



Evaluación del impacto y residualidad del inhibidor de síntesis de Quitina Dimilin® 2TB y 2GR (Diflubenzuron) formulaciones para agua potable (tabletas y gránulos) en el control de *Aedes aegypti* pruebas de laboratorio y evaluación en campo

Carlos Andrés Morales
Biólogo Entomólogo
Investigador, carmorales72@hotmail.com

Introducción

En el país, desde hace más de 20 años, el control del estado larval de *Aedes aegypti*, se ha efectuado con larvicidas organofosforados y desde hace algunos años con insecticidas microbiales del tipo *Bacillus thuringiensis* Var. *Israeliensis* y juvenoides como Piriproxifen. El uso prolongado de los larvicidas organofosforados ha traído como consecuencia la resistencia del vector a los mismos. (1,2).

Recientemente en el país se efectuó un estudio sobre la susceptibilidad o resistencia de los principales vectores de enfermedades y se encontró una amplia distribución de la resistencia de *Ae. aegypti* al larvicida organofosforado Temefos: Norte de Santander (Los Patios, Tibu, Cúcuta), Magdalena (Santa Marta), Tolima (Ibagué), Nariño (Tumaco), Cauca (Santander de Quilichao), Valle (Palmira, Cartago), Huila (Guadalupe, Campo Alegre, La Plata, Neiva), Cundinamarca (La Mesa, Girardot), Meta (Villavicencio), Santander (Sabana de Torres), Chocó (Medrano, Margaritas), Putumayo (Orito). (3,4). Lo anterior hace necesario disponer de otros ingredientes activos que controlen al vector y no presenten resistencia cruzada con el organofosforado Temefos.

Hace algunos años fue introducido al mercado del país, el larvicida perteneciente al grupo de los IGR (Triflurazuron). Evaluaciones de este producto en sumideros mostraron un porcentaje de reducción en pupas del 70%, hasta los 21 días post-aplicación, (5). Sin embargo, la formulación disponible en el país (suspensión concentrada SC) presenta dificultades para su manejo en campo y no lo hace aplicable en tanques bajos. En el 2010 se registró en Colombia un insecticida para uso en salud pública basado en diflubenzuron. El diflubenzuron pertenece a la clase de insecticidas comúnmente conocidos como reguladores del crecimiento de insectos. El producto es en forma de tableta efervescente y esta formulación fue desarrollada específicamente para el tratamiento contra las larvas de mosquitos en los lugares de reproducción como las aguas almacenadas para uso doméstico (WHOPES 2008).

Los inhibidores de síntesis de quitina como Diflubenzuron y Triflurazuron, actúan sobre las larvas ocasionando la muerte durante la ecdisis, la larva no consigue eliminar la cutícula vieja debido a la inhibición de depósito de quitina, las larvas mueren durante el proceso de muda (6).

Objetivo

Evaluar el impacto y residualidad del inhibidor de síntesis de quitina Dimilin® 2TB y 2GR (Diflubenzuron) formulaciones para agua potable (tabletas y gránulos) en el control de *Aedes aegypti* en laboratorio y campo.

Objetivos específicos

- Evaluar el impacto y residualidad de Diflubenzuron en la dosis de 0,05mg IA/l en condiciones controladas (laboratorio)
- Evaluar el impacto y residualidad de dos formulaciones de Diflubenzuron en la dosis de 0,05 – 0.1mg IA/l en situaciones de rutina en tanque bajos y barriles (efecto en campo)

Metodología

Pruebas de Laboratorio

Las dosis recomendadas por el fabricante de ambas formulaciones fueron evaluadas en condiciones de laboratorio, para esta prueba fueron utilizados conjuntos de contenedores de 5 galones de capacidad (20L) simulando los criaderos donde estas especies se desarrollan, se efectuaron 3 repeticiones de cada concentración, con su respectivo testigo. A cada contenedor se le colocaron 10 litros de agua previamente reposada 72 h a la sombra, posteriormente se aplicó una dosis de 0.05 mg IA/L (dosis máxima en agua potable 0.25 mg IA/L) (7) de las dos formulaciones agregándolas directamente a cada uno de

los contenedores. Luego de 15 minutos, 25 larvas de 3 estadio tardío fueron expuestas al efecto del producto larvicida y a los contenedores testigo.

Se efectuó solo una aplicación de los tratamientos, aunque se aclara que los grupos de larvas para evaluar el efecto se introdujeron cada 15 días y se evaluaron luego de 7 días de exposición hasta completar 24 semanas.

Para evaluar los efectos de los reguladores de crecimiento en larvas de mosquitos, es necesario el aislamiento y seguimiento de una proporción significativa de larvas para su emergencia, por lo cual se modificaron los recipientes experimentales descritos por Mulla (8), figura 1.

La evaluación consistió en la colecta de larvas muertas o exuvias de pupas para evaluar la emergencia (9), a partir del 7 día de exposición de las larvas a Diflubenzuron. Las evaluaciones se efectuaron hasta que la inhibición de la emergencia fuera menor a 70%.

El conteo de adultos emergidos se realizó antes de quitar el protector de tul, registrando como adultos emergidos sólo los adultos con capacidad de vuelo normal.

El número de larvas muertas o adultos no emergentes en los contenedores tratamiento y los contenedores control fue usado para calcular el porcentaje de reducción (%R) utilizando la fórmula de Henderson y Tilton (1985) (10).

Aplicación en campo:

Evaluación en Tanques Bajos y Barriles

Se seleccionaron las localidades del Paso de Bolsa y Potrerito del municipio de Jamundí, para la evaluación de Diflubenzuron en tanques bajos y la localidad de Altos de Normandia para la evaluación en barriles en el municipio de Cali, es de resaltar que la mayoría de los barriles evaluados en esta última localidad se encuentran expuestos a la lluvia, debido a problemas en el suministro de agua.

En la zona experimental la temporada de lluvias se distribuye en dos (abril-mayo y octubre-noviembre), representando aproximadamente el 60% del total anual, y dos temporadas secas (enero-febrero y julio-agosto), con un total anual de 1.000 mm. (10,11).

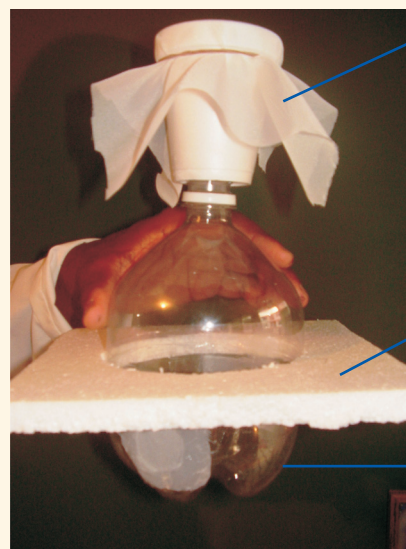


Figura 1. Procedimiento de las pruebas de laboratorio con unidades experimentales

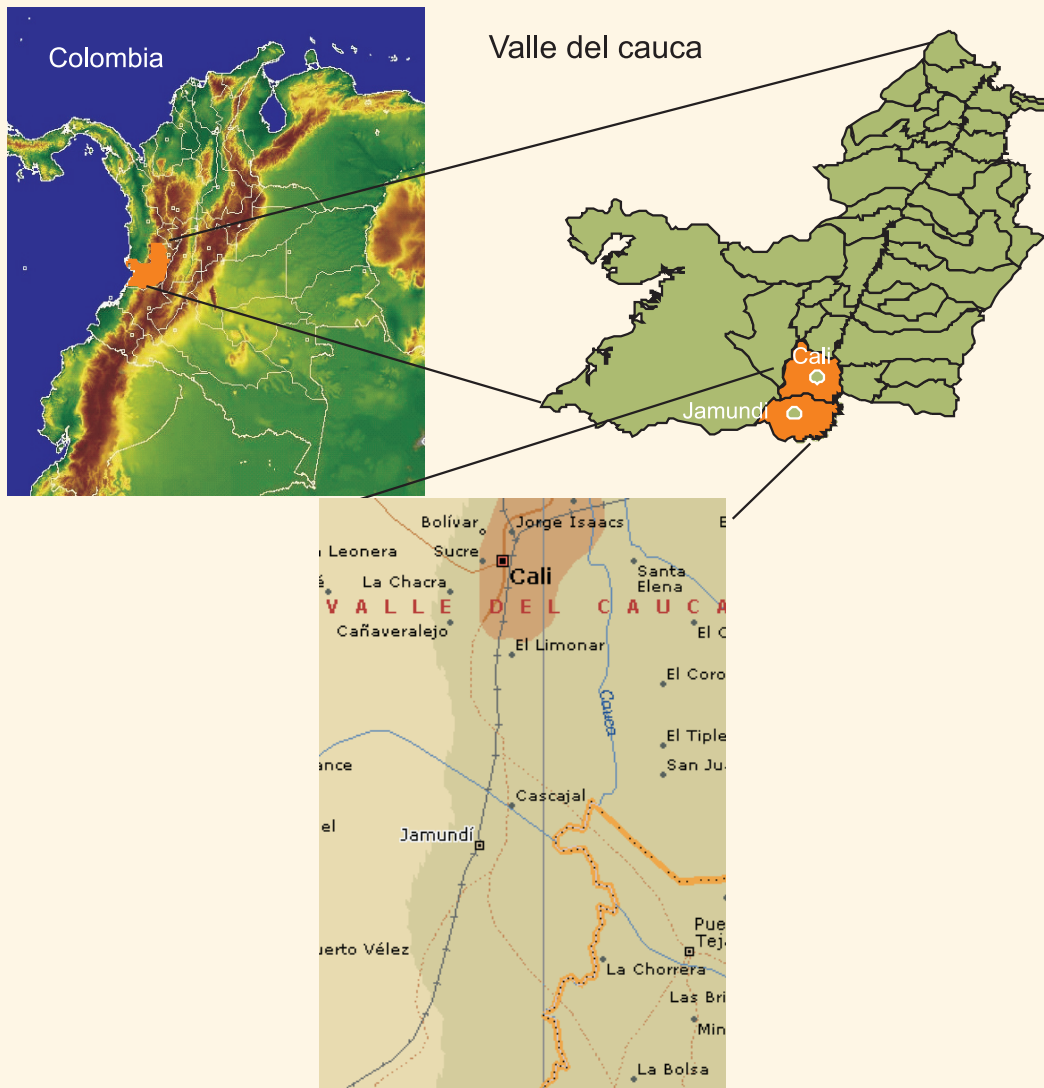


Figura 2. ubicación de la zona de estudio

Evaluación de densidades de larvas, infestación natural en tanques bajos

Las evaluaciones se realizaron en la localidad del paso de la Bolsa, para evaluar el impacto y residualidad de Diflubenzuron en tanques bajos, previamente se evaluó la densidad larval y tipo de especie presente, se aplicó una dosis entre 0,1 y 0,05 mg I/AI de la formulación en tabletas, se efectuaron evaluaciones a los 0,6,15,23,39 y hasta los 50 días, no se pudo continuar con la evaluación debido a que las personas efectuaron el lavado de los tanques.

Evaluación mediante densidad fija de larvas en recipientes experimentales en tanques bajos.

En la localidad de Potrerito, se seleccionaron un total de 19 tanques bajos (8 para la formulación granulada, 8 para las tabletas y 3 testigos), se aplicó una dosis entre 0,1 y 0,05 mg I/AI de la formulación en tabletas y granulada, se efectuaron evaluaciones a los 0, 9, 25, 32, 40, 47, 57, 65, 73, 80, 97 y 125 días.



Figura 3. Pruebas en tanques bajos con la formulación en tabletas



Figura 4. Metodología de las pruebas con recipientes experimentales en tanques bajos.



Figura 5. Aspectos de las pruebas en barriles



Siete días antes de las evaluaciones se colocaron 30 larvas en cada contenedor el cual se dejó flotando en el tanque con alimento para las larvas, posteriormente se regresó para evaluar la mortalidad y emergencia de adultos en los contenedores.

Evaluación de densidades de larvas, infestación natural en barriles

En la localidad de Alto Normandía, se seleccionarán un total de 17 barriles (7 para la formulación granulada, 7 para las tabletas y 4 testigos), se aplicó una dosis entre 0,1 y 0,05 mg IA/l de la formulación en tabletas y granulada, se efectuaron evaluaciones a los 0, 6, 16, 24, 31, 40, 50, 70 y 90 días.

Previamente se evaluó la densidad larval y tipo de especie presente, en el grupo experimental, se aplicó la dosis recomendada, tomando 4 muestras tanque bajo con un cucharón de aproximadamente 250 cc, y se valoró el porcentaje de reducción de pupas de acuerdo con la fórmula de Henderson y Tilton (1985). El grupo testigo estuvo conformado por 4 barriles, los cuales no recibieron tratamiento alguno.

Resultados

Pruebas de Laboratorio

Se efectuaron pruebas hasta los 180 días post-tratamiento en ambas formulaciones, tabletas y granulada se observó una mortalidad en larvas de IV instar del 100%.

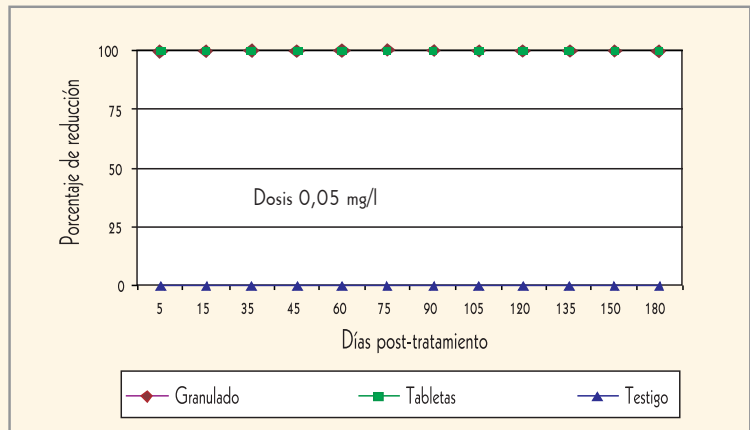
Evaluación de densidades de larvas, infestación natural en tanques bajos

Se observaron altas densidades de *Ae aegypti* (entre 13,8 y 21,8 larvas por cucharón) siendo similar en todos los criaderos evaluados. A los 6 días post aplicación las densidades larvales disminuyeron a 5 para larvas de IV instar y a 0 para pupas.

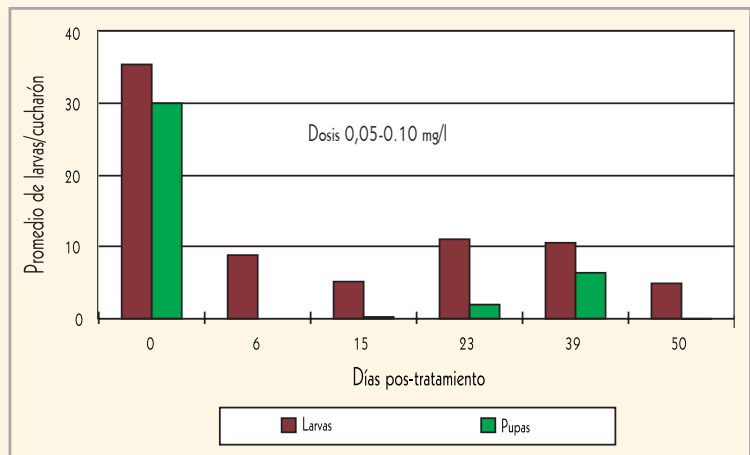
La gráfica 2, muestra el promedio de larvas de *Aedes aegypti* por cucharón luego de la aplicación de Diflubenzuron en tabletas (0,05 mg/l- 0,10 mg/l), hasta los 50 días que tiempo que se logró monitorear se mantuvieron densidades inferiores al día 0, la tendencia de las densidades pupales fue muy similar a la obtenida con larvas. El ensayo fue terminado debido



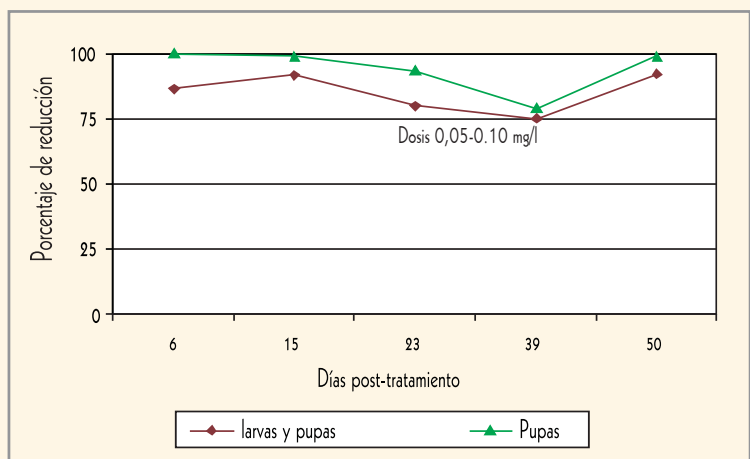
Gráfica 1. Porcentajes de reducción de larvas de *Ae. aegypti*, luego de aplicar Diflubenzuron formulaciones granulada y tabletas en pruebas de laboratorio



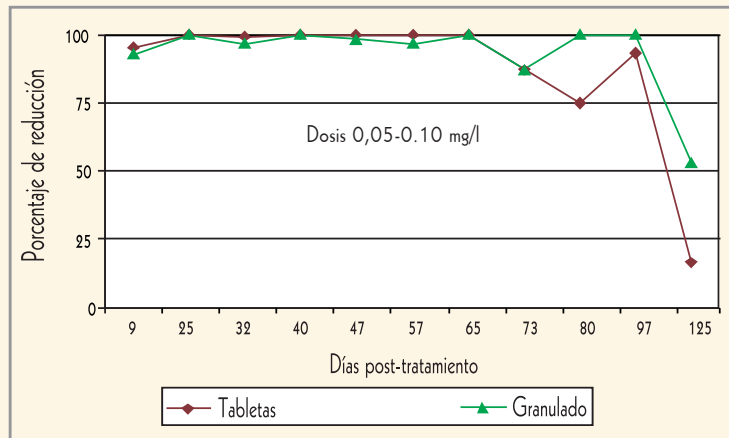
Gráfica 2. Promedio de larvas y pupas de *Ae. aegypti*, luego de aplicar Diflubenzuron formulado en tabletas en tanques bajos



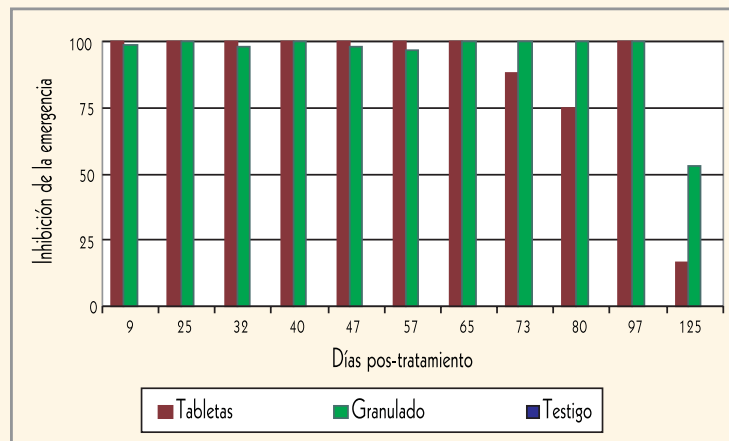
Gráfica 3. Porcentajes de reducción de larvas y pupas de *Ae.aegypti*, luego de aplicar Diflubenzuron formulado en tabletas en tanques bajos



Gráfica 4. Porcentajes de reducción de larvas de *Ae. aegypti*, luego de aplicar Diflubenzuron formulado en tabletas y gránulos en recipientes experimentales en tanques bajos



Gráfica 5. Inhibición de la emergencia de adultos de *Aedes aegypti* luego de aplicar Diflubenzuron formulado en tabletas y granulado en unidades experimentales en tanques bajos



a las casas evaluadas lavaron los tanques debido a que el suministro de agua presentó turbiedad.

Los porcentajes de reducción en larvas y pupas se muestran en la gráfica 3, hasta los 50 días que se logró evaluar se observó un porcentaje de reducción en larvas + pupas del 93,2% y en pupas del 99%.

Evaluación mediante densidad fija de larvas en recipientes experimentales en tanques bajos.

Se evaluó el impacto y residualidad de las formulaciones de Diflubenzuron en recipientes experimentales con una densidad fija de larvas en tanques bajos. Se

aplicó una dosis de Diflubenzuron entre 0,1 y 0,05 mg l⁻¹ de la formulación en tabletas y granulada, se efectuaron evaluaciones a los 0, 9, 25, 32, 40, 47, 57, 65, 73, 80, 97 y 125 días, la gráfica 4 muestra los porcentajes de reducción de larvas obtenidos y la gráfica 5 la inhibición en la emergencia de adultos.

Evaluación de densidades de larvas, infestación natural en barriles

Se observaron altas densidades de *Ae. aegypti* (entre 7,6 y 18,9 larvas por cucharón) siendo similar en todos los criaderos evaluados.

A los 6 días post aplicación las densidades larvales disminuyeron a 0 y 0,3 para larvas de IV instar y 0 pupas en los barriles tratados con tabletas y granulado respectivamente.

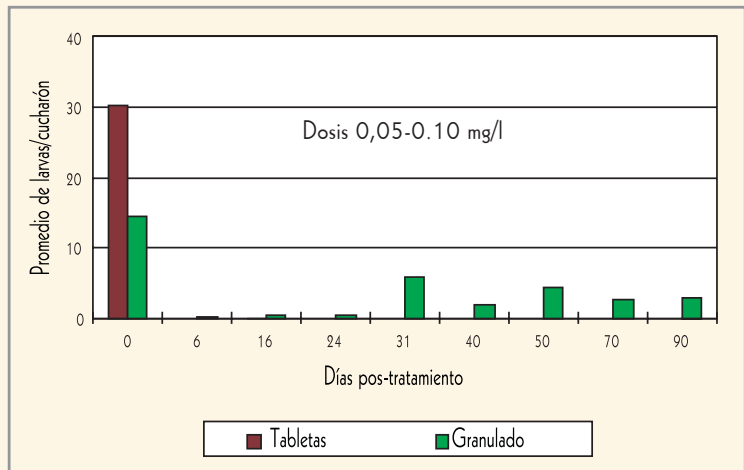
La gráfica 6, muestra el promedio de larvas de *Ae aegypti* por cucharón luego de la aplicación de Diflubenzuron en tabletas y granulado (0,05 mg/l- 0,10 mg/l), hasta los 40 días, tiempo que se logró monitorear la formulación en tabletas, se mantuvieron densidades inferiores al día 0, la tendencia de las densidades pupales fue muy similar a la obtenida con larvas. El ensayo con la formulación en tabletas fue terminado debido a que las casas evaluadas lavaron

los barriles debido a que llevaban un mes sin suministro de agua y cuando se restableció el servicio lo hicieron.

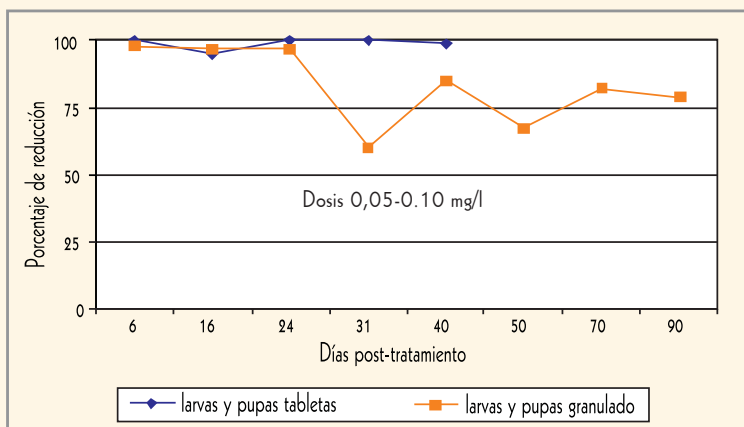
En el caso de los barriles tratados con la formulación granulada se lograron monitorear hasta los 90 días.

Los porcentajes de reducción en larvas y pupas se muestran en las gráficas 7 y 8 respectivamente, hasta los 50 días que se logró evaluar la formulación en tabletas se observó un porcentaje de reducción en larvas + pupas del 99%, en el caso de la formulación granulada se evaluó por 90 días con un porcentaje de reducción del 79%.

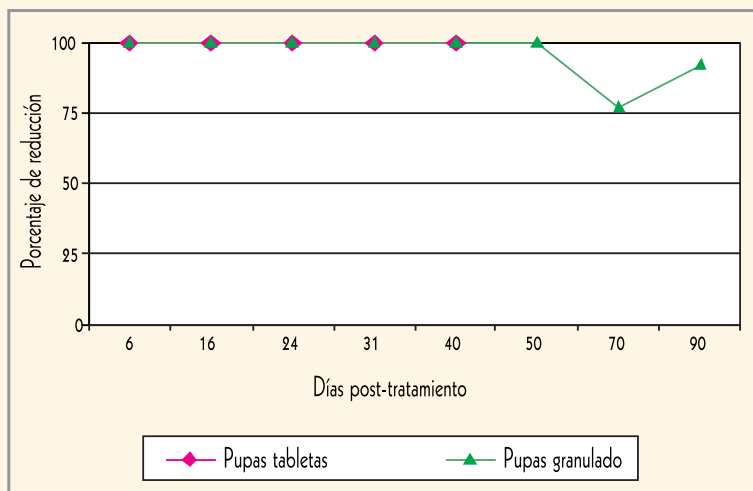
Gráfica 6. Promedio de larvas y pupas de *Aedes aegypti* luego de aplicar Diflubenzuron formulado en tabletas en barriles



Gráfica 7. Porcentajes de reducción de larvas + pupas de *Ae. aegypti*, luego de aplicar Diflubenzuron formulado en tabletas y granulado en barriles



Gráfica 8. Porcentajes de reducción de pupas de *Ae. aegypti*, luego de aplicar Diflubenzuron formulado en tabletas y granulado en barriles



Conclusiones

- La residualidad de Diflubenzuron (dosis 0,05 mg ia/l) alcanzada en pruebas de laboratorio fue de 180 días con una mortalidad del 100% en larvas de 4 instar de *Aedes aegypti*.
- El impacto y la residualidad de Diflubenzuron formulación en tabletas (dosis 0,05-0,1 mg ia/l) alcanzada en tanques bajos con infestación natural de larvas, pudo ser evaluada hasta los 50 días con una reducción de larvas más pupas del 93,2%, no se logró continuar con el monitoreo por el lavado de los tanques debido a turbiedad en el servicio de acueducto.
- El impacto y la residualidad de Diflubenzuron (dosis 0,05-0,1 mg ia/l) alcanzada en tanques bajos con unidades experimentales con densidad fija de larvas, a los 97 días presentó una reducción de larvas más pupas del 93% y 100%, para las formulaciones en tabletas y granulada respectivamente.
- La inhibición de la emergencia de adultos luego de aplicar Diflubenzuron (dosis 0,05-0,01 mg ia/l) en tanques bajos con unidades experimentales con densidad fija de larvas, hasta los 97 días fue del 100%, para ambas formulaciones.
- El impacto y la residualidad de Diflubenzuron formulación en tabletas y granulada (dosis 0,05-0,1 mg ia/l) alcanzada en barriles con infestación natural de larvas, pudo ser evaluada hasta los 40 días para la formulación en tabletas con una reducción de larvas más pupas del 99%, no se logró continuar con el monitoreo debido al lavado de las tinas. En el caso de la formulación granulada se monitoreó hasta los 90 días con un porcentaje de reducción del 79% en larvas más pupas y 92% en pupas.
- Diflubenzuron formulado en tabletas y granulado es una alternativa para el control de *Aedes aegypti* en criaderos permanentes en el país.

Agradecimientos

A Carlos Fernando, Mauricio Viveros, Jhony Popo por su apoyo en el trabajo de campo. Al Ing. Luis Márquez de Chemtura por su apoyo y acompañamiento en el desarrollo del proyecto. Finalmente a las comunidades de Potrerito, El Paso de la Bolsa y Alto Normandía, por su colaboración en el presente estudio.

Literatura citada

1. Suárez, M. F., R. González & C. A. Morales 1996. Temephos resistance to *Aedes aegypti* in Cali, Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*(suplemento) 55: 257.
2. Morales C. A & M. F. Suárez 1999. Evaluación de la susceptibilidad o resistencia de larvas de *Ae. aegypti* a Temefos (Abate®) en cinco localidades de Colombia. XXVI Congreso Sociedad Colombiana de Entomología, julio 28 – 30. Santafe de Bogotá, p. 60.
3. Instituto Nacional de Salud, Colciencias, Pecet, Cideim, Ministerio de la Protección Social. II Simposio sobre el estado de la resistencia a insecticidas de uso en salud pública del vector del Dengue *Aedes aegypti* y de los principales vectores de Malaria *Anopheles* en Colombia. 2007. Bogota DC.
4. Instituto Nacional de Salud. Diagnóstico preliminar de la resistencia o susceptibilidad de los vectores primarios de Malaria, *Anopheles albimanus* Wiedemann 1820, *Anopheles darlingi* Rott 1926 y *Anopheles nuneztovari* Gabaldon 1940 y el vector del dengue *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 a insecticidas de uso en salud pública en algunas localidades de Colombia 2004-2005. 2006 Informe técnico.
5. Morales C. A. 2002. Evaluación de Starycide® S:C480 sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Culex spp.* En sumideros de Cali, Colombia, *Revista de Salud Pública Bayer*, Volumen 16.
6. Mulla, M. S. 1995. The future of insect growth regulators in vector control. *J.Mosq. Control Assoc.* 11:269 -273.
7. WHO (2008) Diflubenzuron in drinking-water: Use for vector control in drinking-water sources and containers. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/HSE/AMR/08.03/6).
8. Mulla MS, Darwazeh HA, Norland RI. 1974. Insect growth regulators: evaluation procedures and activity against mosquitoes. *J Econ Entomol* 67:329-332.
9. Becnel, J. J., García, J. J., and Johnson, M. A. 1996. The effects of three larvicides on the production of *Aedes albopictus* based on pupal exuviae removal. *J. Am. Mosq. Control Ass.* 12:499-502.
10. Henderson, C. F., E. W. Tilton. 1955. Test with acaricides against the brown wheath mite. *J. Econ: Entomol.* 48: 157- 61.
11. Anuario estadístico del Valle del Cauca. 1993. Consejo Departamental de Estadística. C.D.D.E. 380 pp.
12. Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca C.V.C. 1999 Departamento de meteorología.