

## Susceptibilidad de cepas de *Aedes aegypti* (L.) a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en La Habana

### Susceptibility of *Aedes aegypti* (L.) strains from Havana to a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

MSc. Zulema Menéndez Díaz,<sup>I</sup> MSc. Jinnay Rodríguez Rodríguez,<sup>II</sup> Dr. René Gato Armas,<sup>I</sup> MSc. Ariamys Companioni Ibañez,<sup>I</sup> Téc. Manuel Díaz Pérez,<sup>I</sup> Téc. Rosa Yirian Bruzón Aguila<sup>I</sup>

<sup>I</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Centro de Inmunología Molecular. La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** entre las estrategias promovidas para el control vectorial se encuentra la integración de los métodos químicos y biológicos, debido a los problemas ambientales e inquietudes en la comunidad provocadas por la acción de los insecticidas orgánicos sintéticos. La bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en formulación líquida ha sido utilizada ampliamente en programas de control en diversos países y en Cuba ha mostrado alta eficacia a nivel de laboratorio contra *Aedes aegypti*.

**Objetivo:** determinar la susceptibilidad al *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de *Aedes aegypti* colectados en los municipios de La Habana, Cuba.

**Métodos:** se emplearon 15 cepas de *Aedes aegypti*, una de cada municipio de La Habana, a partir de larvas y pupas colectadas en 2010 y una cepa de referencia: Rockefeller. Se utilizó *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, en formulación de tipo suspensión acuosa (Bactivec, Labiofam, Cuba). Para la realización de los bioensayos se siguieron las guías de la Organización Mundial de la Salud para larvicidas bacterianos de uso en salud pública. La mortalidad larvaria se leyó a las 24 h y los resultados se procesaron en el sistema informático estadístico SPSS (11.0) mediante análisis Probit.

**Resultados:** las cepas de mosquitos evaluadas mostraron elevada susceptibilidad al biolarvicida, no se registraron diferencias significativas entre los valores de  $CL_{50}$  de las cepas de *Aedes aegypti*, ni de éstas comparadas con la cepa de referencia.

**Conclusiones:** los resultados presentados sugieren que la aplicación de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sigue siendo una alternativa para el control de poblaciones larvales de *Aedes aegypti* en la provincia de La Habana.

**Palabras clave:** *Bacillus thuringiensis*, *Aedes aegypti*, control biológico.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** the integration of chemical and biological methods is one of the strategies for the vector control, due to the existing environmental problems and the concerns of the community as a result of the synthetic organic insecticide actions. The bacterium called *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in liquid formulation has been widely used in the vector control programs in several countries and has shown high efficacy at lab in Cuba.

**Objective:** to determine the susceptibility of *Aedes aegypti* collected in the municipalities of La Habana province to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*.

**Methods:** fifteen *Aedes aegypti* strains, one from each municipality, were used including larvae and pupas collected in 2010 and one reference strain known as Rockefeller. The aqueous formulation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bactivec, Labiofam, Cuba) was used. The bioassays complied with the World Health Organization guidelines for use of bacterial larvicides in the public health sector. The larval mortality was read after 24 hours and the results were processed by the statistical system SPSS (11.0) through Probit analysis.

**Results:** the evaluated mosquito strains showed high susceptibility to biolarvicide, there were no significant differences in  $LC_{50}$  values of *Ae. aegypti* strains, neither in the comparison of these values with those of the reference strain.

**Conclusions:** the presented results indicate that the use of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* continues to be a choice for the control of *Aedes aegypti* larval populations in La Habana province.

**Key words:** *Bacillus thuringiensis*, *Aedes aegypti*, biological control.

---

Los insecticidas orgánicos sintéticos constituyen una herramienta fundamental en el control de vectores, pero provocan serios problemas ambientales y a la salud humana.<sup>1</sup> La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha promovido el control integrado de vectores,<sup>2</sup> y los métodos no químicos han mostrado la posibilidad de reducir las poblaciones de plagas con menor impacto ambiental negativo.<sup>3</sup>

En Cuba, el control de *Aedes aegypti* (L.) es prioridad del Programa Nacional de Vigilancia y Lucha Antivectorial;<sup>4</sup> a pesar de estrategias de rotación espacial y temporal ya se reporta resistencia a piretroides en larvas del vector desde hace una década,<sup>5</sup> y más recientemente a temefos<sup>6</sup> en la provincia La Habana.

*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) es el agente de control biológico más universalmente aplicado al control de mosquitos.<sup>7</sup> El biolarvicida Bactivec (Labiofam, Cuba) es una formulación de tipo suspensión acuosa sobre la base de esta bacteria; que ha mostrado alta eficacia a nivel de laboratorio contra *Ae. aegypti*.<sup>8</sup> En la toma de decisiones sobre las estrategias de control vectorial a seguir es necesario evaluar los productos químicos o biológicos a emplear; por ello en este trabajo se determinó la susceptibilidad al Bti de *Ae. aegypti* colectados en los municipios de La Habana, Cuba.

Mosquitos: se conformaron 15 cepas de *Ae. aegypti*, una de cada municipio de La Habana, a partir de larvas y pupas colectadas de criaderos típicos en 2010, según la metodología de encuesta larvaria descrita por Armada y Trigo.<sup>9</sup> Se trasladaron al laboratorio en recipientes plásticos de 17,6 cm x 11,5 cm x 7,7 cm, debidamente rotulados. Además se utilizó una cepa susceptible o de referencia (cepa Rockefeller) establecida en el laboratorio sin exposición a insecticidas. Todas se establecieron siguiendo la metodología de Pérez y otros.<sup>10</sup>

Bti: Bactivec presentado en frasco gotero de 30 mL, 600 UTI/mL, título  $1,2 \times 10^9$  UFC/ mL. Las diluciones se establecieron en porcentaje en relación volumen-volumen.

Bioensayos: se siguieron las guías de la OMS para larvicidas bacterianos de uso en salud pública.<sup>11</sup> Se colocaron 25 larvas de *Ae. aegypti* en III estadio tardío (pertenecientes a la generación F2) en 100 mL de agua declorinada contenida en recipientes desechables de 125 mL de capacidad. Se evaluaron 8 dosis o diluciones de Bactivec (0,0003; 0,00043; 0,00062; 0,00089; 0,00127; 0,00181; 0,00259 y 0,00370 %) con un factor de diferencia entre estas de 0,7; se garantizó que en al menos 5 se obtuviera mortalidad entre 10 y 90 %. Para todas las dosis y los controles se colocaron 4 réplicas y los bioensayos se repitieron en 3 semanas diferentes.

La mortalidad larvaria fue leída a las 24 h y los resultados procesados en el sistema informático estadístico SPSS (11.0) mediante análisis Probit, con aproximación logarítmica de la dosis para obtener la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>).

Todas las cepas de mosquitos evaluadas mostraron elevada susceptibilidad al biolarvicida (tabla); no se encontraron diferencias significativas entre los valores de CL<sub>50</sub> de Bactivec contra ninguna de las cepas de *Ae. aegypti* colectadas de campo, ni de estas comparadas con la cepa de referencia.

La alta susceptibilidad obtenida en este trabajo en las cepas de los 15 municipios de la provincia ante Bti corrobora los resultados obtenidos en un estudio realizado en el año 2006 con cepas de *Ae. aegypti* provenientes de 3 municipios de La Habana (Cerro, Boyeros y Plaza) donde se habían realizado aplicaciones intensivas de Bactivec,<sup>8</sup> las cuales evidenciaron que 5 años después no existe disminución de la susceptibilidad a esta bacteria en esos municipios. Resultados similares se obtuvieron con poblaciones de campo de *Ae. aegypti* en Malasia, donde se reportaron valores estables de susceptibilidad a Bti evaluando mosquitos colectados antes, durante y después de tratamientos de campo, lo cual no sucedió con el temefos que en igual tiempo mostró disminución de la susceptibilidad.<sup>12</sup>

**Tabla.** Concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) de *Bacillus thuringiensis* para las cepas de *Aedes aegypti* de la provincia La Habana y la cepa de referencia

Colonias	CL <sub>50</sub> (IC 95 %)
Rockefeller	0,00033 (0,00030 - 0,00037)
10 de Octubre	0,00075 (0,00062 - 0,00087)
Arroyo Naranjo	0,00051 (0,00048 - 0,00056)
Boyereros	0,00042 (0,00038 - 0,00046)
Centro Habana	0,00066 (0,0006 - 0,00072)
Cerro	0,00039 (0,00034 - 0,00044)
Cotorro	0,00035 (0,00031 - 0,00039)
Guanabacoa	0,00038 (0,00034 - 0,00042)
Habana del Este	0,00061 (0,00054 - 0,00068)
Habana Vieja	0,00067 (0,00058 - 0,00078)
La Lisa	0,0005 (0,00046 - 0,0006)
Marianao	0,0007 (0,00063 - 0,00078)
Playa	0,00074 (0,00064 - 0,00087)
Plaza	0,0006 (0,00055 - 0,00066)
Regla	0,00093 (0,00085 - 0,00102)
San Miguel	0,00065 (0,00059 - 0,00071)

En Alemania, después de 10 años de aplicación de Bti la población de *Ae. vexans* tratada permaneció susceptible a este agente en comparación al área no tratada.<sup>13</sup> El uso de Bti en programas de control de *Ae. aegypti* demuestra que constituye una alternativa efectiva para el control larval de una amplia variedad de especies de culicidos en criaderos naturales o artificiales ya que la mayoría de las poblaciones de campo de mosquitos que han sido expuestas a aplicaciones repetidas de este biolarvicida durante varios años, no han desarrollado resistencia a la bacteria hasta el momento.<sup>14,15</sup> Sin embargo, para otras especies de culicidos como *Culex pipiens* se han reportado altos niveles de resistencia a Bti en una población aislada de campo en Syracuse, New York.<sup>16</sup>

Por otra parte, en Argentina se ha sugerido el remplazo de temefos por Bti en el control larval de *Ae. aegypti*, especialmente en aquellos casos donde se detecte resistencia al larvicida organofosforado.<sup>17</sup>

Los resultados presentados sugieren que la aplicación de Bti constituye una alternativa para el control de poblaciones larvales de *Ae. aegypti* en la provincia La Habana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Boisvert M. Utilization of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) - Based Formulations for the Biological Control of Mosquitoes in Canada. Victoria BC, Coté JC, Otvos IS, Schwartz JL, Vincent C, editors. 6<sup>th</sup> Pacific Rim Conference on the Biotechnology of *Bacillus thuringiensis* and its Environmental Impact; 2005.
2. World Health Organization Global strategic framework for integrated vector management Geneva: WHO; 2004. (WHO/CDS/CPE/2004.10)
3. World Health Organization. Dengue Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: WHO; 2009. (WHO/HTM/NTD/DEN/2009.1)
4. Bisset JA, Rodríguez MM, Hernández M, Ricardo Y, Montada D, Gato R, et al. Efectividad de formulaciones de insecticidas para el control de adultos de *Aedes aegypti* en La Habana, Cuba. Rev Cubana Med Trop. 2011;63(2):166-70.
5. Bisset JA, Rodríguez MM, Fernández D, Pérez O. Estado de la resistencia a insecticidas y mecanismos de resistencia en larvas del municipio Playa, colectadas durante la etapa intensiva contra el *Aedes aegypti* en Ciudad de La Habana, 2001-2002. Rev Cubana Med Trop. 2004;56(1):61-6.
6. Rodriguez MM, Bisset JA, Fernandez D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. J Am Mosq Control Assoc. 2007;23(4):420-9.
7. Becker N. Microbial control of mosquitoes vectors. 1<sup>st</sup> Asian Congress of Parasitology and Tropical Medicine & 40<sup>th</sup> Annual Scientific Seminar of MSPTM. Symposium 10: *Bti/Bsp*, March 2004; p. 80.
8. Gato R, Díaz M, Bruzón R, González A, Hernández Y, García I. Estudio de resistencia de *Aedes aegypti* a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Rev Cubana Med Trop. 2008;60(1):74-7.
9. Armada, JA, Trigo JA. Metodología de encuestas. Campaña Anti-*aegypti*. La Habana: Ministerio de Salud Pública, Cuba; 1981.
10. Pérez O, Rodríguez J, Bisset JA, Leyva M, Díaz M, Fuentes O, et al. Manual de indicaciones técnicas para insectarios. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2004.
11. World Health Organization. Guideline specifications for bacterial larvicides for public health use. Geneva: WHO; 1999. (WHO/CDS/CPC/WHOPES/99.2)
12. Loke SR, Andy-Tan WA, Benjamin S, Lee HL, Sofian-Azirun M. Susceptibility of field-collected *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to *Bacillus thuringiensis israelensis* and temefos. Trop Biomed. 2010;27(3):493-503.
13. Becker N, Ludwing M. Investigation on possible resistance in *Aedes vexans* field populations after a 10-year application of *Bacillus thuringiensis israelensis*. J Am Mosq Control Assoc. 1993;9:221-4.
14. Seta T, Chantha N, Socheat D. Efficacy of *Bacillus thuringiensis israelensis*, VectoBac<sup>®</sup> WG and DT, formulations against dengue mosquito vectors in cement potable water jars in Cambodia. Southeast Asian J Trop Med Pub Health. 2007;38:261-8.

15. Lacey LA. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. J Am Mosq Control Assoc. 2007;23(2 Suppl):133-63.
16. Paul A, Harrington LC, Zhang L, Scott JG. Insecticides resistance in *Culex pipiens* from New York. J Am Mosq Control Assoc. 2005;21(3):305-9.
17. Masuh H, Seccacini E, De Licastro S, Zerba E. Residualidad de un formulado sólido del insecticida microbiano Bti (H-14) en el control de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Rev Peruana Epidemiol. 2002;10(7). Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/epidemiologia/v10\\_n7/residualidad\\_insecticida.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/epidemiologia/v10_n7/residualidad_insecticida.htm)

Recibido: 21 de mayo de 2012.

Aprobado: 22 de junio de 2012.

Zulema Menéndez Díaz. Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½, Lisa. La Habana, Cuba. AP 601, Marianao 13, CP 17 100. Fax: 537 2046051. Correo electrónico: [zulema@ipk.sld.cu](mailto:zulema@ipk.sld.cu)