

SALUD PÚBLICA

DESARROLLO DE NUEVAS
OPCIONES EN EL CONTROL
BIOLÓGICO DEL DENGUE

Juan Manuel Hernández*

SUMMARY

Dengue affects big countries and causes epidemics, because of that appears the necessity on Dengue transmitter's vector control, new biological control therapies play an important role on. All of those stay in experiment and present excellent results.

Key Words: Dengue, Biológico, control biológico, *Aedes aegypti*

INTRODUCCIÓN

El Dengue es la arbovirosis humana más importante, durante el año 2007 se han presentado brotes en Costa Rica, Paraguay, Brasil, México y Bolivia, para el

caso de Costa Rica se documenta un brote de dengue hemorrágico en la región Huetar Atlántica que ha cobrado 4 vidas.(2). Existen predadores como el *peixes Poecilia vivípara* que es un insecto acuático predador de larvas conocido como Notonectidae, o las odonatas cuyas larvas son altamente predadoras de larvas de mosquitos. (3). El Programa Nacional de Control del Dengue (PNCD) en Brazil ha empleado desde el año 2001 productos a base de *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)* para el control larval de *Aedes aegypti*, se presenta además un esfuerzo por lograr la producción nacional de una dosis capaz de abastecer las

necesidades de los municipios con la estabilización química necesaria para su uso. (1)

ESTUDIOS DE
INVESTIGACIÓN
CLÍNICA Y
DEMOSTRACIÓN
DEL CONTROL
BIOLÓGICO

Las investigaciones clínicas en control del Dengue se están desarrollando a nivel biológico tanto como médico pues asume un control natural e integrado con procesos de investigación científica. (8). Una dosis probada de 01 gota/L en cajas plásticas de 250 L, expuesta al sol o protegida

* Médico Cirujano General MSc Administración de Servicios de Salud Sostenibles. Centro Diagnóstico Nuestra Señora. Guápiles Pococí, Limón.

de la luz solar, han logrado demostrar que la mortalidad larval es de 80% al transcurrir la semana, se realizaron controles cruzados con un control negativo no tratado y un control positivo tratado con VectoBac®WDG, se realizó dos veces por semana una reposición de volumen para asemejar el consumo doméstico, en los recipientes abiertos la persistencia fue de 32 días y los tapados de 90 días, eliminando más del 80% de las larvas. (1). La base de Bti es con organofosforados; que su actividad residual es competitiva con el intervalo de aplicaciones con larvicida (60 días) llamado PNCD®. (1)

VECTOR TRANSMISOR

Aedes aegypti es el principal vector de dengue, su control basado casi exclusivamente en la utilización de insecticidas químicos, su impacto económico, social y ecológicos han determinado la necesidad de emplear nuevas alternativas como el uso de larvicidas como el que se aplica con una base de *Bacillus thuringiensis* svar. *Israelensis*. que debido a su toxicidad selectiva alta y bajo impacto ambiental ha llegado a establecer nuevas y creativas campos de investigación. (7). Se puede demostrar a través del estudio realizado en el Centro de Estudios Parasitológicos y de

Vectores-CEPAVE (UNLP-CONICET) Argentina, el efecto combinado del uso de tres larvicidas: Teme-phos 50% (BASF), una formación líquida de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti BIAGRO, Laboratorio BIAGRO, Argentina) y zoospore una suspensión aislada del mosquito patógeno Argentino *Leptolegnia chapmanii* Seymour (Oomycota: Peronosporomycetes). (8). En donde se reclutan 25 larvas *Ae. aegypti* en cuarto estadio, que fueron colocadas en contenedores plásticos con agua dechlorhidrada con concentraciones diferentes de los tres larvicidas, cada uno con tres contenedores, la mortalidad a las 48 horas de cada uno de los grupos se gráfica a continuación (8):

Composición	% Mortalidad asociada
1) 94,000 zoosporas de <i>L. chapmanii</i>	44.6%
2) Temephos 0.00035ppm	59.3%
3) Temephos 0.001ppm	97.3%
4) Bti0.012ppm	33.3%
5) Bti 0.027ppm	61.3%
6) Temephos 0.00035 ppm + 94,000 zoosporas	89.3%
7) Temephos 0.001ppm + 94,000 zoosporas	100%
8) Bti 0.012ppm + 94,000 zoosporas	80%
9) Bti 0.027ppm + 94,000 zoosporas	90.6%
10) Bti 0.012ppm + Temephos 0.00035ppm	100%
11) Bti 0.027ppm + Temephos 0.001ppm	100%
12) Bti 0.012ppm + Temephos 0.00035ppm + 94,000 zoosporas	100%
13) Bti 0.027ppm + Temephos 0.001ppm + 94,000 zoosporas	100%

Con lo que se logra documentar que el uso de *L. chapmanii* es

compatible con los larvicidas más utilizados en los programas

de control del mosquito, se logra documentar que el uso de Bti y

Temephos combinados con zoosporas de *L. chapmanii* aumentan la tasa de mortalidad de las larvas (8). El *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) es una bacteria Gram-positiva, entomopatógena, que se caracteriza por la presencia de inclusiones cristalinas denominadas de d-endotoxinas o proteínas Cry, las que pueden ser altamente tóxicas para insectos

susceptivos, no presentando otra actividad a otros organismos. (5) *Bacillus thuringiensis* *svar. israelensis* constituye una opción de biocontrol no dañino al medio ambiente de este vector, se realizó un trabajo de evaluación para establecer los aislamientos de *B. thuringiensis* pertenecientes a la colección del IMYZA-INTA, productores de cristales ovoides

tóxicos para larvas de *A. aegypti*, y compararlos con la cepa de referencia de *B. thuringiensis* *svar. israelensis* IPS-82. (6). Mediante bioensayos cuantitativos con un complejo espora-cristal empleando larvas de *A. aegypti*, en donde los INTA H41-1, 144-1, H39-19 y 146-1 y la cepa de referencia IPS-82 presentaron los siguientes resultados (6):

Cepa INTA	Valores de CL50 en ng/ml
H41-1	5,75 (5,17-6,39)
144-1	7,05 (6,10-8,61)
H39-19	8,96 (7,78-10,38)
146-1	14,02 (12,41-16,42)
IPS-82	8,85 (7,95-9,97)



El aislamiento INTA H41-1 fue el único en presentar un perfil similar pero no idéntico a la cepa de referencia, sugiriendo la

posibilidad de representar una genovariante del *svar. israelensis*. Estos estudios de caracterización permitieron la selección del

aislamiento INTA H41-1 que resultó significativamente más tóxicos para *A. aegypti* que la cepa de referencia y que abre un cami-

no al desarrollo de productos nuevos que los contenga como ingrediente activo. (6). Se logra clonar un fragmento de DNA 1.950 obteniendo el gen cry11A no genoma del *bacilovirus Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV), empleado para la toxicidad de las larva de *Aedes aegypti*. (5). Este gene cry11A se aisló de la estirpe *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* (Bti) S18061, el cuál fue clonado pGem®-T Easy, expresado como pFastBac™1. O virus recombinante utilizado para infectar células de *Trichoplusia* (BTI-Tn5B1-4) y larvas de *Spodoptera frugiperda*. En un ensayo biológico preliminar, la proteína fue tóxica para larvas de *A. aegypti* CL50 65 ng/ml. (5). Con el objeto de demostrar la actividad larvicida de *Eugenia caryophyllata* (cravo-da-índia) contra larvas de *Aedes aegypti*, buscando el deseo de control del dengue se logro demostrar caso control del vector que con la aplicación de extracto acuoso (60g de cravo-da-índia en 300mL de agua destilada) se logra reducir la propagación de las larvas al eliminarlas por 7 días y presentar recolonización al 11 día. (5)

EXPERIMENTOS Y ENSAYOS CLÍNICOS

En Argentina, se llevó a cabo un experimento para evaluar

la efectividad y persistencia de dos formulaciones nuevas, una suspensión líquida (SL) y un polvo mojable (PM), conteniendo *B. thuringiensis svar. israelensis* como ingrediente activo. (7). En donde se logra demostrar a través de campos simuladas en bandejas plásticas con 15 litros de agua, con y sin exposición directa de la luz solar; que existe una solución integral al problema y una adecuada erradicación del vector. (7). Los experimentos fueron realizados por triplicado utilizando controles negativo (sólo agua) y positivo (suspensión líquida comercial Introbán®). Las dosis se establecieron en función de las CL90 de los productos determinadas previamente en laboratorio. La efectividad inmediata fue medida sobre larvas de cuarto estadio y la residualidad, en larvas de 1 día de *A. aegypti*, semanalmente incorporadas en los contenedores. (7). Se registró que en condiciones de sombra, todos los bioinsecticidas mantuvieron una mortalidad superior al 97% al cabo de 44 días de ensayo. En condiciones de exposición solar, a los 30 días de ensayo, la SL mantenía una mortalidad del 96%, similar a la del producto de referencia (92%). (7). Sin embargo el PM mostró en ese momento un poder de control inferior, aproximado al 64%. A los 40 días de ensayo, SL mostró aún una mortalidad del

88% y el producto de referencia, del 70%, indicando una adecuada persistencia de la formulación experimental INTA SL. Se pone de manifiesto el enorme efecto negativo de la luz solar, sobre el comportamiento de estos bio-larvicidas. (7). *Metarhizium anisopliae* es un hongo que actúa contra las larvas acuáticas, pero se requiere comprender mejor el mecanismo de acción de este tipo de hongo en las larvas del mosquito (9), el cuál se explica por la actividad ovicida (10) según estudios realizados se documenta que se debe exponer al menos 5-10 días a una humedad óptima para que se induzca el efecto ovicida. (10). Las cepas del estudio realizado, en un total de 6 (IP 23, IP 46, IP 75, IP 84, IP 117 e IP 139) todas originarias de **soil samples**, recolectadas de Brazil y probadas con el *Aedes aegypti*, no se menciona pero se colocaron además suspensión del conidio, extracto crudo aplicado a 107 propagules/mlor 105 ppm respectivamente en donde al segundo estadio larval (L2) presentó una mortalidad de 100% a los 2-3 días de la aplicación del extracto y fue más del 90% de efectivo a los 3 días del tratamiento con los cuerpos de hifas, documentando con ello el potencial que presenta el control biológico del *Metarhizium*.(8)

CEPAS EN ESTUDIOS CLÍNICOS Y EXPERIMENTACIÓN

Otros elementos que se encuentran a prueba son metabolitos de hongos endofíticos como *Penicillium*, *Xylaria*, *Trichoderma* e *Pestalotiopsis* (10), dentro de los cuales *Pestalotiopsis* y *Trichoderma* presentan mejores resultados.(4)

CONCLUSIONES

1. El Dengue es un problema de salud pública, que afecta la economía de los países en vías de desarrollo y con las nuevas opciones de control biológico se puede reducir este efecto.
2. El control biológico del Dengue es una realidad al alcance en los países en vías de desarrollo.
3. Las fases de investigación están avanzadas y presentan resultados muy prometedores, es por ello que la necesidad de desarrollo investigativo en cuanto a erradicación de vectores y control de plagas debe ser asumido de una manera prioritaria por los Gobiernos locales de países en vías de desarrollo.

RESUMEN

El Dengue afecta grandes poblaciones causando epidemias,

por ello surge la necesidad de controlar el vector transmisor del dengue, las nuevas terapias de control biológico juegan un papel muy importante, estas se encuentran en experimentación y presentan excelentes resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Araújo A, Melo-Santos M, y Régis L. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO BIOLARVICIDA BT-horus® SC CONTRA *Aedes aegypti*, SOB CONDIÇÕES SIMULADAS DE CAMPO. Documento de PDF. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 360
2. Avila M, Dengue. Editorial de la Ministra de Salud. AMC, vol 50(3), julio-setiembre 2008. Pag 128
3. Brandolini M, Villard M, Silva L. y Paes F. FORMAÇÃO DE BRIGADAS ANTI-DENGUE PARA O COMBATE AO *Aedes aegypti* NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 518. Documento de PDF
4. Bucker A, Falcão N, Souza A, Rodrigues-Filho E, Pereira J, Silva A, Tadei W. SCREENING DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS CONTRA LARVAS DE *Aedes aegypti*. Documento de PDF. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 454
5. Lima G, Aguiar R, Monnerat R y Ribeiro B. EXPRESSÃO E ANÁLISE DA TOXICIDADE DA PROTEÍNA RECOMBINANTE CRY11A DE *Bacillus thuringiensis* PARA LARVAS DE *Aedes aegypti*. Documento PDF. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 085
6. Monella R, Basile J, Sauka D y Benintende G. CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Bacillus thuringiensis* NATIVOS DE ARGENTINA TÓXICOS PARA LARVAS DE *Aedes aegypti* Documento PDF. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 051
7. Monella R, Sauka D y Benintende. EVALUACIÓN DE NUEVAS FORMULACIONES BIOLÓGICAS PARA EL CONTROL DE *Aedes aegypti*. Documento de PDF. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 050
8. Pelizza S, López C, Laino A, Santos, Panisse G y García J. COMBINED EFFECT OF *Leptogorgia chapmanii* (OOMYCOTA: PERONOSPOROMYCETES), *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, AND TEMEPHOS ON THE MORTALITY OF *Aedes aegypti*. LARVAE. Documento de PDF: X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 133
9. Santos A, Tai M, Silva H. LARVICIDAL ACTIVITY OF *Metarhizium* sp IN *Aedes aegypti*. Documento PDF. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 385
10. Tai A, Santos L, Rocha C y Elías C. OVICIDAL ACTIVITY OF *Metarhizium anisopliae* AGAINST *Aedes aegypti*. Documento de PDF. X Simpósio de Controle Biológico - 30 de junho a 04 de julho de 2007, Brasília - DF ID - 242.
11. Richard Russell. Larvas -Arbovirus. Disponible en: http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/areas/arbovirus/mosquit/photos/pupa_larvae.jpg. accesado el 11 de Mayo del 2009.:11. Arbovirus.. disponible en: http://www.arbovirus.health.nsw.gov.au/areas/arbovirus/mosquit/photos/pupa_larvae.jpg. accesado el 11 de Mayo del 2009.