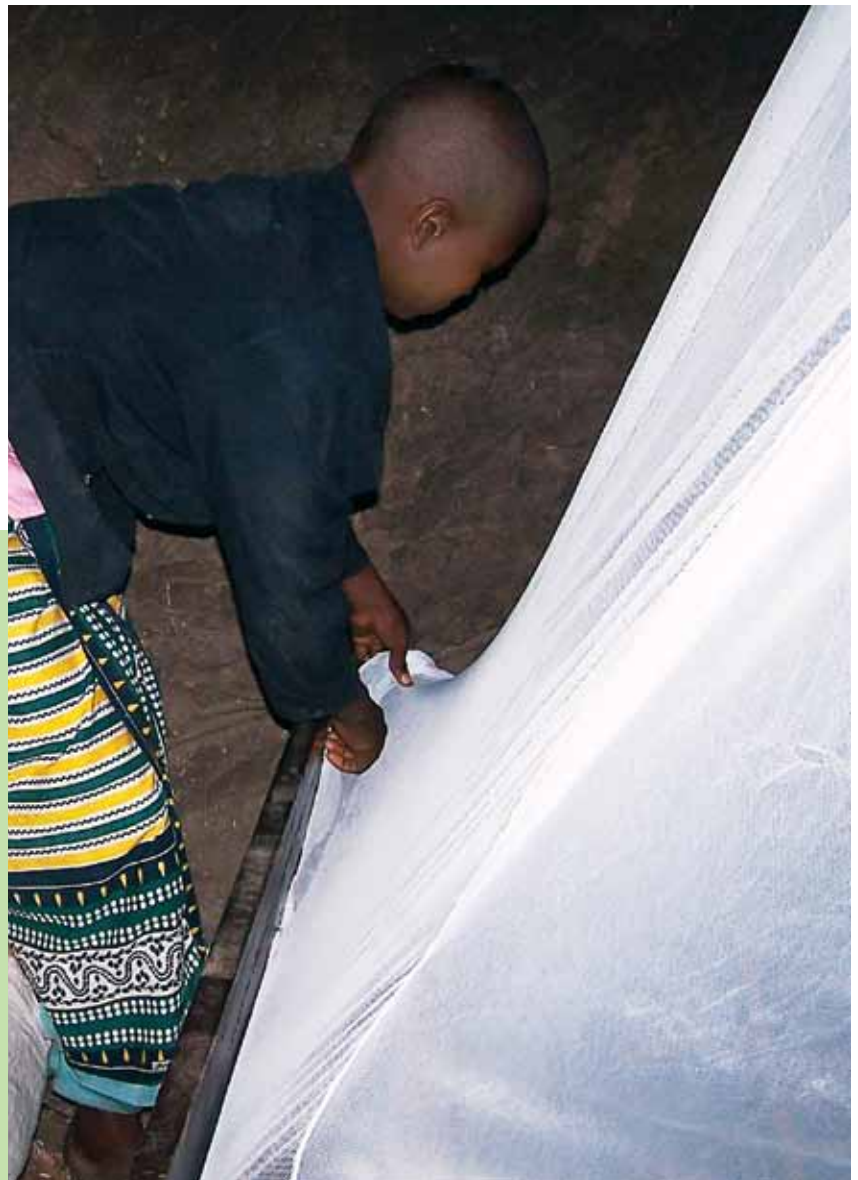




toldillos de larga duración

Evaluación de la residualidad de *Alfacipermetrina* en toldillos de larga duración *Interceptor®* sobre *Anopheles albimanus*, bajo condiciones regulares de uso en Buenaventura (Colombia)



Carlos Andrés Morales. Biólogo. Entomólogo.

Introducción

La Malaria es una de las enfermedades infecciosas más importantes transmitidas por vectores, no sólo por su elevada incidencia (a nivel mundial se estiman entre 300 a 500 millones de casos cada año), sino también por la importante mortalidad asociada (2 millones de muertes cada año).⁽¹⁾

En las Américas se reporta un número variable de casos que oscila entre 1 y 4 millones por año, con una tasa de incidencia de más de 430 casos x 100.000 habitantes.⁽²⁾

En Colombia la malaria representa un problema prioritario de Salud Pública, en el año de 1998 se reportó la cifra más alta de casos en la historia de la enfermedad en el país con un total de 188.379 casos de malaria, en el año 2007 se obtuvo un reporte elevado de 110.480 casos.⁽³⁾

Es necesario por lo tanto, que a la vez que se investigan vacunas y nuevos medicamentos para tratamientos de las personas afectadas, también se implementen nuevas herramientas que disminuyan el contacto hombre-vector. Dentro de estas estrategias los toldillos con piretroide cumplen dos funciones, servir de barrera física y eliminar los vectores que se posan en la superficie tratada. Uno de los mayores obstáculos que presenta esta técnica es la continua reimpregnación de los toldillos, por pérdida de residualidad del insecticida, lo cual incrementa los costos en reposición de toldillos, reimpregnación y costos de desplazamiento de funcionarios que ejecuten estas acciones, los toldillos de larga duración surgen como una alternativa para superar los inconvenientes de los toldillos impregnados con insecticida.

Objetivos

A. Determinar mediante pruebas de laboratorio la susceptibilidad o resistencia de *An. albimanus* a

Alfacipermetrina ingrediente activo de toldillos Interceptor®.

- B. Establecer el tiempo mínimo de contacto de *Anopheles* sobre toldillos nuevos y con 22 lavadas para obtener mortalidades mayores al 90%.
- C. Evaluar la residualidad de Alfacipermetrina en los toldillos sobre adultos de *An. albimanus* mediante pruebas biológicas de cono y de túnel, en toldillos sin lavar y sometidos a condiciones regulares de lavado con jabón Rey® en la ciudad de Buenaventura (zona endémica de malaria).

Metodología

Pruebas de susceptibilidad en laboratorio

Pruebas Biológicas de susceptibilidad de *Anopheles albimanus* (cepa Buenaventura)

Se aplicó la metodología estandarizada por OMS (1981),^(4,5) se expusieron 25 hembras sin alimentar, entre 2 y 5 días de edad en diferentes períodos de tiempo (intervalos de 15 minutos) hasta llegar a 60 minutos a papeles impregnados con insecticida a la dosis diagnóstica establecida por OMS (0,1%), luego del período de exposición se pasaron a tubos de reposo (libres de insecticida), colocando un algodón impregnado con agua azucarada en un extremo para la alimentación de los mosquitos. La mortalidad se evaluó a las 24 horas, se utilizaron tres repeticiones y se midió la temperatura máxima y mínima, así como la humedad relativa ($28^{\circ}\text{C} \pm 0 - 3^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa entre el 80 y 90%) luego se analizaron los datos por Probit análisis (Finney 1964),⁽⁶⁾ usando el programa de (Raymond 1985).⁽⁷⁾

Evaluación mediante pruebas de túnel, inhibición de la alimentación y mortalidad sobre *An. albimanus*

Se colocaron 100 hembras sin alimentar, entre 5 y 8 días de edad, en la estructura con un conejillo de indias como alimento, se valoró el efecto de



Figura 1. Aspecto del montaje de las pruebas de susceptibilidad



toldillos de larga duración

los toldillos en la inhibición de la alimentación y la mortalidad en toldillos sin lavar y luego de varias lavadas, para el lavado se refregaron los pedazos de toldillo con jabón Rey[®], después de cada lavado se realizaron las pruebas respectivas utilizando como organismo blanco *An. albimanus*, en el túnel se introdujo un pedazo de toldillo en un marco bloqueando el paso de los mosquitos para alimentarse, al mismo se le efectuaron nueve agujeros de 1 cm de diámetro.

Las hembras, se colocaron en reposo y se evaluó la mortalidad a las 24 horas.⁽⁵⁻⁸⁾

Pruebas de campo

Área de estudio

Se seleccionó la localidad de Buenaventura (latitud 3°53'N longitud 77°04'oeste). Departamento del Valle del Cauca.⁽⁹⁻¹⁰⁾

Evaluación de la residualidad de Alfacipermetrina mediante pruebas biológicas de cono, en toldillos sin lavar y sometiéndolos a condiciones regulares de lavado

Para la evaluación de la residualidad, cada toldillo fue sometido a un lavado regular de acuerdo al protocolo descrito en las pruebas de túnel, en la ciudad de Buenaventura.

Tres toldillos se sometieron a lavado cada cuatro días, tres toldillos no se lavaron durante 6 meses y tres toldillos sin impregnar se tomaron como grupo testigo. Mensualmente se efectuaron evaluaciones sobre los toldillos sin lavar hasta completar seis meses, en los respectivos formatos se anotaron las fechas de lavado.

Las evaluaciones se efectuaron mediante pruebas biológicas de residualidad en cono: éstas tienen como fin evaluar la potencia de un depósito de insecticida para mosquitos adultos en distintas ocasiones después de su aplicación sobre la superficie de los toldillos y así detectar el comienzo de la pérdida de residualidad del depósito insecticida.

Se sometieron hembras de *An. albimanus*, (cepa Buenaventura), introduciéndolas en conos utilizados para pruebas de pared, según la técnica recomendada por WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.3.⁽⁵⁾ El tiempo de exposición al insecticida fue de 3 minutos en la superficie del toldillo y se pasaron posteriormente las hembras a tubos de reposo, se efectuó la lectura del efecto de knockdown a 1 hora de exposición y la mortalidad fue evaluada a las 24 horas siguientes, cada ensayo fue replicado 4 veces, se registró la humedad relativa, el promedio registrado fue de 85%, la temperatura mínima de 24°C y la máxima 36°C.



Figura 2. Diversos aspectos del montaje de las pruebas de Túnel



Figura 3. Diversos aspectos del montaje de las pruebas de cono



Figura 4. Aspectos del montaje de las pruebas de tiempo mínimo de contacto

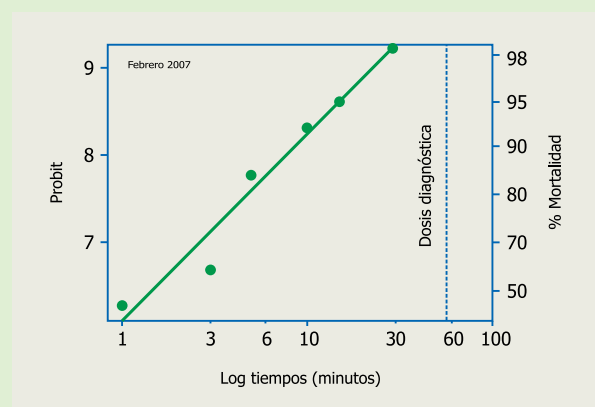


Gráfico 1. Línea de regresión tiempo mortalidad con papeles impregnados de Alfacipermetrina (0.1%) sobre *Anopheles albimanus* cepa Buenaventura

En caso de que la mortalidad en el testigo fuera mayor del 5% y menor del 20% se efectuó la corrección con la fórmula de Abbott.⁽¹¹⁾

Se efectuaron evaluaciones a los 0, 2, 4 y 6 meses y a las 0, 4, 7, 12, 16, 22 y 26 lavadas. Adicional a lo anterior se evaluaron toldillos lavados mediante el protocolo estándar de la OMS,⁽⁸⁾ los cuales fueron enviados por BASF Química con su respectivo certificado de calidad, con el fin de efectuar comparaciones con el lavado regular con jabón en barra y determinar si los toldillos cumplían con la definición de toldillos de larga duración de la OMS.

Tiempo mínimo de contacto de *An. albimanus* sobre el toldillo para obtener mortalidades mayores al 90%.

Para tal fin se tomaron hembras de *An. albimanus*, (cepa Buenaventura), introduciéndolas se estable-

cieron intervalos de contacto con los toldillos (150, 120, 60, 30, 10 y 5 segundos) y se pasaron posteriormente las hembras a tubos de reposo, a las 24 horas se evaluaron las diferentes mortalidades, cada ensayo fue replicado 4 veces con los mismos toldillos utilizados en las pruebas de cono.

Resultados

Pruebas de laboratorio

La cepa de *An. albimanus* (Buenaventura), se comporta como susceptible a Alfacipermetrina (0,1% a 60 minutos de exposición mortalidad 100%) (tabla 1).

En general el rango de tiempos letales dados para las líneas base de la cepa de Anophelinos de Buenaventura se encuentra entre 1 y 60 minutos.



toldillos de larga duración

Tabla 1. Mortalidades obtenidas con papeles impregnados con Alfacipermetrina (0,1%) sobre adultos de *An. albimanus* bajo condiciones de laboratorio

Cepa	Tiempo (Minutos)	N	# Muertos	% Mortalidad
Buenaventura	1	120	54	45,0
	5	120	101	84,2
	10	130	120	92,3
	15	120	114	95,0
	30	125	123	98,4
	45	125	125	100
	60	125	125	100

Mortalidad en el control *An. albimanus* = 1%

La gráfica 1 muestra los datos en escala probit vs Logaritmo de los tiempos utilizados, esta línea de regresión se podría utilizar para comparar con otras cepas y así poder establecer diferencias en cuanto la susceptibilidad o resistencia, de acuerdo al desplazamiento o no de la línea de regresión hacia mayores dosis.

La línea de regresión presenta una elevada pendiente, lo cual muestra un comportamiento homogéneo de la población. Al realizar el análisis probit para los adultos se observa una CL_{50} de 1.22 minutos y CL_{90} de 7.86 minutos.

La CL_{50} o la CL_{95} son la única medida cuantitativa para determinar un cambio de susceptibilidad de una población de individuos a un producto químico en general se establece mediante los traslapes de los intervalos de confianza al 95% de significancia (tabla 2).

Tabla 2. Tiempos letales de adultos de *An. albimanus* expuestos a papeles impregnados de Alfacipermetrina (0,1%)

Cepa	CL 50 ¹	I.C. ²	CL 95	I.C.	P. ± E.S. ³
<i>An. albimanus</i>	1.22	0.88 -1.52	13.3	10.4- 18.1	1.6 ± 0.13

1. Tiempo letal 50 (minutos)

2. Intervalo de confianza al 95% (minutos)

3. Pendiente de la línea de regresión ± el error estándar

Evaluación mediante pruebas de túnel, la inhibición de la alimentación y mortalidad sobre *An. albimanus*

La mortalidad obtenida en toldillos nuevos con Alfacipermetrina fue del 100%, el porcentaje de inhibición de la alimentación fue del 100%, es decir

ninguna hembra tuvo éxito en la alimentación, luego de 22 lavadas regulares el impacto de los toldillos sobre Anofelinos, fue de un 47% de inhibición del paso, un 70% de mortalidad y una inhibición de la alimentación del 91%, para comparar los resultados obtenidos con el lavado regular, se evaluaron pedazos de toldillos lavados de acuerdo al protocolo de la OMS, gráfica 2.

La definición de la OMS de toldillos de larga duración es “un toldillo de larga duración es aquel que retiene su actividad biológica por un mínimo de 20 lavadas estándar de la OMS y un periodo mínimo de 3 años en condiciones de campo”.⁽⁸⁾

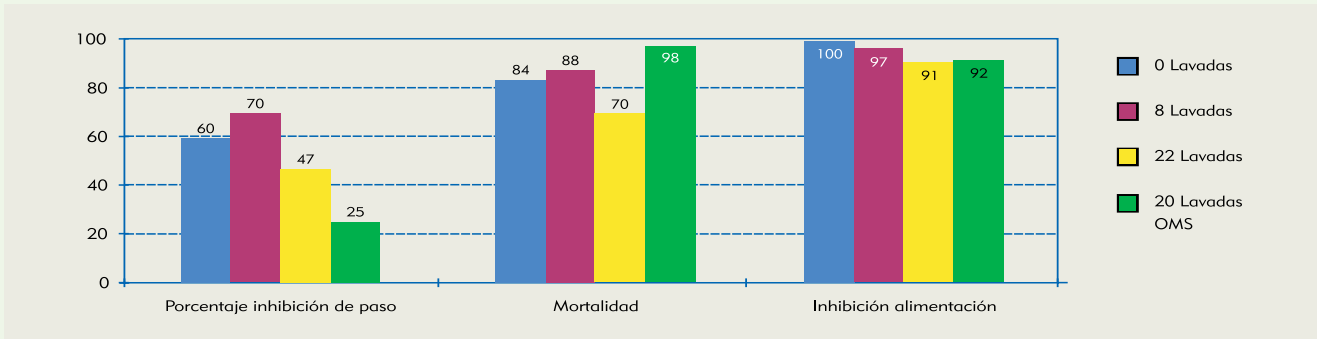
En las pruebas de túnel se considera que un toldillo es de larga duración si luego de 20 lavadas estándar de OMS causa una mortalidad mayor del 80% y/o una inhibición de la alimentación mayor del 90%. De acuerdo a los resultados de la gráfica 2, los toldillos Interceptor[®] cumplen con la definición de la OMS 98% de mortalidad y 91% de inhibición de la alimentación luego de 20 lavadas estándares de OMS.

En toldillos sin lavar a los seis meses el impacto sobre Anofelinos, fue de un 35% de inhibición del paso, un 91% de mortalidad y una inhibición de la alimentación del 98%, gráfica 3.

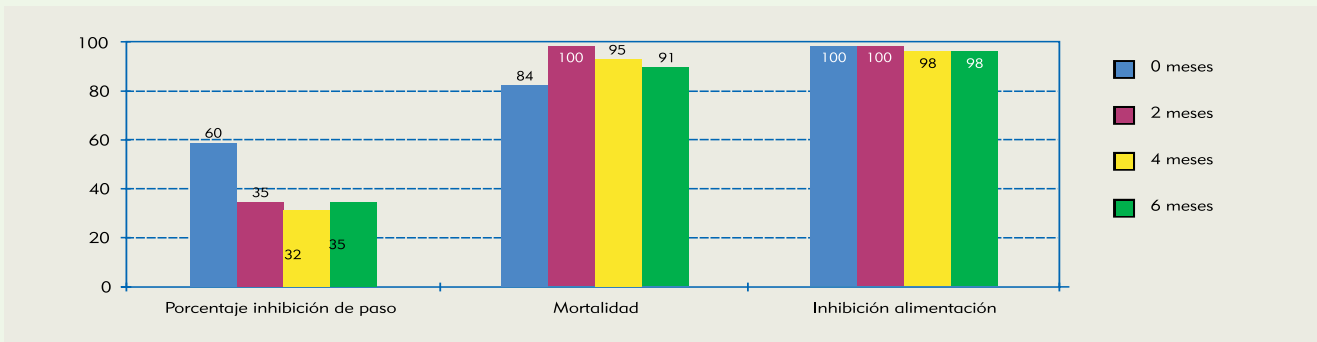
Pruebas de Campo

Evaluación de la residualidad de Alfacipermetrina mediante pruebas biológicas de cono, en toldillos sin lavar y sometiéndolos a condiciones regulares de lavado con jabón en barra (Rey[®])

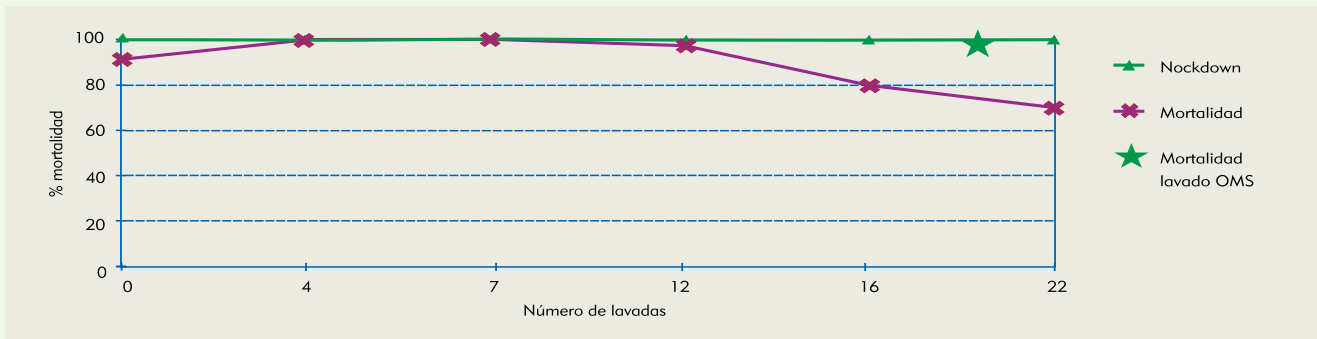
Los toldillos antes de la primera lavada mostraron un efecto knockdown del 100% y una mortalidad del 92% a las 24 horas, el knockdown se mantuvo sobre un 100% hasta lavada # 22, la mortalidad se mantuvo por encima del 97,8% hasta la evaluación realizada en la lavada # 12 y disminuyó a 80% en la lavada # 16 y 70% en la # 22, gráfica 4.



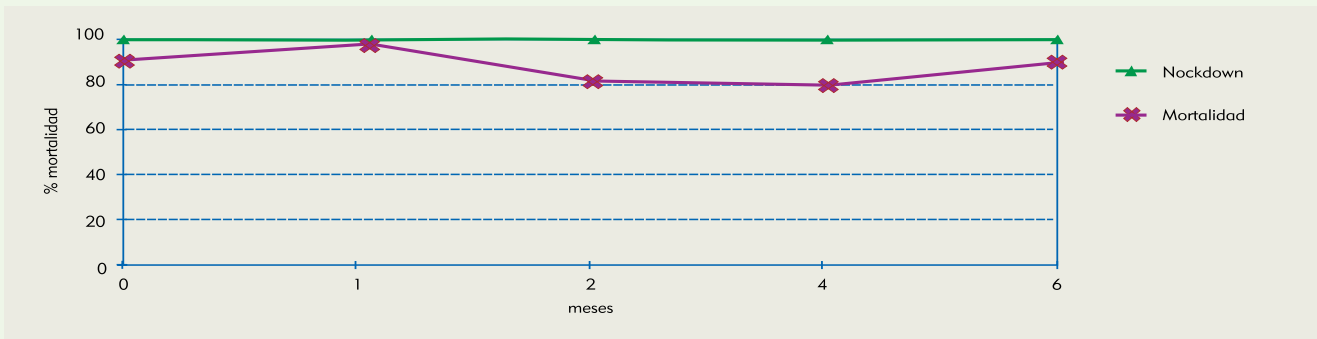
Gráfica 2. Pruebas de tunnel luego de lavados regulares con jabón en barra y con el protocolo de OMS sobre *Anopheles albimanus* con toldillos Interceptor®.



Gráfica 3. Pruebas de tunnel en toldillos Interceptor® sin lavar sobre *Anopheles Albimanus*.



Gráfica 4. Pruebas Biológicas de cono en toldillos Interceptor® sobre *Anopheles Albimanus* luego de lavados regulares con jabón en barra y con 20 lavadas estándar OMS



Gráfica 5. Pruebas Biológicas de cono en toldillos Interceptor® sin lavar sobre *An. albimanus*



toldillos de larga duración

El valor del 70% obtenido en la última lavada, se considera como óptimo debido a que el lavado realizado se ajustó a las condiciones de lavado de la zona (jabón en barra) no fue realizado con jabón de Marseille y agua desionizada como lo menciona el protocolo de la Organización Mundial de la Salud, para establecer mortalidades mínimas para toldillos de larga duración. Al comparar estos resultados con el Toldillo lavado 20 veces con el protocolo OMS se observó una mortalidad del 100% lo cual ratifica el reporte de la décima reunión de Whopes,⁽¹²⁾ donde bajo condiciones estándares de lavado estos toldillos cumplieron con las definiciones de larga duración.

En toldillos sin lavar luego de 6 meses, se observó un knockdown del 100% y una mortalidad del 89%, gráfica 5.

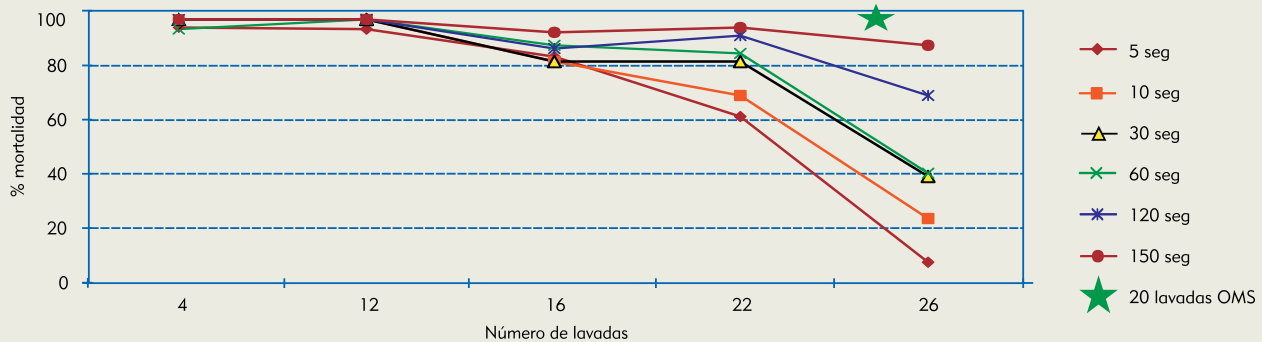
Tiempo mínimo de contacto de *An. albimanus* sobre el toldillo para obtener mortalidades mayores al 90%.

En toldillos en todos los tiempos evaluados (150, 120, 60, 30, 10 y 5 segundos), se observó un efecto de knockdown del 100% luego de una hora de exposición y una mortalidad cercana al 100% a las 24 horas, en el tiempo mínimo exposición de

5 segundos se observó una mortalidad del 96,7% en toldillos nuevos, disminuyendo a 63% luego de 22 lavadas, en los tiempos de 120 y 150 segundos se observaron mortalidades mayores del 90% (94 y 97% respectivamente) luego del mismo número de lavadas, luego de 26 lavadas se observó una mortalidad del 93% a los 150 segundos de exposición, en todos los tiempos evaluados con toldillos lavados de acuerdo al protocolo de OMS, la mortalidad fue del 100%, los resultados se muestran en la gráfica 6.

Conclusiones

- La cepa de *Anopheles albimanus* de Buenaventura es susceptible a Alfacipermetrina.
- La prueba de túnel, en toldillos lavados 22 veces con jabón en barra, arrojó una mortalidad del 70% y una inhibición de la alimentación del 91%.
- En la prueba de túnel con los toldillos lavados 20 veces de acuerdo al protocolo de la OMS arrojó una inhibición del paso por el toldillo del 25%, una mortalidad del 98% y una inhibición de la alimentación del 92%.



Gráfica 6. Pruebas Biológicas con tiempo de exposición hasta 26 lavadas con jabón en barra y 20 lavadas estándar de OMS, en toldillos Interceptor® sobre *An. albimanus*.

- En la prueba de túnel con los toldillos sin lavar por seis meses, arrojó una inhibición del paso por el toldillo del 35%, una mortalidad del 91% y una inhibición de la alimentación del 98%.
- La mortalidad obtenida en toldillos mediante pruebas biológicas de cono fue del 97% hasta la lavada 12, en la lavada 16 la mortalidad fue del 80% y luego de 22 lavadas fue del 70%. Se conservó un efecto de knockdown del 100% luego de 22 lavadas, con los toldillos lavados 20 veces de acuerdo con el protocolo de OMS la mortalidad fue del 100%.
- La mortalidad obtenida en toldillos sin lavar a los seis meses mediante pruebas biológicas de cono fue del 89%, se conservó un efecto de knockdown del 100%.
- En las pruebas de tiempo mínimo de contacto sobre el toldillo la mortalidad, fue del 94 y 97% en los tiempos de 120 y 150 segundos, disminuyendo a 63% con 5 segundos de exposición luego de 22 lavadas.
- Los toldillos de larga duración Interceptor®, luego de ser valorados bajo condiciones de campo y sometidos a lavado regular con jabón en barra, se constituyen en una nueva alternativa para la protección de las personas en zonas endémicas de malaria en el país.

Literatura citada

1. MARTENS. P & H. LISBETH. 2000 Malaria on the Move Human Population Movement and Malaria Transmission, Emerging Infectious Diseases 6(2), Centers for Disease Control.
2. OPS. 2003. Informe de la situación de los programas de malaria en las Américas CD44/INF/3 (Esp.)
3. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. 2004, 2005, 2007 Sivigila, Epidemiología.
4. OMS 1981 Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides: establishment of baseline. OMS/vbc/81.805.
5. WORLD HEALTH ORGANIZATION 2006. Guidelines for testing mosquito adulticides for Indoor residual spraying and treatment of mosquito nets WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.3
6. FINNEY, D.J 1964. Probit analysis. A statistical treatment of sigmoid curve. Cambridge Univ. Press. Cambridge, England.
7. RAYMOND. M.: 1985. Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Med. Et Parasitol., Vol 22(2), 117-121.
8. WORLD HEALTH ORGANIZATION 2005. Guidelines for laboratory and field testing of long-lasting insecticidal mosquito net-who/cds/whopes/gcdpp/2005.11
9. ANUARIO ESTADÍSTICO DEL VALLE DEL CAUCA. 1998. Consejo Departamental de Estadística. C.D.D.E. 336 pp.
10. CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL VALLE DEL CAUCA C.V.C, 1996. Departamento de Meteorología.
11. ABBOTT W.S.1925. Method of computing the effectiveness of insecticides. J. Econ. Entomol. 18: 265-7.
12. WORLD HEALTH ORGANIZATION 2007. Report of the tenth Whopes working group meeting, review of Spinosad 0.5% GR and 12% SC. Lambda-cyhalothrin 10%CS, Kotab 1-2-3®, Interceptor® WHO/CDS/NTD/WHOPES/2007.1