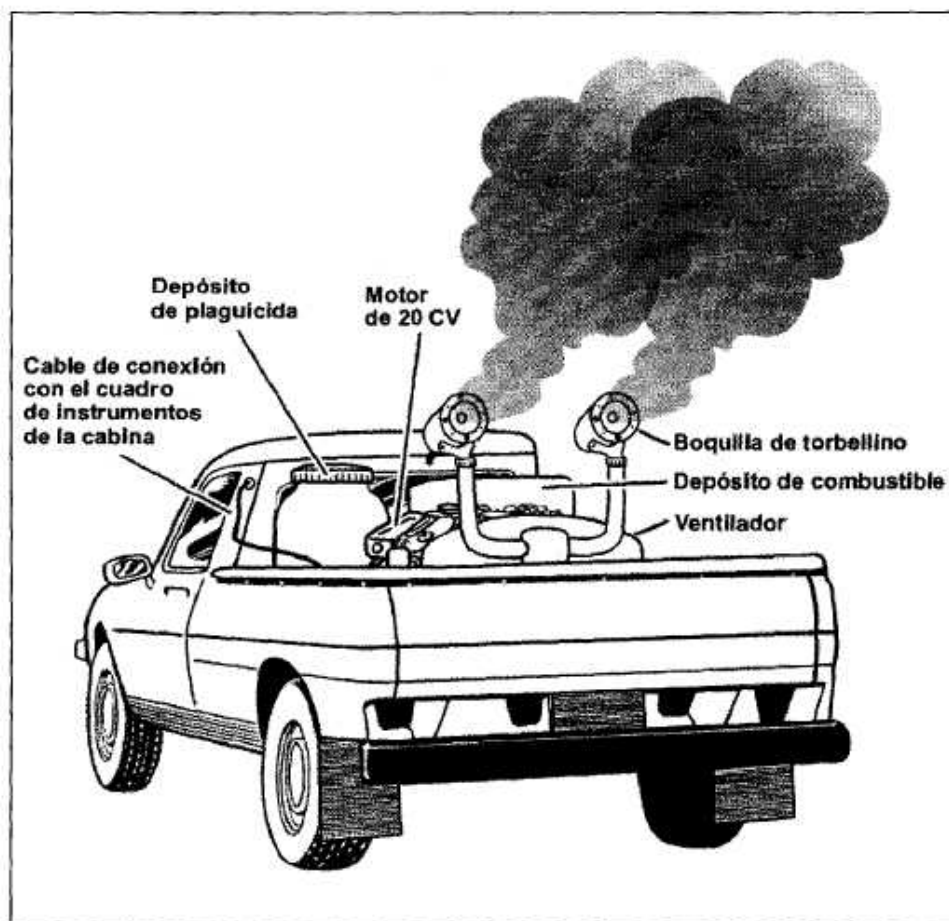
a) Equipos portátiles motomochila generadores nativos de ULV en aerosol frío.



b) Equipos portátiles termonebulizadores, generadores de niebla caliente.



c) Equipamiento generador de niebla en frío, montado en vehículos.



### Calibración de los equipos

Cada insecticida tiene propiedades físicas y químicas y una efectividad biológica determinadas. Los fabricantes de insecticidas recomiendan porcentajes de dosis diferentes para situaciones de control específicas y especies concretas. Por consiguiente, se debe calibrar cada máquina para garantizar que distribuya el volumen correcto de insecticida. La tasa de aplicación de la máquina (volumen distribuido por unidad de tiempo) dependerá de la velocidad del vehículo (o el tiempo de aplicación y caudal de la boquilla por casa/vivienda con el equipo portátil), la anchura efectiva del frente de pulverización (metros) y el volumen de la preparación química según la recomendación del fabricante (litros por hectárea, incluidos los excipientes).

Las aplicaciones en base acuosa deberán contemplar el agregado de antievaporantes del tipo polietilenglicol o similar.

## Capítulo 5 — Consideraciones sobre la metodología de aplicación

### Aplicación en espacios abiertos:

Para calcular la tasa de aplicación del equipo montado en el vehículo, hay que conocer la velocidad del vehículo y la anchura del espacio entre los recorridos. Así, un espacio de 100 metros entre los recorridos y una velocidad del vehículo de 10 km/h,  $100 \times 10.000 \text{ m/h}$ , permitirá el tratamiento de  $1.000.000 \text{ m}^2/\text{h}$ , equivalente a  $10.000 \text{ m}^2$  (una hectárea) por minuto. En este ejemplo, si la etiqueta del insecticida recomienda una tasa de aplicación de 0,5 litros de la formulación de volumen ultrabajo por hectárea, el caudal se debe ajustar a una distribución de 0,5 litros por minuto. El nebulizado se realizará con las boquillas apuntando hacia atrás de la trayectoria del vehículo, trayectoria que deberá ser perpendicular al viento. Las condiciones atmosféricas deberán mantenerse dentro de los parámetros ideales durante todo el ensayo.

La mayoría de las máquinas de volumen ultrabajo se pueden ajustar fácilmente para lograr el caudal que se requiere.



## Aplicaciones en espacios cerrados

La calibración del equipo para las aplicaciones en espacios cerrados se suele basar en la dosis por casa o habitación. Así pues, hay que calcular el tiempo necesario para pulverizar una casa o una habitación. Con un caudal de 20 ml/min y siendo la superficie de la casa de 0,04 hectáreas (400 m<sup>2</sup>), la tasa de aplicación establecida de 0,5 litros por hectárea (500 x 0,04) se distribuye en un minuto. Hay que hacer un cálculo semejante cuando se trata de otras situaciones, por ejemplo control de insectos en zonas donde hay basurales.

Detalles de ambas metodologías se describen en el anexo 3.

### Capítulo 6 — Registro de datos

Los datos no tendrán ningún valor si éstos no son registrados con precisión. Cada método brinda datos basados en una rutina de 24 horas, por lo tanto diariamente debe utilizarse un nuevo formulario de registro tanto de campo como de laboratorio. Si hay datos perdidos, éstos deben registrarse cuidadosamente. Es altamente recomendable que los colectores apunten cualquier observación u otra información pertinente.

Se deberá incluir formulario de Consentimiento Informado.

### Referencias seleccionadas.

P. Reiter y M.B. Nathan. WHO/CDS/CPE/PVC/2001.1

GUIAS PARA LA EVALUACION DE LA EFICACIA DEL ROCIADO ESPACIAL DE INSECTICIDAS PARA EL CONTROL DEL VECTOR DEL DENGUE *Aedes aegypti*.

Focks, D. A., K. O. Kloter, and G. T. Carmichael, 1987:

The impact of sequential ultra-low-volume ground aerosol applications of malathion on the population dynamics of *Aedes aegypti* (L.). *Am J Trop Med Hyg*, 36, 639-47.

Fox, I. and P. Specht, 1988: Evaluating ultra-low-volume ground applications of malathion against *Aedes aegypti* using landing counts in Puerto Rico, 1980-84. *J Am Mosq Control Assoc*, 4, 163-7.

Gerberg, E., Bamard, D. and Ward, R., 1994. Manual for Mosquito Rearing and Experimental Techniques. American Mosquito Control Association.

Mount, G. A., 1998: A critical review of ultra-low-volume aerosols of insecticide applied with vehicle-mounted generators for adult mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc*, 14, 305-34.

Newton, E. A. and P. Reiter, 1992: A model of the transmission of dengue fever with an evaluation of the impact of ultra-low-volume (ULV) insecticide applications on dengue epidemics. *Am J Trop Med Hyg*, 47, 709-20.

Reiter, P. and D. J. Gubler, 1997: Surveillance and control of urban dengue vectors. *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*, D. J. Gubler and G. Kuno, Eds., CAB International, 425-462.

Reiter, P., M. A. Amador, and N. Colon, 1991: Enhancement of the CDC ovitrap with hay infusions for daily monitoring of *Aedes aegypti* populations. *J Am Mosq Control Assoc*. 7, 52-5.

Organización Mundial de la Salud, 1997. Dengue hemorrágico. Diagnóstico, tratamiento, prevención y control. 2da. edición. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

Organización Mundial de la Salud, 2003. Aplicación de insecticidas por rociado espacial, para control de vectores y pestes en salud pública. Una guía para el practicante. WHO/CD S/VVHOPES/GCDPP/2003.5.

### Anexo 1

## Ovitrampas de infusión olfatoria atrayente

En su hábitat natural en Africa, el *Aedes aegypti* se cría en los agujeros de los árboles, en las axilas de las hojas y otros sitios naturales pequeños donde el agua se acumula. Sin embargo, en las zonas urbanas a lo largo de las áreas tropicales y subtropicales la especie se ha adaptado a una amplia variedad de recipientes artificiales que le sirven como sitios de oviposición. Las hembras generalmente distribuyen sus huevos entre varios sitios, simplemente pegados a la superficie sólida inmediatamente por debajo del nivel del agua. Las ovitrampas son recipientes de un tamaño conveniente que se colocan en el campo para capturar los huevos del mosquito. Pueden ser frascos de vidrio pintados de color negro, conteniendo agua limpia y una paleta de madera o de cualquier material rugoso que actúe como sustrato para la oviposición. En situaciones donde se han reducido las poblaciones del vector a niveles bajos tales que la búsqueda de larvas resulte improductiva, dicho método es un indicador útil de la presencia o ausencia de mosquitos. Sin embargo, es impropio para supervisar la actividad de oviposición diaria ya que deben dejarse en el campo durante varios días (normalmente una semana). Las infusiones de heno son mucho más atractivas a las hembras grávidas que el agua limpia; por consiguiente pueden desplegarse ovitrampas con infusión de heno en una base diaria. El promedio de huevos por trampa por día es una función del número de hembras presentes y su actividad de oviposición.

### Descripción de las ovitrampas

Se recomienda usar jarras o frascos de vidrio o plástico alrededor de 500 ml preferentemente de color oscuro. Las dimensiones no son críticas, pero todas las jarras que se usen en un estudio particular deben ser idénticas. La infusión debe hacerse empapando una cantidad fija de heno seco en una cantidad fija de agua limpia de canilla (por ejemplo 500 g en 120l).



El *Aedes aegypti* prefiere oviponer en una superficie rugosa, por tanto la superficie interna de los frascos o las jarras se cubren con un papel rugoso absorbente que permanezca duro aún cuando está húmedo. Este papel se corta de un tamaño tal que encaje cómodamente dentro de la jarra, superponiéndolo de modo que tape toda la superficie interior de la misma para asegurar que los huevos sean puestos en el papel.

Las jarras se preparan en pares; una debe contener la infusión de heno y la otra una dilución al 10% de la misma infusión (una parte de infusión más nueve partes de agua). La infusión diluida usualmente recibe más huevos pero la presencia de la infusión pura agrega atracción al par de ovitrampas.

### Preparación de las ovitrampas.

El procedimiento de la captura debe "estandarizarse" tanto como sea posible. Algunos puntos importantes son:

- Las infusiones deben hacerse en un lugar bajo sombra.
- Una nueva infusión debe prepararse siete días antes del día de la captura, para que el atrayente tenga siempre el mismo tiempo de preparación que en su día de uso.
- El mismo lote de heno debe usarse para un estudio completo (la calidad de heno puede ser bastante variable).
- La infusión debe filtrarse, a través de un cedazo o colador antes de su uso, de modo de eliminar los restos sólidos flotantes.

- La infusión diluida debe prepararse inmediatamente antes de llenar los frascos.
- Los frascos deben colocarse en bandejas, apilados de forma tal que se impida vuelcos o derrames durante el transporte y deben ser llenados con dos tercios de la infusión o con la dilución, usando una taza u otra medida.
- Después de agregar la infusión, se agrega el papel para capturar los huevos, previamente etiquetado y marcado con un lápiz, el número de sitio y la fecha.

Este debe insertarse cómodamente para encajar con las paredes del frasco.

- Las bandejas con los frascos deben protegerse de la lluvia, la luz del sol directa y los mosquitos durante el transporte, el cual preferentemente debe ser en un vehículo cubierto.

#### Areas de ensayo y sitios de muestreo

El objetivo de la captura es hacer muestreos en bastantes sitios para obtener una estimación válida estadísticamente del promedio de huevos por sitio por un período de 24 horas. Es difícil dar una cantidad específica pero la experiencia sugiere que por lo menos deben probarse 25-30 sitios. En un área de captura de 100 casas, aproximadamente en cada tercera o cuarta casa debe hacerse un muestreo. Ciertas consideraciones prácticas podrían afectar la selección de las casas en donde serán puestas las ovitrampas. Por ejemplo, los predios con portones cerrados con llave u otros obstáculos pueden impedir el trabajo de los colectores. Los sitios en donde hay niños pequeños, animales domésticos y pájaros deben evitarse porque pueden perturbar las ovitrampas.

El *Aedes aegypti* usa señales visuales para localizar sus sitios de oviposición, por lo que las ovitrampas deben colocarse en lugares en donde sean muy visibles. Es ideal en la base de una pared protegida de la lluvia y la luz directa del sol. También es preferible un fondo pálido, para contrastar con el color oscuro de los frascos. Los operadores deben explicar el propósito de su trabajo al jefe de familia y solicitar su permiso para realizar el estudio. Se les debe explicar claramente que los pares de ovitrampas se reemplazarán al mismo tiempo, todos los días, que los frascos no deben interferirse de forma alguna, y que la infusión es completamente natural e inofensiva para las personas y los animales domésticos.

#### Recambio del par de ovitrampas

Dos operadores con un vehículo deben poder retirar cerca de 100-150 pares de ovitrampas cada mañana. El trabajo debe restringirse al período de menor actividad de oviposición, típicamente dos horas después de la salida del sol y por lo menos cinco horas antes del ocaso. El nuevo par de ovitrampas debe intercambiarse por el viejo en la misma posición y en el mismo momento del día como en el día anterior. La infusión del viejo par debe desecharse y no debe reutilizarse. Los operadores deben guardar un registro de su trabajo. Si se han perturbado las trampas de forma alguna, esto debe ser anotado y el papel para huevos de ese sitio debe ser desechado. En el vehículo, deben quitarse los papeles, doblarlos por la mitad (con los huevos hacia adentro) y transferirlos a un contenedor cubierto. Los mismos pueden ser apilados pero flojamente para permitir la circulación aérea, y protegerlos de la luz del sol y el calor excesivo. Conteo de huevos e interpretación de resultados

Los huevos son visibles a simple vista pero, para tener exactitud, es mejor contarlos en el laboratorio con la ayuda de una lupa o un microscopio binocular con una amplificación de x10. Cuando muchos huevos están presentes, un contador manual es una herramienta útil para esta tarea. También es muy útil delimitar áreas en el papel con un lápiz y contar los huevos por sección.

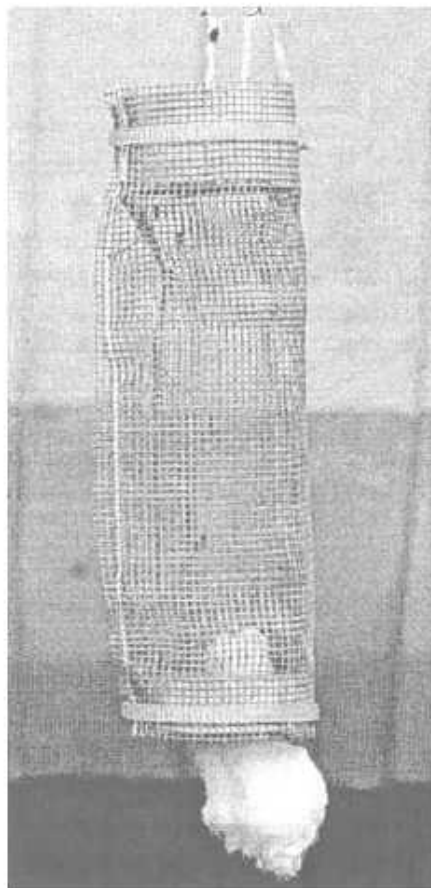
Si hay necesidad de eclosionar los huevos para que puedan surgir larvas para la identificación de la especie, los papeles deben guardarse húmedos durante 2-3 días, luego se cuelgan por unas líneas durante 1-2 días para secarse a temperatura ambiente. Luego dichos papeles ya pueden ser guardados en cajas o en bolsas selladas hasta el momento del conteo. Los huevos permanecerán viables durante al menos dos meses siempre que éstos sean guardados en un ambiente fresco, ligeramente húmedo y protegido de cucarachas y hormigas.

El número de huevos por papel debe anotarse en el formulario de campo. En regiones donde los huevos de otras especies de *Aedes* probablemente serán capturados (por ejemplo *Aedes albopictus*) deben criarse las muestras de larvas salidas de los huevos hasta alcanzar el tercer o cuarto estadio y examinarlas para determinar las especies presentes.

#### Anexo 2

Los bioensayos con mosquitos en jaulas se han usado ampliamente en los trabajos de rociado espacial contra un gran rango de especies de mosquito incluso el *Aedes aegypti*. El sitio de ubicación de las jaulas afecta mucho la mortalidad, pero esto no es una medida del impacto global del rociado en la población del mosquito vector, por ejemplo, se observan grandes diferencias entre las proporciones de mortalidad en las jaulas colocadas en sitios al aire libre si se compara con aquellas jaulas ubicadas en la vegetación densa, y entre las jaulas suspendidas en el centro de las habitaciones comparando con aquellas suspendidas en los armarios de ropa. Sin embargo, estas jaulas dan una indicación de la dispersión y penetración de las gotas. También son útiles para comparar la mortalidad de las cepas de *Aedes aegypti* local con cepas de referencia susceptibles.

El diseño de la jaula, los materiales y el tamaño de la malla influyen los resultados del ensayo. Las pruebas de túnel de viento indican que una pantalla cilíndrica con el eje longitudinal en posición perpendicular a la base es un diseño conveniente de jaula, sin tener en cuenta la dirección del viento. Un diseño de jaula simple puede construirse de una malla número 16 y 2 tapas de 2.5 centímetros con un largo de 2 centímetros. Los mosquitos se introducen a través de un agujero en la parte de abajo a través de un tapón que es cerrado con algodón empapado en agua.



Los mosquitos para el bioensayo deben obtenerse de huevos provenientes de la cría de cepas susceptibles. Las larvas que emergen de los huevos eclosionados deben criarse sin hacinamiento y con un suministro de comida adecuado para asegurar uniformidad en el tamaño. Poco antes del tratamiento, 20-25 hembras de 24-36 horas de vida alimentadas en una solución de azúcar al 2.5%, deben transferirse a cada jaula del bioensayo. Las jaulas deben transportarse al campo en cajas protegidas del calor extremo. Por lo menos deben colocarse las jaulas en cinco casas dentro del área del tratamiento. Como un mínimo para la evaluación de rociado espacial aplicado al aire libre desde las máquinas montadas en los vehículos o desde aviones, deben localizarse las jaulas en cada casa en los siguientes sitios: (a) patio de enfrente; (b) patio trasero; (c) en el interior de un sitio expuesto y (d) dentro en un sitio protegido. El mismo número de jaulas deben exponerse en estos mismos sitios en el área no tratada. Treinta minutos después de la exposición, las jaulas deben quitarse y ser llevadas al laboratorio en sus cajas de transporte.

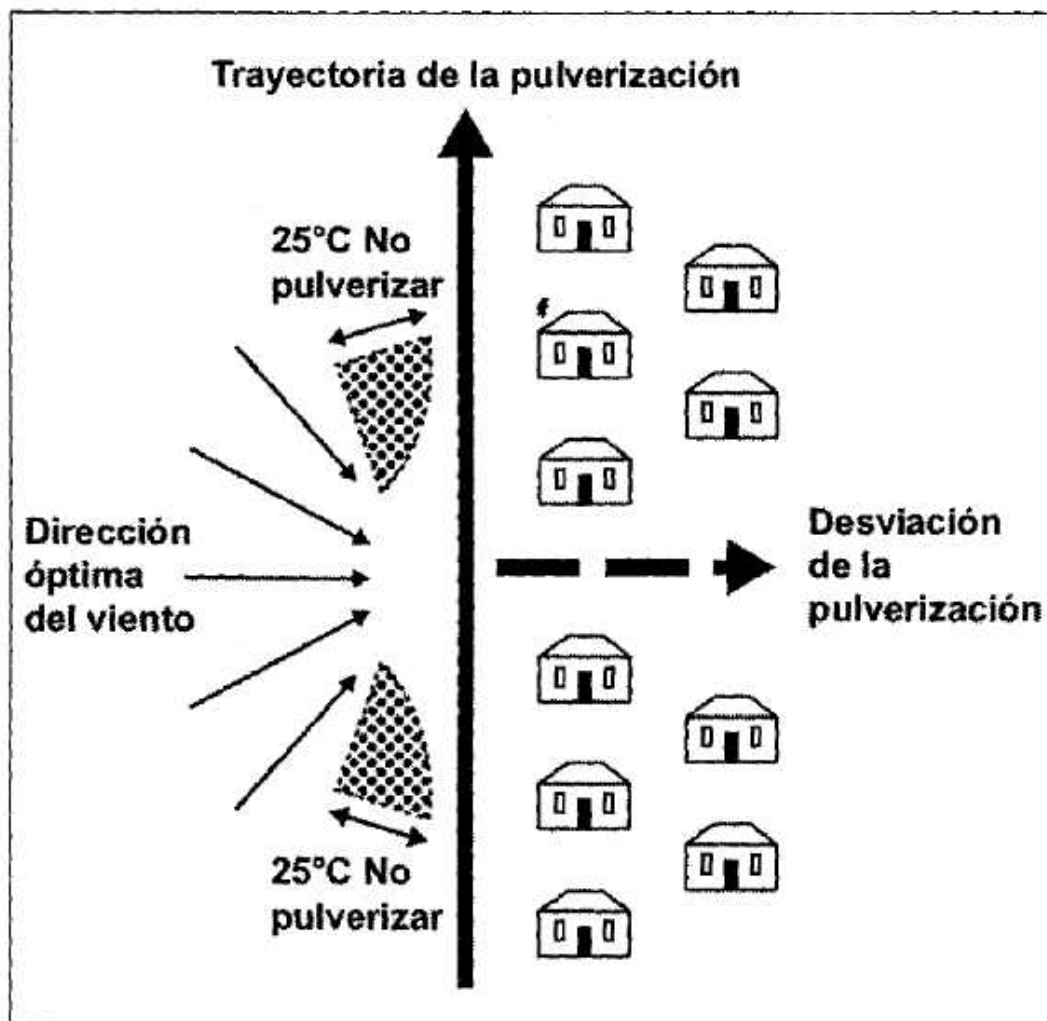
La mortalidad en todas las jaulas debe determinarse 24 horas después de la aplicación del rociado, a temperatura ambiente.

## Anexo 3

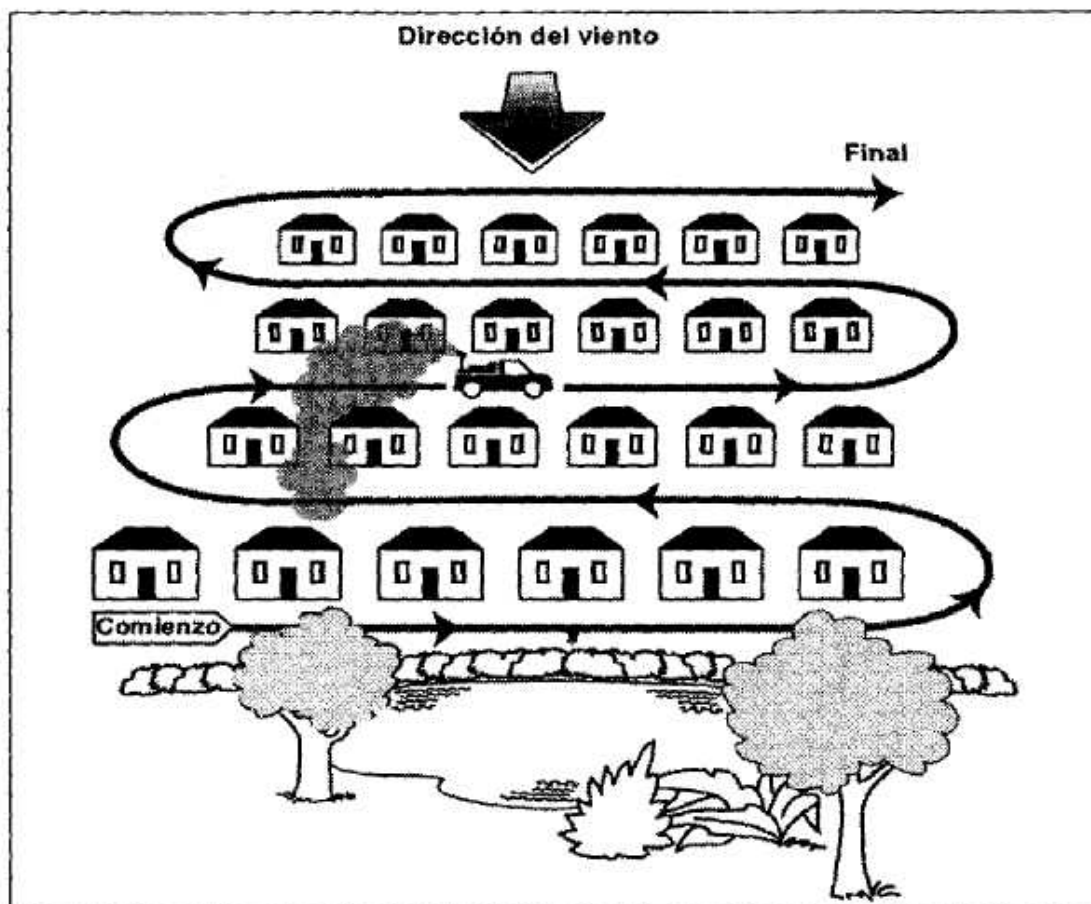
## Nebulización en espacios abiertos

Las operaciones de nebulización en la superficie de espacios abiertos deben ir precedidas de una planificación previa de la trayectoria, y en zonas con un acceso difícil o limitado de vehículos se puede necesitar una combinación de equipo montado en un vehículo y manual o de mochila. También se debe prestar atención a los aspectos siguientes:

- No se debe pulverizar cuando llueve, cuando el viento alcanza una velocidad superior a 15 km/h o en las horas calurosas del día.
- Se deben abrir las puertas y ventanas de las casas y otros edificios para que entre la nube de pulverización, a fin de mejorar eficacia.
- Para el equipo montado en un vehículo el pulverizador se debe dirigir hacia la parte posterior del vehículo.
- Cuando existan barreras que impidan el flujo del aire, por ejemplo muros y vallas de separación, la boquilla de la máquina de nebulización en frío montada en un vehículo se puede orientar hacia arriba en ángulo; en los nebulizadores térmicos montados en un vehículo la boquilla se debe mantener en posición horizontal.
- La distancia entre las pasadas sucesivas a través de una zona construida dependerá fundamentalmente del trazado de las calles. Generalmente se recomienda un espacio de 100 metros entre los recorridos, moviéndose el vehículo perpendicular a la dirección del viento, de manera que la niebla se aleje del vehículo y de los operadores.
- Se debe mantener, en la medida de lo posible, la velocidad previamente establecida del vehículo y desconectar el pulverizador cuando el vehículo se detiene.
- Tratar de evitar la pulverización directa de plantíos de arbustos y zonas florales costosas, a menos que se utilice un producto diluido en agua o de base acuosa.



Trayectoria de la pulverización en relación con la dirección del viento en un asentamiento urbano. En este ejemplo, los primeros objetivos del frente de pulverización son los insectos adultos voladores en las proximidades del lugar de cría.



#### Aplicaciones de ULV en interiores

El personal que realiza este trabajo requiere capacitación sobre las medidas de seguridad que se han de adoptar. Se aplican varias normas:

- Cortar toda la corriente eléctrica en el interruptor principal.
- Apagar todo el equipo de la calefacción y la cocina de cocinar, incluidas las luces piloto, y esperar a que se enfríe antes de pulverizar.
- El riesgo de incendio es menor cuando los productos están diluidos en agua.
- Proteger todos los recipientes de agua y los productos alimenticios.
- Eliminar los depósitos para peces o cubrirlos.
- Asegurarse de que todos los ocupantes y los animales estén fuera de la casa durante la pulverización y permanezcan fuera hasta 30 minutos después de su conclusión. Garantizar que se ventile el edificio antes de volver a entrar en él.
- Cerrar todas las puertas y ventanas antes de la pulverización y mantenerlas así hasta 30 minutos después de su conclusión, para garantizar una eficacia máxima.
- Los operadores encargados de la pulverización deben caminar hacia atrás, alejándose de la niebla, para reducir al mínimo la exposición.
- En edificios pequeños de un solo piso se puede pulverizar desde la puerta de entrada o por una ventana abierta sin tener que entrar en todas las habitaciones de la casa, siempre que se pueda conseguir una dispersión adecuada de las gotitas de insecticida.
- En edificios grandes de un solo piso puede ser necesario pulverizar habitación por habitación, comenzando por la parte trasera del edificio y avanzando hacia la delantera.

- En edificios de varios pisos, la pulverización se realiza desde el piso superior hacia la planta baja y desde la parte trasera del edificio hacia la delantera. Esto garantiza en todo momento la buena visibilidad del operador.

Se debe calcular el tamaño de una vivienda media (en m<sup>2</sup>) y el volumen del producto diluido que se necesita según las recomendaciones de la etiqueta del fabricante (nota: las recomendaciones de la etiqueta de algunos fabricantes para la nebulización en espacios cerrados figuran como tasa por volumen). Hay que controlar el caudal de la máquina (ml/min) a fin de conocer el promedio del tiempo necesario para pulverizar cada vivienda e informar a los operadores encargados de la pulverización.

La niebla debe ser "seca" antes de pulverizar el interior de un edificio. Se realiza una prueba colocando la máquina en el suelo y controlando que la zona situada inmediatamente enfrente de la boquilla no se humedezca. Para reducir la producción de gotitas grandes que humedecen se ha de obtener el equilibrio correcto entre el caudal y la temperatura de combustión. Esto se suele conseguir reduciendo el caudal.

#### Anexo 4

##### Cría de *Aedes aegypti*

Se cría una cepa susceptible de *Aedes aegypti* (cepa Rockefeller o equivalente en susceptibilidad a insecticidas validada) a partir de huevos obtenidos de laboratorios de referencia que la mantengan en cría.

Para rehidratar los huevos se colocan los algodones o las paletas con aproximadamente 500 huevos en 2 lt de agua deionada a 25 - 30° C con fotoperíodo 12:12 horas. A las 24 hs. se observan larvas del primer estadio. Se alimentan todas las larvas con una mezcla de alimento balanceado para conejos molido y levadura virgen de cerveza en polvo (4:1). Se mantienen en las mismas condiciones hasta la aparición de pupas. Estas son transferidas a un pequeño recipiente con agua y colocadas en una jaula hasta la aparición de adultos.

Los adultos son mantenidos en idénticas condiciones ambientales, alimentados con pasas de uva y agua en forma permanente, pero ofreciendo una paloma inmovilizada como fuente de sangre no menos de dos veces por semana para recolectar nuevamente huevos sobre un algodón humedecido.