

# PRUEBAS BIOLÓGICAS DE SUSCEPTIBILIDAD DE LARVAS DE *Anopheles albimanus* Y *Culex quinquefasciatus* A *Bacillus sphaericus* CEPA 2362 (VECTOLEX®) EN CALI Y BUENAVENTURA, COLOMBIA

Marco Fidel Suárez, Biólogo, MSc.

Carlos Morales, Biólogo

Universidad del Valle, Escuela de Salud Pública, Cali, Valle,  
Colombia , julio 1998.

## INTRODUCCIÓN

Los limitados éxitos en el control de la malaria y el dengue, plantean la búsqueda de alternativas de control acordes con el manejo ambiental del ecosistema. Dentro de las medidas de control de vectores aplicadas, una de las más utilizadas es el control químico con larvicidas, pero debido a los efectos adversos sobre la fauna bentónica asociada a los criaderos, la aparición de resistencia y la limitada efectividad de esta estrategia, se hace necesaria la búsqueda de nuevos agentes de control más armónicos con el medio ambiente. Dentro de las estrategias de control de vectores con criterios no agresivos al ambiente, se destaca la aplicación de larvicidas microbiológicos tales como *Bacillus sphaericus*, Neide (Serotipo 2362) y *Bacillus thuringiensis israelensis* (H-14), Coldberg y Margalit, los cuales son específicos para combatir larvas de mosquitos.

La costa pacífica del departamento del Valle del Cauca es endémica para malaria y ocurre transmisión casi todo el año. Igualmente, existe una elevada transmisión de esta enfermedad en Buenaventura, tanto en el área rural como en la urbana. Uno de los principales mosquitos vectores de malaria es el *Anopheles albimanus* Widemann. Los principales criaderos de este vector se ubican en estanques para el cultivo de peces (en producción o abandonados) y en huecos dejados por minería o en remociones de tierra. Los sumideros de aguas lluvias de Cali son el principal criadero de larvas de mosquitos, tales como *Aedes aegypti* (Linn) y *Culex spp* (Linn), debido a la permanencia de agua durante todo el año (Gonzales et al., 1993).

Este informe describe los procedimientos metodológicos para evaluar el estado de la susceptibilidad de los mosquitos *Anopheles albimanus* en Buenaventura,

Valle del Cauca, y de *Culex quinquefasciatus* en Cali, Valle, Colombia al larvicida *B. sphaericus* (VectoLex®).

## PRUEBAS BIOLÓGICAS DE SUSCEPTIBILIDAD EN LABORATORIO

Para realizar por primera vez el estudio de la respuesta a un larvicida de una población de insectos, es necesario establecer la línea base de susceptibilidad de la población, con el fin de observar el comportamiento de esa cepa al larvicida y así poder detectar cambios en la susceptibilidad de la población a través del tiempo.

Para efectuar las pruebas de susceptibilidad de las larvas de *Culex quinquefasciatus* a VectoLex® en Cali, se colectaron larvas en un solo criadero del norte de la ciudad, fueron colonizadas y la F<sub>2</sub> utilizada en el bioensayo. Las larvas de *An. albimanus* (cepa Buenaventura), para realizar las pruebas de susceptibilidad, fueron suministradas por el Instituto de Inmunología de la Universidad del Valle.

En el establecimiento de las líneas base de susceptibilidad se utilizaron diferentes concentraciones preparadas a partir de VectoLex®, producto formulado (cepa 2362, serotipo H5a5b, suministrada por la firma Abbott Laboratories).

Las características del producto comercial VectoLex® son:

- 50 ITU de Bs./mg.
- 0,023 billones de Bs.ITU/Lb.
- Concentración de i.a. 7,5%.
- Ingredientes inertes: 92,5%.
- Registro EPA: 275-77.
- Estatuto EPA: 33762-1 A1.

Las pruebas se efectuaron siguiendo el protocolo del método estandarizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1981), el cual consiste en utilizar vasos de precipitados de 600 mL en los cuales se mide la cantidad de agua filtrada necesaria para obtener la concentración deseada a partir de la solución madre, obteniendo un volumen final de 250 mL de solución. Luego, en vasos de precipitados de 50 mL se cuentan 25 larvas de tercer instar tardío o cuarto instar temprano, y se adicionan al vaso de 600 mL, al mismo tiempo en todas las concentraciones.

Se utilizaron tres réplicas de cada concentración, con su respectivo testigo. Los ensayos se repitieron tres veces en días diferentes. La solución madre (agua + VectoLex®) se dejó 24 horas en reposo, para permitir la liberación de la endotoxina adherida en el ingrediente inerte. La mortalidad se evaluó a las 24 horas. Se consideraron larvas muertas las que al ser punzadas en la región cervical no presentaban movimiento alguno. Los resultados fueron analizados utilizando la transformación a escala probit (Finney 1964) usando el programa de Raymond (1985).

## Preparación de soluciones de VectoLex® para pruebas de susceptibilidad

Para preparar las diferentes concentraciones de las soluciones larvicidas se utiliza el ingrediente activo o en su defecto el producto comercial, el cual se diluye en agua para obtener una solución madre. A partir de ésta, se preparan diluciones seriadas. Se tiene en cuenta la pureza del larvicida, la densidad del solvente, la cantidad que se va a preparar y la concentración deseada de la solución madre.

Para la preparación de la solución madre se aplicó la siguiente fórmula:

$$CI = \frac{PO \times CA \times D}{PI}$$

- CI = cantidad del larvicida inicial necesario.
- PO = porcentaje de la preparación final.
- CA = cantidad de preparación final.
- D = densidad del diluyente (agua 1000 g/L).
- PI = concentración del larvicida inicial (7,5% de ingrediente activo).

$$0,0044 \text{ g} = \frac{PO \times 0,250 \text{ l} \times 1000 \text{ g/L}}{7,5\%}$$

$$0,033/250 = 0,000132\% = 1,32 \text{ ppm (mg/L)}$$

A partir de la solución madre (concentración de 1,32 ppm), se efectuaron diluciones seriadas con el fin de obtener dosis intermedias en la elaboración de la línea base de susceptibilidad, con la siguiente fórmula:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$V_1$  = volumen inicial       $C_1$  = concentración inicial  
 $V_2$  = volumen final       $C_2$  = Concentración final

Ejemplo:

$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

$$C_1 = 1,32 \text{ mg/L}$$

$$V_2 = 250 \text{ mL}$$

$$C_2 = X$$

$$6 \times 1,32/250 = 0,031 \text{ mg/L}$$

Las dosis utilizadas en el establecimiento de la línea base (mg/L) con *Culex quinquefasciatus* fueron: 0,031; 0,015; 0,007 y 0,002. Las dosis utilizadas en el establecimiento de la línea base en mg/L con *An. albimanus* fueron: 0,031; 0,060; 0,120; 0,240; 0,500 y 1,000.

La diferencia en las dosis para el establecimiento de la línea base de las dos especies ocurre por las características propias de cada especie en la susceptibilidad al larvicida.

## RESULTADOS

### Pruebas biológicas de susceptibilidad en laboratorio

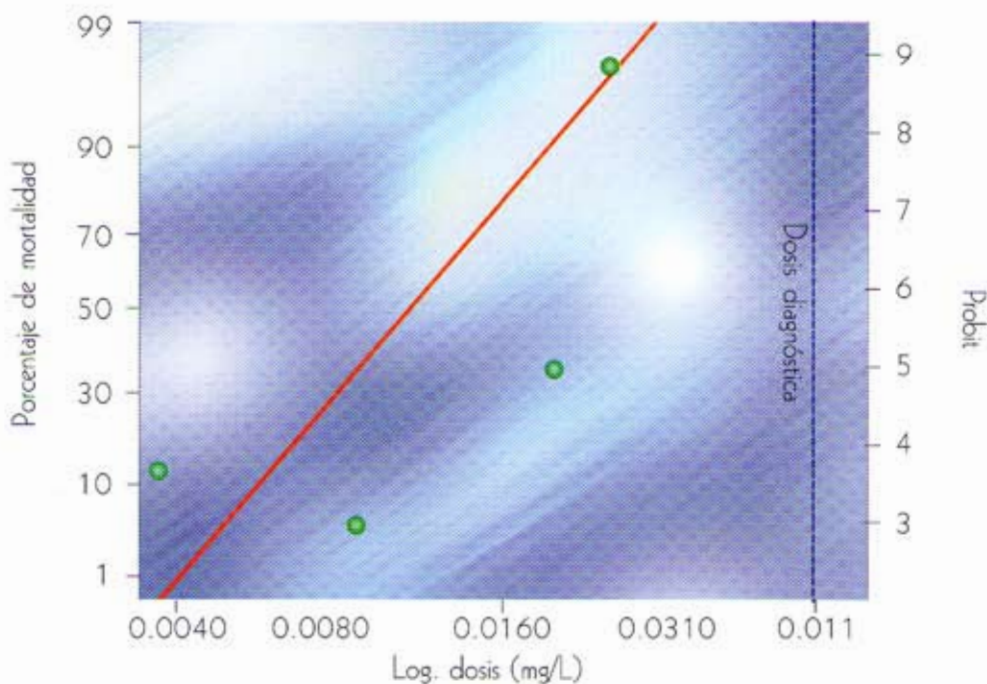
La  $CL_{50}$  de la cepa Cali fue de 0,015 mg/L, similar a la reportada por Jittawadee y Mulla (1996) de 0,014 mg/L de una cepa susceptible del sur de California colectada en el campo. Por consiguiente, las larvas de *Cx.*

*quinquefasciatus* de Cali se comportan como susceptibles a Vectolex®. El rango de concentración de la línea base se encuentra entre 0,0040 y 0,0630 mg/L (Figura 1).

El análisis probit, con la cepa Cali (*Cx. quinquefasciatus*) muestra una elevada pendiente de la línea de regresión y una  $CL_{50}$  correspondiente a una cepa susceptible, lo cual indica que las poblaciones son homogéneamente susceptibles a este biolarvicida (Figura 1). De acuerdo con el valor de la  $CL_{99}$  se calculó la dosis diagnóstica de la cepa Cali (0,11 mg/L). Los valores de  $X^2$  (Chi cuadrado), resultan de la interacción entre la mortalidad observada y la mortalidad esperada, que es alta, lo cual se refleja en la amplitud de los intervalos de confianza, debido a que no se disponía de *B. sphaericus* grado técnico para la elaboración de la línea base, además, como es un producto que actúa por ingestión, el porcentaje de consumo de una larva depende de su estado de alimentación al comenzar la prueba.

Las larvas de *An. albimanus* de la cepa Buenaventura presentaron una  $CL_{50}$  de 0,18 mg/L, valor que se encuentra dentro de los rangos establecidos para *An. stephensi* y *An. culifacies* (0,19-2,0 mg/L respectivamente), informados por Sharma 1993). Si bien son especies diferentes

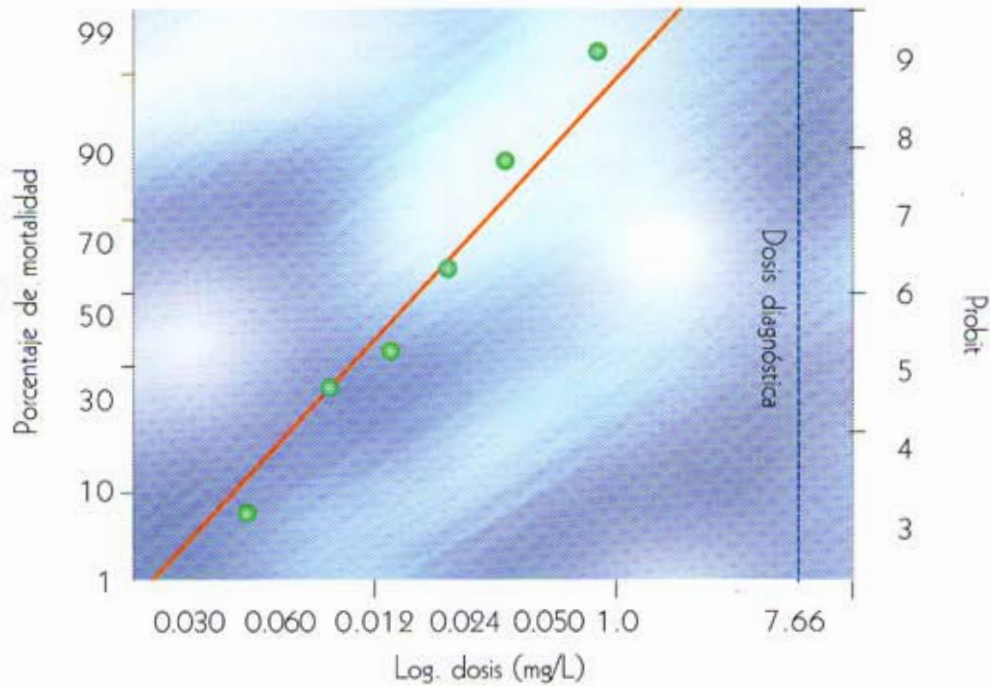
Figura 1  
LÍNEA DE REGRESIÓN LARVAS DE *Culex quinquefasciatus*  
CON *Bacillus sphaericus* (VECTOLEX®)



a la encontrada en Buenaventura, el valor hallado con la cepa local muestra susceptibilidad por estar cercano a estos valores. Además, la pendiente de la línea de regresión de

1,9 es elevada, lo que indica que la población responde homogéneamente al larvicida (Figura 2). La dosis diagnóstica de la cepa de Buenaventura fue de 7,6 mg/L.

**Figura 2**  
**LÍNEA DE REGRESIÓN LARVAS DE *Anopheles albimanus***  
**(CEPA BUENAVENTURA) CON *Bacillus sphaericus* (VECTOLEX®)**



### LECTURAS RECOMENDADAS

1. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca C.V.C. Departamento de meteorología, 1996.
2. Finney DJ. Probit analysis. A statistical treatment of sigmoid curve. Cambridge Univ. Press. Cambridge, Inglaterra. 1964.
3. González RF, Gamboa YO, Méndez. Índices de positividad y asociación de *Aedes aegypti* (diptera culicidae) en sumideros de la ciudad de Cali. V Congreso latinoamericano y XIII venezolano de entomología. Resúmenes 1993. p.159-160.
4. Jittawadee R, Mulla MS. Cross-resistance to *Bacillus sphaericus* strains in *Culex quinquefasciatus*. Am Mosq Cont Assoc 1996; 12 (2): 117-121.
5. Raymond M. Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. Cah. ORSTOM, Ser Ent Med et Paratit 1985, 22 (2): 117-121.
6. Sharma VP. Progress report of biolarvicide in vector control Malaria research centre. New Delhi 1993. p.79.
7. OMS. Instrucciones for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. OMS/VBC/1981. p. 81. 807