



Control de *Aedes (Stegomyia) aegypti* utilizando *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en Armenia, Quindío, Colombia

Control of *Aedes (Stegomyia) aegypti* using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in Armenia, Quindío, Colombia

Oscar Alexander Aguirre-Obando^{1*}; Irene Duarte Gandica²

¹Licenciado en Biología y Educación Ambiental, M.Sc., Ph.D. Universidad del Quindío, Escuela de Investigación en Biomatemática. Armenia - Quindío, Colombia; e-mail: oscaraguirre@uniquindio.edu.co; <https://orcid.org/0000-0003-2480-7004>

²Matemática, Ph.D. Universidad del Quindío, Escuela de Investigación en Biomatemática. Armenia - Quindío, Colombia; e-mail: iduarte@uniquindio.edu.co; <https://orcid.org/0000-0003-2885-3374>

*autor para correspondencia: oscaraguirre@uniquindio.edu.co

Cómo citar: Aguirre-Obando, O.A.; Duarte Gandica, I. 2020 Control de *Aedes (Stegomyia) aegypti* utilizando *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en Armenia, Quindío, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 23(1):e1067. <http://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1067>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de educación superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: Noviembre 8 de 2018

Aceptado: Febrero 3 de 2020

Editado por: Ingeborg Zenner de Polanía

RESUMEN

En Colombia, *Aedes aegypti* es resistente a la mayoría de insecticidas utilizados. Debido al lento desarrollo de resistencia a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti), así como su alta especificidad e inocuidad ambiental, el uso de este larvicida, se torna una alternativa en el manejo de este vector. En este trabajo, se evaluó experimentalmente y describió por medio de un modelo matemático, la dinámica del control de poblaciones naturales de *A. aegypti*, utilizando Bti. Se determinó el perfil de susceptibilidad, a través de bioensayos dosis-respuesta con larvas colectadas de Armenia (Quindío, Colombia). Adicionalmente, con los datos de mortalidad de las localidades analizadas, un nuevo análisis fue realizado, para estimar el perfil de susceptibilidad del municipio de Armenia. Los datos de mortalidad fueron utilizados para calcular las concentraciones letales 50 y 95. Con éstas, se realizaron simulaciones

hipotéticas del comportamiento del vector, obtenidas a partir de un modelo matemático, que describe la dinámica poblacional, usando aplicaciones sucesivas de Bti y diferentes intervalos de tiempo. Los bioensayos dosis-respuesta indican que las poblaciones del vector analizadas son susceptibles al Bti, por presentar una respuesta biológica similar a la obtenida en la cepa de referencia Rockefeller. Las simulaciones aplicando un control periódico sostenido, sugieren que el Bti es efectivo para controlar el vector; sin embargo, su eficiencia a largo plazo depende de la relación entre concentración letal y frecuencia de aplicación. Se concluye que la aplicación sostenida de Bti constituye una alternativa viable para el control de poblaciones de *A. aegypti*, a largo plazo.

Palabras clave: arbovirus; bacteria; control biológico; dengue; larvicidas; modelos matemáticos. CAB Thesaurus.

ABSTRACT

In Colombia, *Aedes aegypti* is resistant to most used insecticides. Due to the slow development of resistance to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) as well as its high specificity and environmental safety, the use of this larvicide becomes an alternative in the management of this vector. In this work, we evaluated experimentally and describe by a mathematical model the dynamics of control of natural populations of *A. aegypti* using Bti. The susceptibility profile to Bti was determined through dose-response bioassays with larvae collected in Armenia (Quindío, Colombia). In addition, in order to estimate the susceptibility profile, an analysis was carried out using the mortality data obtained from the four localities analyzed. The mortality data were used to estimate the lethal concentrations (LC₅₀ and ₉₅) from each locality. Using these LC, hypothetical simulations of vector behavior were carried out, obtained from a mathematical model that describes the population dynamics, using successive applications of Bti at different time intervals. The dose-response bioassays indicate that the analyzed vector populations are susceptible to Bti since they present a biological response similar to the one obtained from *A. aegypti* Rockefeller strain. Computer simulations using sustained periodic inspection indicate Bti is effective for the vector control. Nevertheless, its long-term efficiency depends on relation between the LC and the frequency of application. It is concluded that the sustained application of Bti represents a long-term viable alternative for the control of *A. aegypti* populations.

Keywords: arbovirus; bacteria; biological control; dengue; larvicides; mathematical models. CAB Thesaurus.

INTRODUCCIÓN

El mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) es el principal vector de arbovirus importantes, como el dengue, el chikunguña y el Zika (Souza-Neto *et al.* 2019). Ante la ausencia de vacunas eficaces para cada uno de estos arbovirus, la disminución del tamaño poblacional del vector utilizando insecticidas, se convierte en alternativa eficaz para disminuir el impacto de estas enfermedades (Bardach *et al.* 2019; WHO, 2013). En Colombia, las estrategias de control para el vector están dirigidas a la participación comunitaria, la eliminación de potenciales criaderos, el uso de agentes biológicos, como copépodos, peces larvivoros y el uso de productos de síntesis química, principalmente organofosforados (OP) y piretroides (PY) (MinSalud *et al.* 2011). En casos de epidemia, a gran escala, son utilizados insecticidas OP, desde 1970 y PY, desde 1990 (Aguirre-Obando *et al.* 2015), para interrumpir el ciclo epidemiológico del vector; no obstante, el uso continuo de OP y PY ha seleccionado poblaciones resistentes en Colombia (Aponte *et al.* 2019) y en el mundo (Smith *et al.* 2016). Lo anterior dificulta los programas de control y abre la necesidad de buscar alternativas para disminuir la presión selectiva efectuada en las poblaciones del vector.

Una alternativa contemplada, a nivel mundial, así como en el plan de control vectorial del dengue en Colombia para disminuir la presión de selección por OP y PY, es la utilización del larvicide microbiológico *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) (Bravo *et al.*

2013; Land *et al.* 2019; Lacey, 2007). El Bt, un microorganismo cosmopolita, es una bacteria entomopatógena Gram + proveniente del suelo, con variedades aisladas de agua, insectos plaga, granos almacenados, entre otros, que se caracteriza por la producción de cristales de proteínas, conocidas como δ -endotoxinas o proteínas Cry, denominadas Cry y Cyt. Este tipo de proteínas son las responsables de las propiedades entomocidas del Bti (Boyce *et al.* 2013). El modo de acción del Bti incluye la ingestión de los cristales por las larvas, su solubilización en el intestino medio y la liberación de las protoxinas, que se convierten proteolíticamente en toxinas. Posteriormente, estas toxinas activadas interactúan con los receptores del intestino medio, se insertan en las membranas provocando la formación de poros, que conducen a la permeabilidad celular y lisis osmóticas, que dañan el epitelio y generando, como resultado, la muerte del individuo (Vachon *et al.* 2012).

El uso de Bti, en su forma comercial, a lo largo del mundo en el control de larvas de mosquitos vectores, incluyendo *A. aegypti*, no muestra efectos adversos en otros artrópodos, aves, peces o mamíferos, incluyendo al hombre, organismos que podrían estar asociados a hábitats donde se desarrollan los mosquitos. Estos resultados muestran la posibilidad de reducir poblaciones vectores de enfermedades, con un bajo impacto ambiental (IRAC, 2019).

Por otro lado, las toxinas Cry (Cry4Aa, Cry4Ba, Cry10Aa, Cry11Aa, Cry11Ba y Cry30) y Cyt (Cyt1Aa y Cyt2Ba) extraídas del Bti, se emplean para el control de larvas de *A. aegypti*, así como para estadíos inmaduros de otros géneros vectores de enfermedades, como *Anopheles*, *Culex* y *Aedes* (Soares-da-Silva *et al.* 2015); no obstante, la aplicación de Bti en el control del mosquito vector del dengue, el chikunguña y el Zika, a nivel mundial, no es frecuente, probablemente, debido a los problemas inherentes a su uso, tasa de ingestión, edad y densidad de las larvas, temperatura, radiación solar, costos, entre otras (Land *et al.* 2019). Adicionalmente, estudios en campo y laboratorio en poblaciones del género *Aedes* utilizando Bti, no muestran el desarrollo de resistencia, incluso, después de 36 años de uso continuo y más de 5.000 toneladas de este producto, en 400mil ha (Becker *et al.* 2018; da Silva *et al.* 2018). Particularmente en Colombia, los trabajos de campo y laboratorio realizados por Kroeger *et al.* (1995), Armengol *et al.* (2006), Ocampo *et al.* (2009), Gómez-Vargas *et al.* (2018) y Paz *et al.* (2019), muestran que la aplicación de Bti puede ser considerada como una estrategia viable, utilizable en los programas de control vectorial.

Una de las prioridades en los programas es establecer el perfil de susceptibilidad de los productos usados para el control de vectores, como por ejemplo, el Bti, en condiciones de laboratorio y extrapolar su uso al campo (MinSalud *et al.* 2011). Una vez conocido este perfil, es importante conocer la frecuencia y el tiempo de uso convenientes para un control eficaz. Una aproximación a este abordaje es el empleo de modelos matemáticos, los cuales, permiten hacer predicciones del comportamiento a corto, mediano y largo plazo, sin necesidad de trabajo experimental (Momo & Capurro, 2006). Así, el uso de datos obtenidos en campo o laboratorio, particularmente las concentraciones letales 50 y 95 del producto de interés, que posteriormente son incorporados a modelos matemáticos, permiten

simular el uso de estas concentraciones en tiempos específicos (Meredith *et al.* 2019), por tanto, diseñar estrategias de control del mosquito *A. aegypti* y así prevenir el dengue, el chikunguña y el Zika.

Actualmente, los modelos matemáticos son ampliamente utilizados en las ciencias aplicadas; por ejemplo, con modelos matemáticos orientados a artrópodos vectores de enfermedades, se puede evaluar la efectividad de las acciones de control vectorial (McAuley *et al.* 2015). Esto, a pesar de sus limitaciones, entre las cuales, están la dificultad en la estimación de los parámetros que, por diversos factores, no siempre están disponibles; el error en la solución numérica y, por tanto, en las aproximaciones de los valores de las variables de estado y la simplificación del modelo eliminando términos, variables o parámetros, para hacer su solución más sencilla.

Estudios anteriores basados en modelos matemáticos presentan predicciones de la acción de insecticidas sobre el control del vector del dengue (Carvalho *et al.* 2019). Particularmente, Duque *et al.* (2006) realizaron simulaciones a 12 meses, utilizando una aplicación de Bti considerando tres temperaturas (20, 25, 30°C), encontrando que los mayores picos de la población de mosquitos se alcanzan rápidamente a altas temperaturas; sin embargo, este modelo no consideró aplicaciones sucesivas de Bti.

Esta investigación tiene como objetivo determinar la efectividad del uso del Bti para el control vectorial de *A. aegypti*. Para ello, se determinó experimentalmente la susceptibilidad de larvas de *A. aegypti* a Bti y, utilizando las dosis letales 50 y 95 (CL₅₀ y CL₉₅) obtenidas, se simuló el comportamiento poblacional del vector, a partir de un modelo matemático, usando aplicaciones sucesivas de Bti, en diferentes escenarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron 1.970 larvas de *A. aegypti* (NL = Número de larvas) de cuatro localidades de la ciudad de Armenia (Quindío, Colombia), donde, históricamente, se han reportado casos de dengue. Ancianato del Carmen (NL = 430; 4°31'37"N, 75°42'38"O), barrio Berlín (NL = 490; 4°32'11"N, 75°40'47"O), Ciudadela La Patria (NL = 550; 4°32'22"N, 75°42'8"O) y Terminal de Transportes (NL = 500; 4°31'38"N, 75°41'2"O). Las colectas, se realizaron siguiendo la metodología descrita en WHO (1981), para determinar índices de infestación en *A. aegypti*. De cada localidad, se colectaron aleatoriamente larvas de mosquitos de 10 diferentes tanques de almacenamiento de agua, ubicados en viviendas seleccionadas. Estos tanques estaban separados entre sí, por al menos 100m. Las larvas de cada localidad fueron llevadas al laboratorio y mantenidas bajo condiciones controladas (temperatura 25 ± 1°C, humedad 80 ± 10% y fotoperiodo 12 horas), hasta la emergencia de los adultos. Una vez emergidos y siguiendo la clave taxonómica descrita en Forattini (2002), fueron seleccionados todos los ejemplares de *A. aegypti*. Para cada punto de colecta, las larvas de la generación F₁ fueron utilizadas como material para determinar, en bioensayos dosis-respuesta, el estado de susceptibilidad de las poblaciones, siguiendo la metodología de la OMS (WHO, 1981). Larvas de

A. aegypti, tercero o cuarto instar inicial, fueron sometidas a pruebas de sensibilidad con Bti, utilizando el producto líquido Bt-horus® SC 1,200UIT/mg, para determinar la mortalidad larval entre el 5 – 95%.

Se utilizaron dos grupos control, un control interno por localidad, donde no se usó Bti y otro de referencia para las cuatro localidades, conformada por la cepa Rockefeller; cepa susceptible a insecticidas de *A. aegypti* (CDC), suministrada por el Centro de Investigaciones Tropicales (Cintrop) de la Universidad Industrial de Santander. Este grupo de individuos, al igual que cada población de *A. aegypti* colectada fue sometida a diferentes concentraciones de Bti. Para cada concentración, se evaluaron cuatro réplicas de 20 larvas. La mortalidad larval fue cuantificada después de 24h de exposición. Todos los bioensayos fueron repetidos cuatro veces.

Los datos de mortalidad, expresados en número de individuos muertos por dosis, fueron utilizados para calcular las concentraciones letales 50 y 95 (CL₅₀ y CL₉₅) y analizados, a través del método log-probit, de Finney (1971), utilizando el programa Probit, de Raymond (1993). Con las CL₅₀ y CL₉₅ obtenidas para cada localidad, se calculó el factor de resistencia 50% (FR₅₀) y 95% (FR₉₅), determinando la razones entre las CL 50 y 95, correspondientes a la cepa evaluada y a la cepa susceptible de referencia Rockefeller; FR₉₅ < 3,0, indicará susceptibilidad de las poblaciones, mientras que FR₉₅ > 3,0, cambio de insecticida por otro con diferente mecanismo de acción (Saúde, 2006). Adicionalmente, se realizó un nuevo análisis para estimar el perfil de susceptibilidad del municipio de Armenia (Armenia, nombre asignado en los resultados), en el cual, se colectó el material de análisis; para esto, fueron estimadas nuevamente las CL₅₀ y CL₉₅, utilizando los datos de mortalidad de todas las localidades evaluadas, así como las FR₅₀ y FR₉₅.

El modelo aplicado en este trabajo es una adaptación de un modelo estructurado en edad, que usó los resultados obtenidos experimentalmente de CL₅₀ y CL₉₅ para el Bti (Edelstein-Keshet, 1988). No se tuvieron en cuenta parámetros ambientales. Se consideraron 4 estadios para *A. aegypti*: Huevo, larva (incluye desde el primero hasta el cuarto instar), pupa y adulto. Las variables H(t), L(t), P(t) y A(t) representan el número de individuos en el tiempo t (medido en días), en los estadios huevo, larva, pupa y adulto, respectivamente. A través de cada estadio, las tasas vitales se asumieron constantes.

Los parámetros utilizados en el modelo matemático fueron:

- λ_H: proporción de huevos que pasan a larva
- λ_L: proporción de larvas que pasan a pupa (incluyendo sobrevivencia por estadio)
- λ_P: proporción de pupas que pasan a adulto
- λ_A: número de huevos que oviposita una hembra
- μ_H: tasa de inviabilidad natural de huevos
- μ_L, μ_P, μ_A: tasas de mortalidad natural de larvas, pupas y adultos, respectivamente
- θ: proporción hembra-macho

El sistema en ecuaciones diferenciales que interpreta la dinámica poblacional es:

$$\frac{dH}{dt} = \lambda_A \theta A(t) - (\lambda_H + \mu_H) H(t) \quad \text{ecuación 1}$$

$$\frac{dL}{dt} = \lambda_H H(t) - (\lambda_L + \mu_L) L(t) \quad \text{ecuación 2}$$

$$\frac{dP}{dt} = \lambda_L L(t) - (\lambda_P + \mu_P) P(t) \quad \text{ecuación 3}$$

$$\frac{dA}{dt} = \lambda_P P(t) - \mu_H A(t) \quad \text{ecuación 4}$$

Donde, $\frac{d}{dt}$ denota la derivada con respecto al tiempo.

La ecuación 1 corresponde al comportamiento de la población de huevos, el cambio en el tiempo es ocasionado por la oviposición de adultos hembra ($\lambda_A \theta$) y la tasa de transición de huevos a larva (λ_H) y muerte (μ_H). Las ecuaciones 2, 3, y 4 representan los cambios de las poblaciones en el tiempo de larvas, pupas y adultos, respectivamente, con entrada ocasionada por la transición de individuos de la etapa anterior (λ) y salida por muerte (μ) y transición a la etapa posterior.

Se obtuvo la solución numérica del sistema usando el método de Runge-Kutta de orden 4 (Burden & Faires, 2005) implementado en ambiente MATLAB® (MathWorks, 2012). Este método proporciona, de manera explícita, soluciones a problemas de valor inicial de primer orden, como el propuesto aquí, con error local de truncamiento de orden 4, el cual, permite prescindir del cálculo y evaluación de las derivadas y, además, efectúa 4 evaluaciones por paso, para dar respuestas más exactas y obtener una mayor precisión.

Usando esta solución numérica, se simuló la dinámica poblacional del vector del dengue, suponiendo la no aplicación de larvicida, así como aplicaciones sucesivas de Bti de las CL₅₀ y CL₉₅, cada 30 y cada 60 días, durante 1 y 5 años. En todas las simulaciones, las poblaciones iniciales fueron de 10 individuos en cada estadio. Los parámetros biológicos utilizados en las simulaciones se encuentran consignados en la tabla 1. Estos parámetros fueron estimados a

partir de los datos proporcionados en Bar-Zeev (1958), Li, *et al.* (1985), Manrique *et al.* (1998) y Rebêlo *et al.* (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando las poblaciones de *A. aegypti* fueron analizadas por localidad, el FR₉₅ presentó variaciones entre 1,0 (Ancianato del Carmen, Ciudadela La Patria y el Terminal de Transportes) y 1,1 (Barrio Berlín); sin embargo, cuando las poblaciones del vector del dengue fueron evaluadas como una unidad única (Armenia), el FR₉₅ fue de 1,0 (Tabla 2).

Por su parte, los bioensayos dosis-respuesta por localidad, indican variaciones en la CL₅₀ entre 0,035 (Ciudadela La Patria) y 0,047ppm (Barrio Berlín) y en la CL₉₅ entre 0,083 (Ancianato del Carmen) y 0,093ppm (Barrio Berlín), mientras que, cuando se estimaron las CL₅₀ y CL₉₅ para Armenia, fueron de 0,045 (CL₅₀) y 0,083ppm (CL₉₅). Si se comparan los valores de las CL₅₀ y CL₉₅ de las poblaciones de campo y la cepa de referencia Rockefeller, estos presentan la misma respuesta biológica (Tabla 2). Este patrón, también se visualiza gráficamente, a través de la pendiente de la recta de las poblaciones evaluadas y la cepa de referencia Rockefeller (Figura 1).

Algunos ensayos numéricos obtenidos a partir del modelo, se muestran en las figuras 2, 3 y 4. La figura 2 indica el comportamiento de las poblaciones del vector sin la aplicación del larvicida, corresponde a la solución numérica del modelo y constituye un comportamiento de referencia. Por otra parte, los ensayos numéricos a corto (30 y 60 días), mediano (1 año) y largo plazo (5 años), con aplicaciones de las CL₅₀ y CL₉₅, muestran, en todos los casos, que la aplicación del Bti lleva a la disminución de las poblaciones del vector; sin embargo, la diferencia fundamental es el tiempo necesario para llegar a niveles aceptablemente bajos. Se muestran aquí algunos resultados representativos, que dan cuenta del comportamiento de las poblaciones del vector bajo el control sostenido en el tiempo, utilizando Bti (Figuras 3 y 4).

Tabla 1. Parámetros biológicos de poblaciones naturales de *A. aegypti* utilizados en las simulaciones computacionales.

Parámetro	Símbolo	Valor (%) *
Tasa de inviabilidad natural de huevos	μ_H	0,90
Tasa de mortalidad de larvas	μ_L	0,08
Tasa de mortalidad de pupas	μ_P	0,18
Tasa de mortalidad de adultos	μ_A	0,10
Tasa de huevos que pasan a larva	λ_H	0,71
Tasa de larvas que pasan a pupa	λ_L	0,10
Tasa de pupas que pasan a adulto	λ_P	0,09
Tasa de huevos diario que oviposita una hembra	λ_A	8,0
Tasa de hembras-machos	θ	0,50

* Estos valores fueron estimados a partir de datos tomados de Li *et al.* (1985), Manrique *et al.* (1998) y Rebêlo *et al.* (1999).

Tabla 2. Perfil de susceptibilidad al Bti de poblaciones colombianas de *A. aegypti*, se muestra las medias (desviación estándar), para la pendiente de la recta, CL y FR. Adicionalmente, se presenta el perfil de susceptibilidad para la ciudad de Armenia, que se obtuvo a partir de los datos de mortalidad de todas las localidades analizadas.

Localidad	GF*	Pendiente	CL ppm		FR	
			50	95	50	95
Rockefeller	F _n	5,5 (0,2)	0,042 (0,001)	0,083 (0,007)	----	----
Armenia	F ₁	6,0 (0,5)	0,043 (0,004)	0,082 (0,008)	1,0	1,0
Ancianato del Carmen	F ₁	6,2 (0,5)	0,045 (0,002)	0,083 (0,007)	1,1	1,0
Barrio Berlín	F ₁	5,5 (0,6)	0,047 (0,004)	0,093 (0,014)	1,1	1,1
Ciudadela La Patria	F ₁	5,4 (0,3)	0,035 (0,001)	0,084 (0,004)	0,8	1,0
Terminal de Transportes	F ₁	5,6 (0,3)	0,041 (0,001)	0,083 (0,004)	1,0	1,0

*GF = Generación filial.

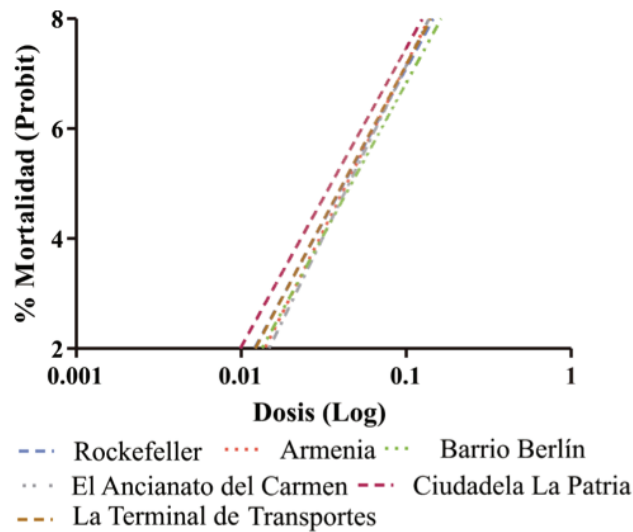


Figura 1. Líneas de mortalidad Log-Dosis para la generación F₁ de algunas poblaciones naturales de *A. aegypti* de Colombia, susceptibles al Bti. La cepa de referencia Rockefeller fue incluida como población control.

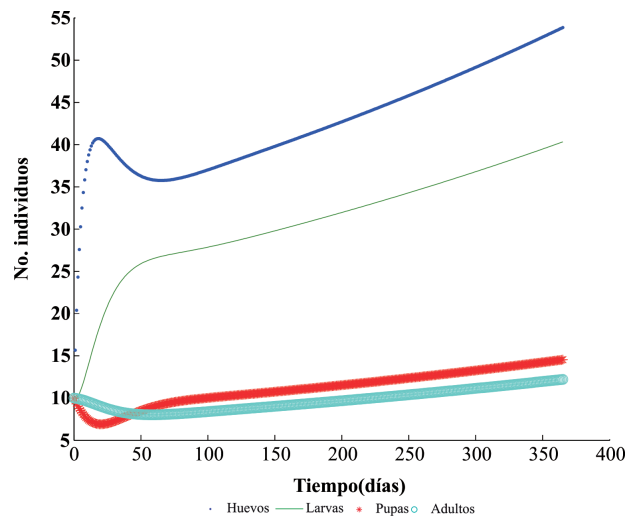


Figura 2. Comportamiento de poblaciones de *A. aegypti*, sin el uso del larvicida Bti.

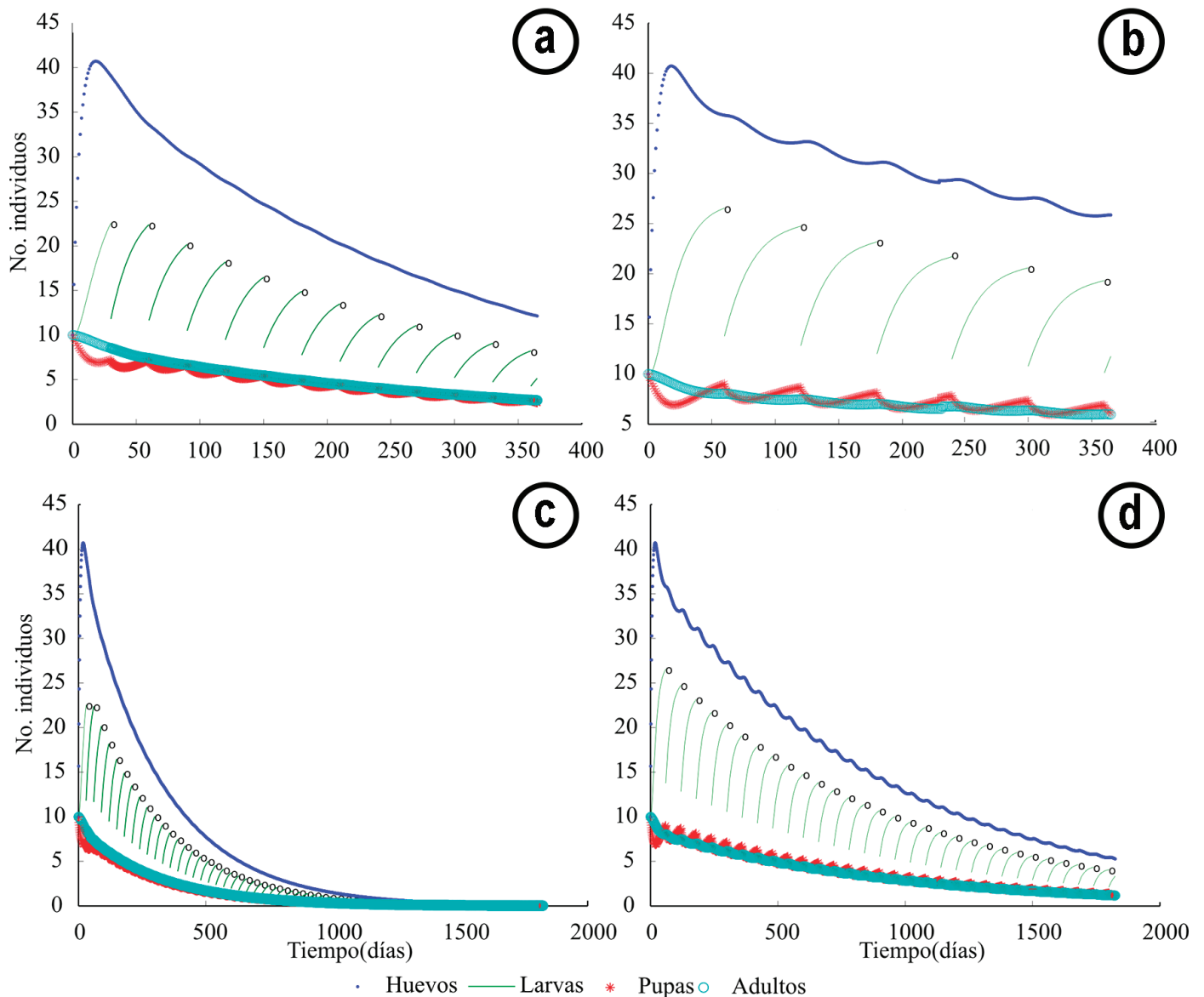


Figura 3. Comportamiento de poblaciones de *A. aegypti* frente a aplicaciones sucesivas de la dosis letal 50 del larvicida Bti: a. Cada 30 días, durante 1 año; b. Cada 60 días, durante 1 año; c. Cada 30 días, durante 5 años; d. Cada 60 días, durante 5 años.

La figura 3 muestra el comportamiento de las poblaciones de *A. aegypti* frente a aplicaciones periódicas sucesivas de la CL₅₀. Las figuras 3a y 3b corresponden a aplicaciones cada 30 y cada 60 días, respectivamente, durante 1 año. Las figuras 3c y 3d corresponden a aplicaciones realizadas cada 30 y cada 60 días, respectivamente, durante 5 años. Se observa que el control sostenido de las larvas consigue mantener niveles bajos de las poblaciones del vector; sin embargo, se evidencia mayor efectividad con intervalos de aplicación de 30 días.

En la figura 4, se observa la dinámica poblacional de *A. aegypti* frente a aplicaciones periódicas sucesivas de la CL₉₅. Las figuras

4a y 4b corresponden a aplicaciones realizadas cada 30 y cada 60 días, respectivamente, durante un año. Las figuras 4c y 4d corresponden a aplicaciones cada 30 y cada 60 días, respectivamente, durante 5 años. También, aquí se observa que la presión sobre las larvas consigue mantener niveles bajos del vector y se evidencia mayor efectividad con intervalos de aplicación de 30 días. Además, comparado con el comportamiento de la CL₅₀ mostrado en la figura 2, se evidencia la mayor efectividad de la CL₉₅; por ejemplo, mientras que la primera lleva a recuperar el nivel inicial de 10 huevos en 450 días, aproximadamente, la segunda lo recupera en 200 días, aproximadamente, es decir, menos de la mitad del tiempo.

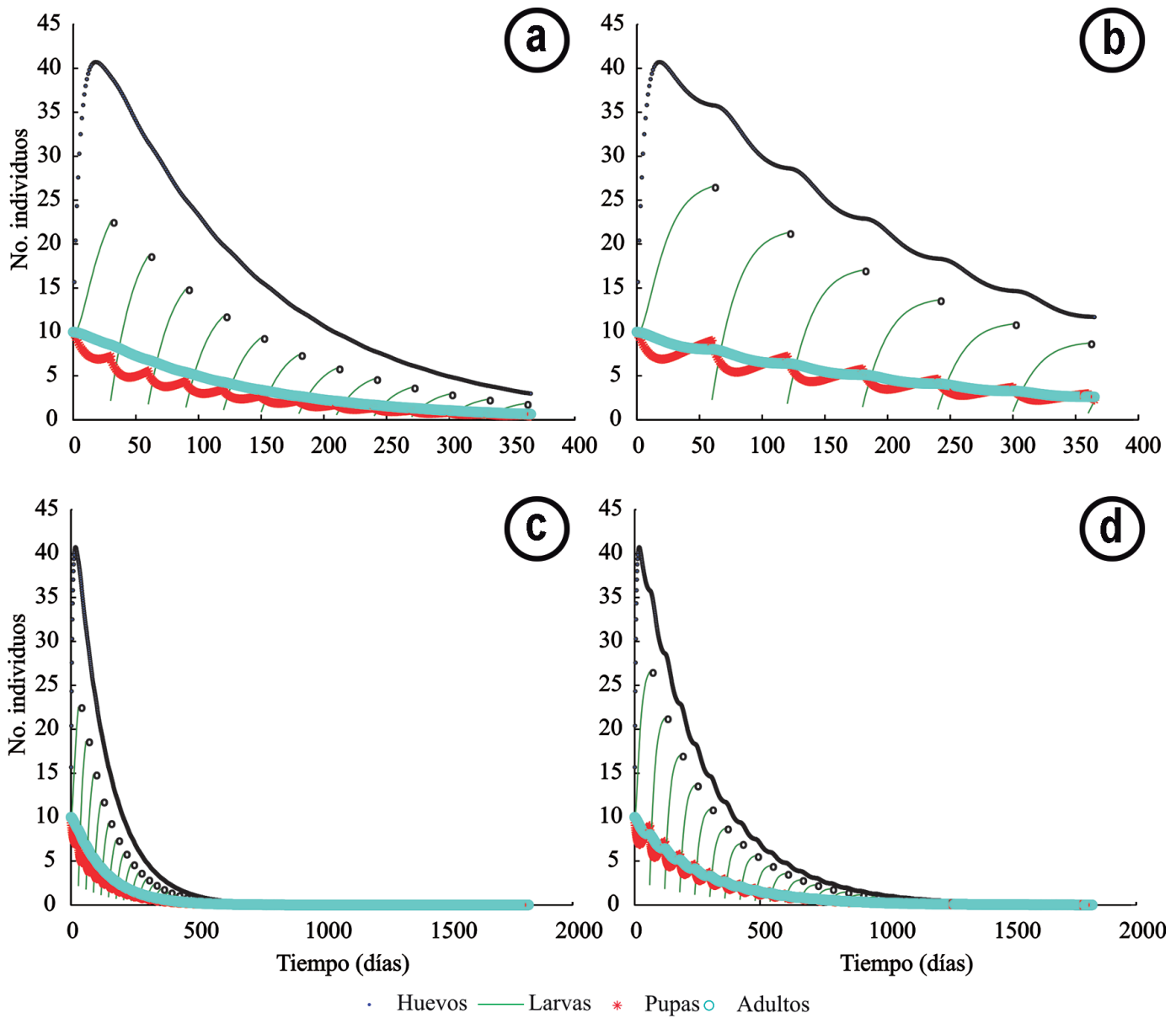


Figura 4. Comportamiento de poblaciones de *Aedes aegypti* frente a aplicaciones sucesivas de la dosis letal 95 del larvicida Bti: a. Cada 30 días, durante 1 año; b. Cada 60 días, durante 1 año; c. Cada 30 días, durante 5 años; d. Cada 60 días, durante 5 años.

Los resultados aquí consignados indican susceptibilidad de las poblaciones de *A. aegypti* frente al larvicida Bti. Estos resultados son similares a los encontrados en poblaciones del género *Aedes* de diferentes países que, después de varios años de ser controladas con Bti, no han desarrollado resistencia (Becker *et al.* 2018; Land *et al.* 2019). Una revisión sobre los métodos de control vectorial implementados en las poblaciones del género *Aedes* en Europa, por ejemplo, muestra al Bti como un producto vigente y eficaz para controlar estadios larvales (Baldacchino *et al.* 2015).

Según Elleuch *et al.* (2015), la presencia en el Bti de toxinas Cyt, retrasa o impide el desarrollo de resistencia a las toxinas Cry; no obstante,

estudios de presión de selección en *A. aegypti* utilizando la toxina Cry11Aa, una de las cuatro toxinas Cry que componen el Bti, han mostrado un aumento en la CL_{50} (F_1 , $CL_{50} = 0,0263ppm$), después de 54 generaciones (F_{54} , $CL_{50} = 0,3456ppm$) (Cadavid-Restrepo *et al.* 2012). Similares resultados fueron registrados por Jahan & Shahid (2012), al exponer larvas de *A. aegypti* a concentraciones entre 1,25 y 100ppm por 60 minutos de Bti WDG, presentación de Bti utilizada en Pakistán. En ambos casos, estos cambios no impactan negativamente el uso del Bti como larvicida.

Los valores obtenidos para la CL_{50} estuvieron entre 0,035 y 0,047ppm y para CL_{95} entre 0,083 y 0,093ppm. Estos concuerdan con otros

estudios; Boudjelida *et al.* (2007) encontraron valores de CL_{50} entre 0,002 a 0,3ppm. También, Araújo *et al.* (2007) y Aguilar-Meza *et al.* (2010), realizando bioensayos en laboratorio y posteriormente en campo con poblaciones de *A. aegypti* de Brasil, Francia y México, registraron CL_{50} entre 0,0015 y 0,26ppm. Respecto a la CL_{95} , las concentraciones evaluadas aquí, fueron menores a las recientemente encontradas por Gómez-Vargas *et al.* (2018), quienes determinaron la efectividad de tabletas de Bti serotipo H14, Bti-CECIF, producido en Colombia, hallando valores entre 0,40 a 0,93ppm.

Lo anterior corrobora la viabilidad del uso de Bti en los programas de control vectorial de Colombia, donde se utilizan tres larvicidas: el Bti, el triflumurón (inhibidor de la síntesis de quitina en insectos) y el OP temephos (MinSalud *et al.* 2011), donde la resistencia está ampliamente diseminada (Grisales *et al.* 2013), lo que enfatiza, aún más, el uso del Bti. No obstante, los problemas inherentes al uso del Bti en campo, como tasa de ingestión, edad y densidad de las larvas, temperatura, radiación solar, entre otras, deben ser evaluados (Zhao *et al.* 2019).

De otro lado, después de establecer experimentalmente las CL_{50} y CL_{95} , el modelo matemático que describe la dinámica del vector, permite evaluar estrategias de aplicación de Bti a corto, mediano y largo plazo. Se encontró que ambas dosis letales consiguen mantener las poblaciones del vector a bajos niveles, variando el tiempo necesario para conseguirlo; se disminuye, así, la posibilidad de transmitir los virus del dengue, el chicunguña o el Zika.

Los resultados aquí encontrados son importantes, ya que, una vez se presente un brote de las tres enfermedades, es prioritario conocer los alcances de las estrategias de control vectorial a ser utilizadas. Por tanto, se sugiere que esta estrategia se utilice en los reservorios de agua urbanos, como tanques de agua, llantas usadas, entre otros; sin embargo, es prudente explorar el impacto en conjunto con las estrategias vectoriales dirigidas a los estados adultos del vector del dengue, como el uso de PY y el OP Malation, ya que es en este estadio donde se reproduce y, consecuentemente, aumenta su población.

En conclusión, el presente estudio sugiere que la aplicación de Bti sostenida a través del tiempo constituye un componente adecuado para el manejo de poblaciones larvales de *A. aegypti*, en la ciudad de Armenia.

Agradecimientos: A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Quindío, por el financiamiento. OAAO también agradece al Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, proceso 140224/2013-0) de Brasil, por la beca de doctorado. **Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no tenemos ningún conflicto de intereses. **Financiación:** La Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Quindío financió el proyecto “Dinámica del control biológico de *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linneus, 1762 por *Bacillus thuringiensis* y *Bacillus sphaericus* en Armenia, Quindío, Colombia”.

REFERENCIAS

1. AGUILAR-MEZA, O.; RAMÍREZ-SUERO, M.; BERNAL, J.; RAMÍREZ-LEPE, M. 2010. Field evaluation against *Aedes aegypti* larvae of aluminum-carboxymethylcellulose-encapsulated spore-toxin complex formulation of *Bacillus thuringiensis* Serovar israelensis. J. Econ. Entomol. (USA). 103(3):570-576. <http://dx.doi.org/10.1603/EC09372>
2. AGUIRRE-OBANDO, O.; DALLA BONNA, A.; DUQUE LUNA, J.; NAVARRO-SILVA, M. 2015. Insecticide resistance and genetic variability in natural populations of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) from Colombia. Zoologia (Brasil). 32(1):14-22. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-46702015000100003>
3. APONTE, A.; PENILLA, R.; RODRÍGUEZ, A.; OCAMPO, C. 2019. Mechanisms of pyrethroid resistance in *Aedes (Stegomyia) aegypti* from Colombia. Act. Trop. 191:146-154. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.12.021>
4. ARAÚJO, A.; MELO-SANTOS, M.; OLIVEIRA, C.; MARANHÃO, E.; REGIS, L. 2007. Evaluation of an experimental product based on *Bacillus thuringiensis* serovar. israelensis against *Aedes aegypti* larvae (Diptera: Culicidae). Biol. Control. 41(3):339-347. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.03.002>
5. ARMENGOL, G.; HERNANDEZ, J.; VELEZ, J.; ORDUZ, S. 2006. Long-lasting effects of a *Bacillus thuringiensis* serovar israelensis experimental tablet formulation for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) control. J. Econ. Entomol. 99(5):1590-1595. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-99.5.1590>
6. BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A.; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. 2015. Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. Pest. Manag. Sci. 71(11):1-38. <https://doi.org/10.1002/ps.4044>
7. BAR-ZEEV, M. 1958. The effect of temperature on the growth rate and survival of the immature stages of *Aedes aegypti* (L.). Bull. Entomol. Res. 49(1):157-163.
8. BARDACH, A.; GARCÍA-PERDOMO, H.; ALCARAZ, A.; TAPIA, E.; GÁNDARA, R.; RUVINSKY, S.; CIAPPONI, A. 2019. Interventions for the control of *Aedes aegypti* in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. Trop. Med. Inter. Health. 24(5):530-552. <https://doi.org/10.1111/tmi.13217>
9. BECKER, N.; LUDWIG, M.; SU, T. 2018. Lack of resistance in *Aedes vexans* field populations after 36 years of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* applications in the Upper Rhine

- Valley, Germany. J. AM. Contr. Assoc. 34(2):154-157. <https://doi.org/10.2987/17-6694.1>
10. BOUDJELIDA, H.; AISSAOUI, L.; BOUAZIZ, A.; SMAGGHE, G.; SOLTANI, N. 2007. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. Comm. Appl. Biol. Sci. 73(3):603-609.
 11. BOYCE, R.; LENHART, A.; KROEGER, A.; VELAYUDHAN, R.; ROBERTS, B.; HORSTICK, O. 2013. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) for the control of dengue vectors: systematic literature review. Trop. Med. Int. Health. 18(5):564-577. <https://doi.org/10.1111/tmi.12087>
 12. BRAVO, A.; GÓMEZ, I.; PORTA, H.; GARCÍA-GÓMEZ, B.; RODRIGUEZ-ALMAZAN, C.; PARDO, L.; SOBERÓN, M. 2013. Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins insecticidal activity. Microb. Biotechnol. 6(1):17-26. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2012.00342.x>
 13. BURDEN, R.; FAIRES, J. 2005. Análisis numérico. Séptima edición, Thomson Learning: México. p.249-342.
 14. CADAVID-RESTREPO, G.; SAHAZA, J.; ORDUZ, S. 2012. Treatment of an *Aedes aegypti* colony with the Cry11Aa toxin for 54 generations results in the development of resistance. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 107(1):74-79. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000100010>
 15. CARVALHO, S.A.; DA SILVA, S.O.; DA CUNHA CHARRET, I. 2019. Mathematical modeling of dengue epidemic: control methods and vaccination strategies. Theor. Biosci. 138(2):223-239. <https://doi.org/10.1007/s12064-019-00273-7>
 16. DA SILVA, K.; CRESPO, M.; ARAÚJO, A.; SILVA, R.; MELO-SANTOS, M.; OLIVEIRA, C.; SILVA-FILHA, M. 2018. Long-term exposure of *Aedes aegypti* to *Bacillus thuringiensis* svar. *israelensis* did not involve altered susceptibility to this microbial larvicide or to other control agents. Parasites & Vectors. 11(1):673. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3246-1>
 17. DUQUE, L.; JONNY, E.; NAVARRO-SILVA, M. 2006. Dynamics of the control of *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae) by *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, related with temperature, density and concentration of insecticide. Rev. Bras. Entomol. 50(4):528-533. <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262006000400014>
 18. EDELSTEIN-KESHET, L. 1988. Mathematical models in biology. Random House: New York. p.72-110.
 19. ELLEUCH, J.; JAOUA, S.; DARRIET, F.; CHANDRE, F.; TOUNSI, S.; ZGHAL, R. 2015. Cry4Ba and Cyt1Aa proteins from *Bacillus thuringiensis israelensis*: Interactions and Toxicity mechanism against *Aedes aegypti*. Toxicon. 104:83-90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.07.337>
 20. FINNEY, D. 1971. Probit analysis. 3rd edition, Cambridge: University Press. 333p.
 21. FORATTINI, O.P. 2002. Culicidología Medica, vol. 2. Identificación, Biología, Epidemiología. Ed. Universidad de Sao Paulo Brasil, 860p.
 22. GÓMEZ-VARGAS, W.; VALENCIA-JIMÉNEZ, K.; CORREA-LONDOÑO, G.; JARAMILLO-YEPES, F. 2018. Novel larvicide tablets of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: Assessment of larvicidal effect on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Colombia. Biomedica. 38:95-105. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3940>
 23. GRISALES, N.; POUPARDIN, R.; GOMEZ, S.; FONSECA-GONZALEZ, I.; RANSON, H.; LENHART, A. 2013. Temephos resistance in *Aedes aegypti* in Colombia compromisos dengue vector control. PLoS. Negl. Trop. Dis.7(9):1-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002438>
 24. INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE - IRAC. 2019. IRAC Mode of Action Classification Scheme. Insecticide Resistance Action Committee (IRAC): USA. p.1-30.
 25. JAHAN, N.; SHAHID, A. 2012. Evaluation of resistance against *Bacillus thuringiensis israelensis* WDG in dengue vector from Lahore, Pakistan. Pak. J. Zool. 44(4):945-949.
 26. KROEGER, A.; DEHLINGER, U.; BURKHARDT, G.; ATEHORTUA, W.; ANAYA, H.; BECKER, N. 1995. Community based dengue control in Colombia: peoples knowledge and practice and the potential contribution of the biological larvicide Bti (*Bacillus thuringiensis israelensis*). Trop. Med. Parasitol. 46(4):241-246.
 27. LACEY, L. 2007. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. J. Am. Mosq. Control Assoc. 23:133-163. [http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[133:BTSIAB\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[133:BTSIAB]2.0.CO;2)
 28. LAND, M.; BUNDSCHUH, M.; HOPKINS, R.; POULIN, B.; MCKIE, B. 2019. What are the effects of control of mosquitoes and other nematoceran Diptera using the microbial agent *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) on aquatic and terrestrial ecosystems? A systematic review protocol. Environ. Evidence. 8(1):32. <https://doi.org/10.1186/s13750-019-0175-1>
 29. LI, C.; LIM, T.; HAN, L.; FANG, R. 1985. Rainfall, abundance of *Aedes aegypti* and dengue infection in Selangor, Malaysia. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 16(4):560-568.

30. MANRIQUE, P.; GONZÁLEZ, H.; PARRA, V.; IBÁÑEZ, S. 1998. Desarrollo, mortalidad y sobrevivencia de las etapas inmaduras de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en neumático. *Biomédica*. 9:84-91.
31. MATHWORKS. 2012. MATLAB and Statistics Toolbox Release. The MathWorks, Inc. Massachusetts: USA.
32. MCAULEY, M.; CHOI, H.; MOONEY, K.; PAUL, E.; MILLER, V. 2015. systems biology and synthetic biology: a new epoch for toxicology Research. *Advances in Toxicology*. 2015:1-14. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/575403>
33. MEREDITH, H.; FURUYA-KANAMORI, L.; YAKOB, L. 2019. Optimizing systemic insecticide use to improve malaria control. *bioRxiv*. 3:621391. <http://dx.doi.org/10.1101/621391>
34. MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL - MINSALUD; INSTITUTO NACIONAL DE SALUD - INS; ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - OPS. 2011. Guía de Vigilancia Entomológica y Control de Dengue. Disponible desde Internet en: http://new.paho.org/col/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=1215&Itemid=
35. MOMO, F.; CAPURRO, E. 2006. Ecología matemática: principios y aplicaciones. Ediciones Cooperativas. Argentina. p.11-16.
36. OCAMPO, C.; GONZÁLEZ, C.; MORALES, C.A.; PÉREZ, M.; WESSON, D.; APPERSON, C. 2009. Evaluation of community-based strategies for *Aedes aegypti* control inside houses. *Biomedica*. 29:282-297.
37. PAZ, O.; LEÓN, M.; GONZÁLEZ, J.; VARGAS, F.; REYES, S. 2019. Inclusión comunitaria y aplicación de *Bacillus thuringiensis* h-14, variedad *israelensis*, en ecosistemas urbanos de *Aedes aegypti*. un modelo de intervención contra el dengue en Florencia de Mora. *PUEBLO CONTINENTE*. 30(2):441-449. <http://doi.org/10.22497/PuebloCont.302.12>
38. RAYMOND, M. 1993. PROBIT software. CNRS UMII: France.
39. REBÊLO, J.; COSTA, J.; SILVA, F.; PEREIRA, Y.; SILVA, J. 1999. Distribution of *Aedes aegypti* and dengue in the State of Maranhão, Brazil. *Cad. Saude Publica*. 15(3):477-486.
40. SAÚDE, M.D. 2006. Reunião técnica para discutir status de resistência de *Aedes aegyptia* inseticidas. Brasília: Ministério da Saúde.
41. SMITH, L.; KASAI, S.; SCOTT, J. 2016. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pestic. Biochem. Physiol.* 133:1-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.03.005>
42. SOARES-DA-SILVA, J.; PINHEIRO, V.; LITAIF-ABREU, E.; POLANCZYK, R.; TADEI, W. P. 2015. Isolation of *Bacillus thuringiensis* from the state of Amazonas, in Brazil, and screening against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Rev. Bras. Entomol.* 59:01-06. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbe.2015.02.001>
43. SOUZA-NETO, J.; POWELL, J.; BONIZZONI, M. 2019. *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. *Infect. Genet. Evol.* 67:191-209. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.11.009>
44. VACHON, V.; LAPRADE, R.; SCHWARTZ, J. 2012. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: a critical review. *J. Invertebr. Pathol.* 111(1):1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.05.001>
45. WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. 1981. Instructions for determining susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides: WHO/VBC-81. p.1-6.
46. WORLDHEALTHORGANIZATION-WHO.2013.Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Disponible desde Internet en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77950/1/9789241564540_eng.pdf
47. ZHAO, G.-H.; LIU, J.-N.; HU, X.-H.; BATOOL, K.; JIN, L.; WU, C.-X.; YANG, Z.-H. 2019. Cloning, expression and activity of ATP-binding protein in *Bacillus thuringiensis* is toxicity modulation against *Aedes aegypti*. *Parasite. Vector.* 12(1):319. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3560-2>