



Artículo Original

Efecto residual de *Bacillus thuringiensis var israelensis* en el control de *Aedes aegypti* en Honduras

Residual effect of Bacillus thuringiensis var israelensis in the control of Aedes aegypti in Honduras

Francia Ponce Guevara,^a Brian M. Erazo,^b Juan C. Amador,^{b,1} Néstor J. Yanes,^b Xenia I. Paz,^b Brayan J. Bennett,^b Jairo García,^c Michelle Padilla,^d Ammi Bustillo Ponce,^b Bayron López^b

^aDepartamento de Salud Pública, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), Tegucigalpa, Honduras

^bFacultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), Tegucigalpa, Honduras

^cFacultad de Química y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), Tegucigalpa, Honduras

^dFacultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), Tegucigalpa, Honduras

Historia del artículo:

Recibido: 6 noviembre 2020

Revisado: 8 noviembre 2020

Aceptado: 19 diciembre 2020

Publicado: 22 diciembre 2020

Palabras clave

Aedes

Bacillus thuringiensis

Control de vectores

Dengue

Keywords

Aedes

Bacillus thuringiensis

Vector control

Dengue

RESUMEN. Introducción: El *Aedes aegypti* es el principal vector de transmisión del dengue, el chikungunya y el Zika. Honduras presenta una gran carga de morbilidad secundaria a estas arbovirosis. La bacteria de suelo *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti) se ha utilizado como una herramienta de control de la larva de *Ae. Aegypti*. Se necesitan estudios para describir y vigilar aquellas variables que afectan su eficacia. El objetivo del estudio fue determinar el impacto de la renovación del agua en el efecto residual de Bti en el control de *Aedes aegypti* en Tegucigalpa, Honduras. **Métodos:** Se realizó un estudio experimental. Las unidades de análisis fueron larvas de los estadios III y IV de *Aedes aegypti*, recolectadas en Tegucigalpa durante febrero a abril del 2015. Se analizaron dos dosis distintas de Bti (2.5 mg/L y 5 mg/L) en recipientes sin recambio de agua, con recambio cada 2 días y cada 7 días. Se realizaron 4 réplicas con Bti y 4 controles por cada dosis analizada en los bioensayos durante un periodo de 64 días. **Resultados:** A mayor recambio de agua menor fue el efecto residual de Bti. La mortalidad se mantuvo por encima del 90% por 13 días, tanto para las distintas dosis como para la frecuencia de recambio. **Conclusión:** Los datos del estudio muestran que el recambio de agua como el que pudiera ocurrir en ciertos escenarios domésticos, tiene una influencia negativa en el efecto residual de Bti. Es importante tener en cuenta estos hallazgos cuando se use el Bti como estrategia de control del vector.

ABSTRACT. Introduction: *Aedes aegypti* is the main vector responsible for the transmission of dengue fever, chikungunya fever and Zika. Honduras has a high morbidity burden secondary to these arboviruses. The bacteria from soil *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti) has been used to control *Ae. Aegypti*. Studies are needed to describe and monitor those variables that influence its effectiveness. The study aim was to determine the impact of water renewal on the residual effect of Bti on the control of *Aedes aegypti* in Tegucigalpa, Honduras in 2015. **Methods:** An experimental study was conducted. The units of analysis were larvae of stages III and IV of *Aedes aegypti*, collected in Tegucigalpa from February to April of 2015. Two different doses of Bti (2.5 mg / L and 5 mg / L) were analyzed in containers with three types of water change (no change, every 2 days and every 7 days). Four replicates were made with Bti and 4 controls for each dose analyzed in the bioassays during a period of 64 days. **Results:** The higher the water renewal, the lower the Bti residual effect. Mortality remained above 90% for 13 days for all different doses and frequency of replacement. **Conclusion:** Our data reinforce that water exchange, such as occurs in domestic scenarios, has a negative influence on the residual effect of Bti. It is important to keep in mind this evidence when using Bti as a vector control strategy.

1. Introducción

Las enfermedades de transmisión vectorial están

ampliamente distribuidas y presentan un gran reto para los países tropicales y su desarrollo (Hotez et al., 2014). A nivel de morbilidad y mortalidad, el dengue es la enfermedad más importante transmitida por mosquitos en Honduras. Los

¹ Autor correspondiente: juancamador@unah.edu, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Honduras

Disponible en <https://doi.org/10.5377/innovare.v9i3.10647>

© 2020 Autores y UNITEC. Este es un artículo de acceso abierto según licencia <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>

indicadores de esta enfermedad según su desarrollo en las últimas tres décadas, muestran un patrón epidemiológico de circulación endémica combinado con brotes epidémicos que se presentan de manera cíclica (Ávila-Montes, 2010; Brathwaite, 2012). Aunado a este patrón de incidencia del dengue en constante aumento, la Secretaría de Salud de este país confirmó la entrada a Honduras del virus chikungunya y del virus Zika en 2014 y 2015 respectivamente. Esto plantea nuevos desafíos para el sistema de salud según se invaden más zonas e infectan poblaciones nuevas y se producen grandes brotes (Staples & Fischer, 2014).

La lucha en contra de los vectores ha sido reconocida como la mejor estrategia hasta el momento para el control y eliminación de la incidencia de casos (World Health Organization [WHO], 2009). El *Aedes aegypti* es el principal vector de estas enfermedades y representa un problema de salud pública significativo por su alta eficacia en la transmisión (Mukhtar et al., 2016). Se han definido varios métodos para su control, entre los que se encuentran el manejo ambiental, el control químico y biológico (WHO, 2004). En Honduras, como en muchos países de la región, el control químico con Temefos era uno de los pilares de la estrategia de control, pero su uso se ha reducido y reemplazado por otras alternativas debido a hallazgos de resistencia tanto a nivel local como internacional (Grisales, 2013; Martínez, 2013; Melo-Santos, 2010; Shetty, 2015).

A consecuencia de esto, nuevas estrategias de control del vector a nivel local han sido definidas, entre estas alternativas se encuentra el *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti), una bacteria gram positiva formadora de esporas que ha demostrado alta eficacia en contra de larvas de mosquitos, incluyendo *Ae. aegypti* (Boyce et al., 2013). Este biolarvicida fue introducido en su presentación granulada (VectoBac WG) a partir de 2012 (Reliefweb, 2013) por la Secretaría de Salud de Honduras en las zonas donde se detectaron incrementos en la resistencia a insecticidas químicos, expandiéndose su uso desde entonces. Se han descrito diversos factores que afectan la eficacia de Bti sobre la larva de *Ae. aegypti*, entre ellos la relación entre el recambio de agua y la acción residual, que depende de la formulación y las condiciones de aplicación (Corbillón, 2012; Ochoa, 2009). Conocer el comportamiento de estas variables, que pueden condicionar la eficacia de Bti, es muy importante para poder adaptar su uso dentro de cada contexto y así poder fortalecer las estrategias de control vectorial. El objetivo del estudio fue determinar el impacto de la renovación del agua en el efecto residual de *Bacillus thuringiensis var israelensis* en Tegucigalpa, Honduras en el período febrero-abril del 2015.

2. Métodos

2.1. Área de estudio

La cepa de *Ae. aegypti* fue obtenida en las colonias Nueva Suyapa, Juan A. Laínez y Villanueva del municipio del

Distrito Central, departamento de Francisco Morazán, Honduras durante el periodo de 16 de febrero a 13 abril del 2015. Dichos sitios fueron seleccionados debido a altos índices de infestación larvaria y de incidencia de dengue que han sido reportados históricamente por la Unidad Epidemiológica de la Región Metropolitana del Distrito Central (Secretaría de Salud Honduras, 2014).

2.2. Procedimientos

2.2.1. Recolección de datos

Las muestras de las larvas fueron obtenidas de recipientes de almacenamiento (pilas, baldes, barriles y tanques) con aguas en reposo ubicados bajo sombra y sin presencia de larvicidas, en las viviendas de los barrios mencionados. Estas fueron transferidas a contenedores de 2 litros utilizando agua del mismo criadero para su transporte inmediato al sitio de los bioensayos. Se recolectaron larvas cada 4 días, durante 64 días. Se utilizó un muestreo no probabilístico por cuota durante el proceso de selección.

2.2.2. Bioensayos

Los bioensayos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), un local cerrado, libre de insecticidas y con iluminación automatizada. La temperatura ambiental y la humedad del laboratorio fueron monitoreadas y registradas periódicamente. Se utilizaron fotoperiodos de luz: oscuridad de 12:12 horas.

Se siguieron los protocolos descritos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para ensayos de campo simulados a pequeña escala (WHO, 2005). Las larvas de *Ae. aegypti* de tercer y cuarto estadio fueron preseleccionadas y transferidas a contenedores de polipropileno de 25 x 25 cm x 7 cm de hondo. Se utilizó agua comercial purificada, con certificado NSF internacional, libre de cloro en estos recipientes. Se mantuvieron las larvas durante dos a tres horas en estos recipientes para su climatización antes del tratamiento.

Los bioensayos fueron realizados utilizando *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti) – cepa AM 65-52, gránulos de dispersión en agua (VectoBac WG®) de 3.000 ITU / mg, utilizando dos concentraciones: [0.0025 g/L] y [0.005 g/L]. Estas concentraciones fueron seleccionadas por estar dentro de los rangos indicados por la OMS (WHO, 2012) y por ser las utilizadas por la Secretaría de Salud de Honduras.

Hasta el momento es la única presentación de Bti utilizada en los programas de control vectorial del país. Todos los biolarvicidas fueron proporcionados por el Programa de Control del Dengue de la Secretaría de Salud de Honduras y estaban dentro de su periodo de validez.

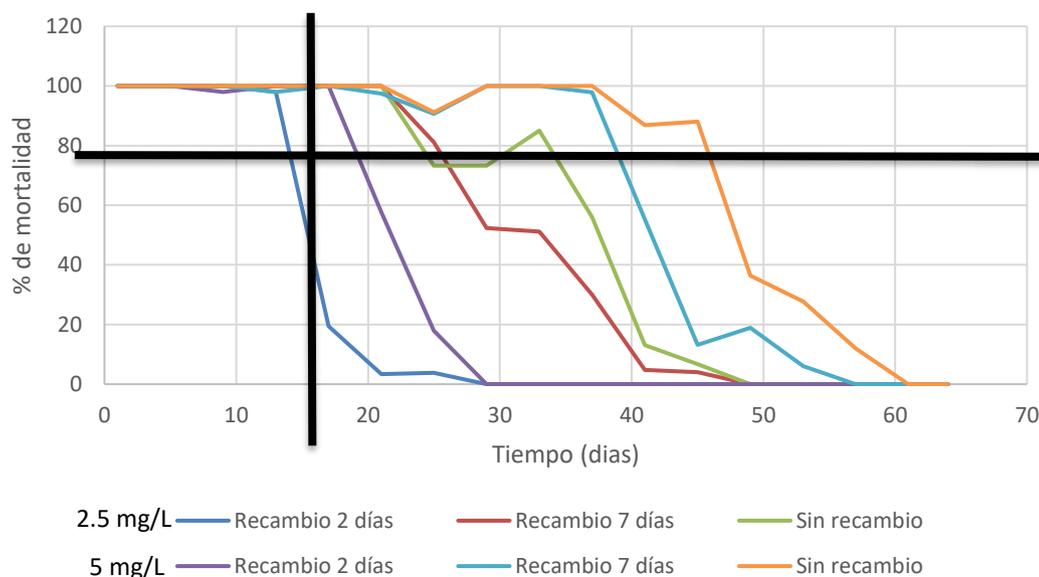


Figura 1. Evolución de mortalidad (%) de larvas de *Ae. Aegypti* expuestas a Bti WG a dosis de 2.5 mg/L según recambio de agua.

Las concentraciones de Bti utilizadas fueron pesadas en una balanza analítica con una especificidad de 0,00001 g, en el laboratorio de pesaje de la Facultad de Química y Farmacia de la UNAH. Las concentraciones fueron adaptadas en 100 ml de solución acuosa. Los bioensayos se prepararon pipeteando 1 ml de la solución de Bti sobre la superficie del agua de beakers seriados que contenían 1,000 ml de agua de clorada, mediante la utilización de una micropipeta (100-1000 μ l), luego la solución se agitó vigorosamente por 30 segundos con una varilla de vidrio. Los controles fueron preparados por la adición de 1 ml de agua libre de cloro a cada recipiente.

Las larvas previamente seleccionadas fueron transferidas en grupos de 25 a los beakers con 1,000 ml de agua. La mortalidad se registraba 24 horas después de que las larvas eran colocadas en los recipientes. Inicialmente, las larvas muertas se visualizaron directamente, se quitaron y contaron; posteriormente, se contaron todas las larvas vivas. Las larvas se consideraron muertas cuando no reaccionaron al momento de ser estimuladas con un puntero romo en la región cervical. Durante la realización del bioensayo también se registró el número de larvas que empuparon. Cada cuatro días se colocaban 25 larvas nuevas en cada recipiente, esto se realizó por 64 días consecutivos (tiempo en el cual se confirmó que la mortalidad llegó a 0 % en todos los bioensayos). La recolección de datos en cada bioensayo fue realizada a ciegas. No se ofreció alimentación adicional a las larvas durante este periodo.

El recambio de agua se realizó cada dos días en 8 (25%) de los bioensayos y cada siete días en 8 (25%) de bioensayo, así mismo se realizaron bioensayos 8 (25%) que no sufrían recambio de agua para fines comparativos. El agua se extrajo de los beakers utilizando una bomba de succión

eléctrica, extrayendo el 80% del agua, que posteriormente era restituida. Así también se repusieron las pérdidas de agua por evaporación que eran cuantificado a través de medición del volumen de agua haciendo uso de probetas. Se monitoreó periódicamente la temperatura y el pH en cada uno de los recipientes y bioensayos mediante un termómetro de inmersión (-10 a 100 C°) y tiras de pH. Se realizaron 4 réplicas y 4 controles por cada una de las 2 concentraciones estudiadas.

2.2.3. Análisis estadístico

Para la corrección del porcentaje de mortalidad en relación a los controles se utilizó la fórmula Abbott (Abbott, 1925) a fin de asegurar que los valores de mortalidad obtenidos se deban exclusivamente al efecto letal del Bti. Se calculó la incidencia de mortalidad cada cuatro días (esto debido que era el periodo de tiempo en el que se introducían nuevas larvas a los bioensayos) a través del cociente del total de larvas muertas entre el total de larvas expuestas. Las incidencias de mortalidad correspondientes a las dosis de 2.5 mg y de 5 mg y frecuencia de recambio cada 2 y 7 días, fueron utilizadas para construir las curvas de mortalidad a través del tiempo y estimar la razón de mortalidad (RM). Se calculó la RM como un indicador de la mortalidad larvaria relativa, es decir, el riesgo relativo (RR) para analizar con mayor precisión el desempeño del Bti según la frecuencia de renovación del agua y la dosis. Este indicador ha sido utilizado previamente en estudios de evaluación de larvicidas (Pontes 2005; Pontes, 2010).

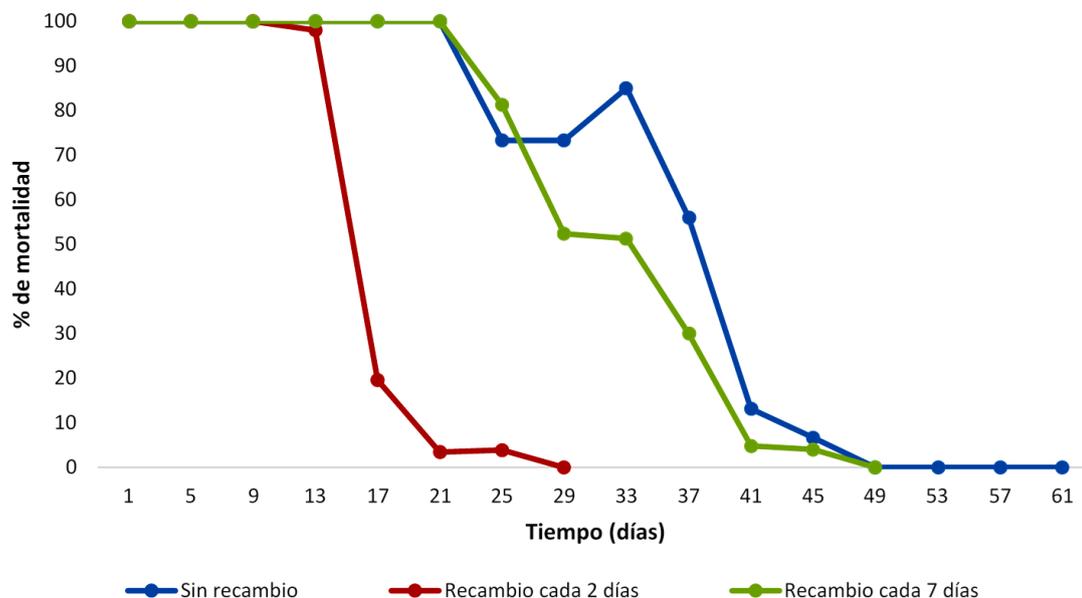


Figura 2. Evolución de mortalidad (%) de larvas de *Ae. aegypti* expuestas a Bti WG a dosis de 5 mg/L según recambio de agua.

Las curvas teóricas de mortalidad de cada dosis y frecuencia de recambio fueron obtenidas a partir de un modelo de regresión lineal simple. El registro de la mortalidad se detuvo cuando el porcentaje de mortalidad larvaria en todas las concentraciones y tipos de recambio llegó a 0.00 %. El almacenamiento y análisis de datos fue realizado utilizando el programa MS Excel 2013.

2.2.4. Consideraciones éticas

Se brindó toda la información necesaria a la población sobre el estudio, educación acerca del vector y se obtuvo autorización mediante un consentimiento informado escrito en cada una de las propiedades donde se realizó colecta de larvas. Así también, se eliminó todo el material biológico larvario de manera que no resultara un riesgo para el ecosistema. Fue presentado al Comité de Ética en Investigación Biomédica de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAH (CEIB), donde fue revisado y se decidió que por el tipo de especie biológica con que se estaba trabajando no necesitaba aprobación por dicho comité.

3. Resultados

Las condiciones ambientales fueron adecuadas para el desarrollo del estudio. La temperatura ambiente se mantuvo en un rango de 22-28 °C con un promedio de 25.02 °C y una desviación estándar de 1.36. En los recipientes de los bioensayos la temperatura se situó en un rango de 22-26 °C y el pH promedio fue de 7. La mortalidad promedio registrada en los controles fue de 1.14 %, con un rango de 0.00 % - 5.56 %, IC 95% (0.96-1.374) por lo que no fue necesaria ninguna corrección a partir de esta condición.

En las Figuras 1 y 2, se muestra la evolución de la incidencia de mortalidad larvaria a través del tiempo en los que se llevó a cabo el experimento. En la Figura 3 se esquematizan las curvas teóricas de probabilidad de mortalidad.

Entre menor la frecuencia de recambio de agua y mayor la dosis de Bti, mayor fue el porcentaje de mortalidad larvaria. Para la dosis de 5 mg/L la mortalidad se mantuvo por encima del 80% durante 17 días cuando el recambio de agua era cada dos días, mientras que persistió hasta los 37 y 45 días cuando el recambio de agua era cada siete días o sin recambio respectivamente. Para la dosis de 2.5 mg/L la mortalidad se mantuvo por encima de 80% únicamente por 13 días, mientras que se mantuvo por 25 días cuando la frecuencia de recambio fue cada 7 días y por 21 días cuando no se sometió a recambio de agua.

La razón de mortalidad (RM) durante los primeros 13 días fue de 1 para todas las frecuencias de recambio (cada 2, 5 días y sin recambio) y dosis utilizadas (2.5 mg y 5 mg). Para la dosis de 2.5 mg/L cuando el recambio de agua era cada dos días versus a sin ningún recambio, la RM varió de 1.02 (día 13) a 28.99 (día 21). Cuando el recambio fue cada 7 días en comparación a sin recambio, la RM varió desde 1.39 (al día 29) y 2.72 (día 41). Ver Cuadro 1. Para la dosis de 5 mg/L cuando el recambio de agua era cada dos días vs. sin recambio la RM varió desde 1.02 (día 9) hasta 5.10 (día 25). La variación de la RM cuando el recambio fue cada 7 días vs. sin recambio, fue desde 1.02 hasta 6.69.

4. Discusión

Un estudio en el 2014 realizado en Tegucigalpa encontró valores de mortalidad larvaria de 98.734 % para la dosis de

0.5 mg/L; 99.375 % para 1 mg/L; 100 % para 2,5 mg/L y 100 % para 5 mg/l (Ponce, et al.,2014), pero no hay investigaciones anteriores publicadas sobre el efecto residual de *Bacillus thuringiensis var israelensis* en Honduras, por lo que podemos afirmar que aunque se conoce la efectividad del Bti en la mortalidad larvaria se desconoce su efecto residual.

Durante un periodo entre 2007 y 2008 se estudió sobre la residualidad del insecticida Temefos (Abate®) en campo contra *Ae. Aegypti* a una concentración del 1%, obteniendo resultados de mortalidad larvaria de 100% por más de cien días, siendo este el único estudio sobre el tema de acción residual de larvicidas en el país (Mesa-Despaigne et al., 2013). Se tiene evidencia de que algunas formulaciones de *Bti* presentan un efecto residual menor que los larvicidas químicos como por ejemplo Temefos. Soares et al. (2005) evaluaron la persistencia de dos presentaciones comerciales de Temefos (Larvell® y Larvyn®) frente a la presentación comercial de *Bti* Vectobac WDG®. La persistencia se estimó determinando los porcentajes diarios de mortalidad para *Ae. aegypti*. Con el larvicida Temefos se obtuvieron valores de mortalidad de más del 90% hasta 50 días después de la aplicación del producto en condiciones de laboratorio;

sin embargo, con *Bti* esta tasa de mortalidad se registró por apenas 35 días (Ochoa, G.& Arrivillaga, J. 2009), siendo muy similar a la de nuestro estudio que mantuvo la mortalidad de más del 90% hasta el día 37 en la dosis de 5mg con recambio cada 7 días y sin recambio.

En India, se realizó un estudio de campo utilizando Vectobac G y presentación en tabletas, obteniendo mortalidades de 100% durante 14 y 21 días respectivamente (Batra et al., 2000). Y en este mismo país utilizando una presentación mejorada de *Bti*, con mortalidades larvarias por encima de 80% por 17 días (Gunasekaran et al., 2004). Resultados que son similares a nuestro estudio ya que se obtuvo mortalidad mayor al 80% hasta el día 13 independientemente de la dosis utilizada y de la frecuencia de recambio.

Se ha planteado el uso de megadosis de *Bti* para mejorar su efecto residual. En el 2010 en Australia, se pusieron a prueba concentraciones de VectoBac WG de 80, 160 y 400 mg/L (16 a 80 veces mayores que las evaluadas en el presente estudio), que mantuvieron la mortalidad larvaria por encima del 90% de 62 a 161 días según el rango de dosis utilizado (Ritchie et al., 2010).

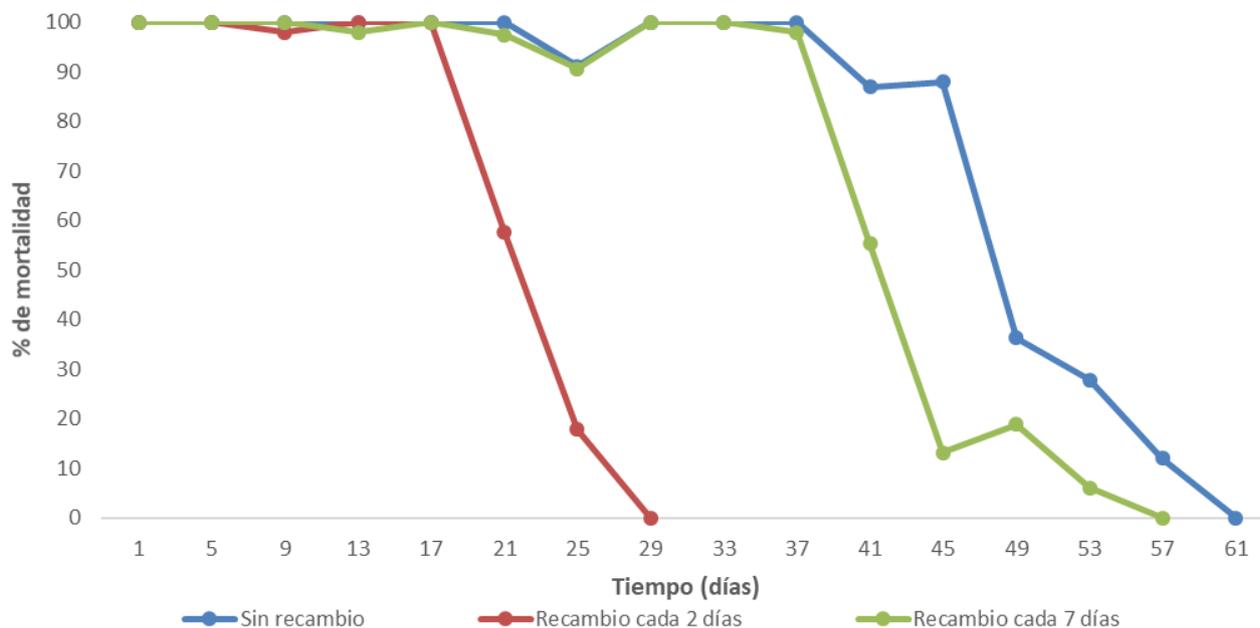


Figura 3. Curvas teóricas de mortalidad (%) de larvas de *Ae. aegypti* expuestas a Bti WG según dosis y frecuencia de recambio de agua en relación al tiempo. 80% Es el punto de corte en el cual aún se considera que hay una efectividad mínima del Bti.

La acción residual de los productos de *Bti* depende de la formulación y de las condiciones de la aplicación. Por ejemplo, Lee & Zairi (2005) evaluaron la persistencia de la formulación comercial granulada Vectobac WDG® (Abbott Laboratories, Australia) con y sin recambio de agua en condiciones de laboratorio. Los resultados arrojaron valores de mortalidad para *Ae. aegypti* de más de 95% hasta por 45 días en el tratamiento con recambio de agua, 10 días más para el tratamiento sin recambio, lo cual puede deberse a la resuspensión de la toxina en el recipiente (Ochoa & Arrivillaga, 2009).

Este estudio se desarrolló en condiciones laborales similares al nuestro, obteniendo resultados de efectividad residual del Bti mayores (se desconoce dosis utilizada en este estudio y frecuencia de recambio de agua), que permite concluir que la efectividad residual decayó más rápidamente en el tratamiento con recambio de agua, probablemente por variaciones en la concentración del producto (Ochoa & Arrivillaga, 2009). A nivel regional, en Brasil se han realizado múltiples evaluaciones bajo condiciones simuladas en laboratorio de la misma forma y condiciones que realizamos en nuestro estudio. En Río de Janeiro durante el año 2005, se evaluó el efecto residual de la presentación VectoBac G a una dosis de 20 mg/L, la cual produjo una mortalidad por encima del 95% durante 101 días sin

recambio (Lima et al., 2005). Así también, se evaluó en un estudio de campo simulado en Río de Janeiro una presentación de tableta de *Bti*, donde se registraron mortalidades larvianas por encima de 70% durante 40 a 54 días (Melo-Santos et al., 2001). En 2010 en Ceará se realizó una investigación utilizando VectoBac WG a una dosis de 20 mg / L, con esta presentación se observó una mortalidad larvaria mayor o igual a 80% hasta el día 80 cuando el agua no sufría recambio y cuando tenía recambio diario persistió por encima de esta mortalidad por 40 días (Pontes et al., 2010). En nuestro estudio la mortalidad fue mayor al 80% con dosis de 2.5 mg/L hasta 13 días con recambio cada 2 días, de 25 días con recambio cada 7 días y de 21 días sin recambio de agua; en dosis de 5mg/L fue de 17 días con recambio cada 2 días, de 37 días con recambio cada 7 días y de 45 días las que no sufrían recambio. Si hacemos una comparación entre las dosis utilizadas y recambio de agua los resultados de tiempo de mortalidad mínima efectiva (mayor o igual al 80%) en Brasil son similares a los nuestros. Ahora bien, en cuanto al área de control de insectos de orden Díptera como lo es el *Aedes aegypti*, se ha discutido la susceptibilidad de las toxinas de *Bti* a la acción de factores ambientales como la radiación ultravioleta (UV) (Putzai et al., 1991) y la temperatura (Cokmus & Elçin, 1995) que pueden inactivarlas.

Cuadro 1

Razón de mortalidad para dosis de 2.5 mg/L y 5 mg/L recambio cada 2 y 7 días y sin recambio.

Días de exposición	Razón de mortalidad a 2.5 mg			Razón de mortalidad a 5 mg		
	R* cada 2 días /SR**	R* cada 7 días / R**	R* cada 2 días / R* cada 7 días	R* cada 2 días/SR**	R* cada 7 días/SR**	R* cada 2 días / R* cada 7 días
1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1
9	1	1	1	1.0204	1	1.0204
13	1.020	1	1.0204	1	1.0204	0.9800
17	5.1098	1	5.1098	1	1	1
21	28.9855	1	28.9855	1.7370	1.0263	1.6923
25	18.9405	0.9021	20.9948	5.1052	1.0061	5.0741
29	-	1.3993	-	-	1	-
33	-	1.6575	-	-	1	-
37	-	1.8666	-	-	1.0208	-
41	-	2.7240	-	-	1.5719	-
45	-	1.6675	-	-	6.6869	-
49	-	-	-	-	1.9259	-
53	-	-	-	-	4.5424	-
57	-	-	-	-	-	-
61	-	-	-	-	-	-

*R: Recambio **SR: Sin Recambio

La radiación UV cobra importancia en el contexto del control de *Ae. aegypti* ya que muchos de los criaderos, como toneles, cauchos y otros recipientes, se encuentran al descubierto y expuestos a la radiación solar (Barrera et al., 2002); asimismo, el aumento en la temperatura sería una consecuencia indirecta de la exposición al sol. En vista de lo expresado acerca de los factores que afectan la acción biocida de *Bti*, una buena parte de la investigación se ha dirigido a desarrollar estrategias para atacar los principales factores adversos a su actividad larvicida. Las nuevas estrategias de aplicación buscan proteger las toxinas contra las altas temperaturas y la exposición a la radiación UV, para mejorar así la persistencia de la toxina en el ambiente, y estimular su consumo por parte de la larva, para aumentar su actividad larvicida (Ochoa & Arrivillaga, 2009). En nuestro caso el laboratorio se mantuvo en una temperatura ambiente promedio en 25.02 °C, temperatura de los bioensayos entre 22-26 °C, PH promedio en los bioensayos de 7 y no había contacto con luz solar UV, ni hubo crecimiento de microorganismos, por lo que no se consideraron agentes externos que pudiesen afectar en los resultados del estudio.

Bacillus thuringiensis var israelensis se presenta como una alternativa atractiva para el control de *A. aegypti* por sus claras ventajas sobre insecticidas químicos, a saber: alta especificidad, inocuidad sobre el medio ambiente y lento desarrollo de resistencia (Ochoa et al., 2009). Pero las formulaciones existentes aún no presentan un efecto residual alto y este defecto puede verse aumentado cuando los ensayos son en el campo ya que existen gran cantidad de variables que pueden influir en su efecto (Ochoa & Arrivillaga, 2009). La actividad residual de *Bti* contra larvas de *A. aegypti* es una desventaja por la cual no ha podido sustituir a los insecticidas químicos, siendo la máxima residualidad encontrada en los últimos trabajos de hasta 37 días de actividad tóxica bajo sombra (Zavaleta et al., 2014). En la actualidad la aplicación de *Bti* no ha sido del todo exitosa en países subdesarrollados como Honduras debido a ciertas desventajas como: el elevado costo económico para su adquisición o producción, tiempos de permanencia de las proteínas delta endotoxinas en el ambiente muy cortos, (bajo poder residual) (Soberón & Bravo, 2007), costos de distribución y seguimiento por personal sanitario entre otras variables que dificultan el éxito del *Bti* como estrategia para eliminar y erradicar el vector que produce las enfermedades dengue, Zika y chikungunya.

5. Conclusión

De acuerdo a los datos de este estudio, se puede concluir que las dosis de *Bti* recomendadas para control larvario del *Ae. Aegypti* deben ser mayor a la de 5 mg/L por su efectividad residual en relación al recambio de agua.

6. Contribución de los Autores

Jovita Francia Ponce Guevara: Gerente de proyecto,

coordinación general, ejecución financiera, asesoría diseño protocolo.

Brian M. Erazo: Coordinador operativo, diseño general de protocolo, tabulación de datos, editor en jefe de manuscrito.

Juan C. Amador: Diseño de protocolo a nivel de metodología, recolección en campo y laboratorio, editor de manuscrito y responsable de publicación.

Néstor J. Yanes: Diseño de protocolo de investigación a nivel de instrumentos, recolección en campo y laboratorio y marco teórico, aporte al manuscrito.

Xenia I. Paz: Diseño de protocolo a nivel de instrumentos, variables y referencias. Recolección y tabulación. Aporte manuscrito.

Brayan Bennett: Diseño de protocolo a nivel de control de calidad. Supervisión de recolección laboratorial. Aporte al manuscrito.

Jairo García: Diseño de protocolo de investigación a nivel de diseño metodológico a nivel de dosificaciones y diseño de laboratorio, recolección en campo y laboratorio, aporte al manuscrito.

Michelle Padilla: Diseño de protocolo de investigación a nivel de diseño metodológico a nivel de dosificaciones y diseño de laboratorio, control de calidad a nivel entomológico, aporte al manuscrito.

Ammi Bustillo Ponce: Diseño de protocolo a nivel de marco teórico e instrumentos, recolección de datos de campo y laboratorio.

Bayron Lopez: Diseño de protocolo a nivel de control de variables. Recolección de campo

7. Conflictos de Interés

Los autores presentan ningún conflicto de interés.

8. Financiamiento

Este proyecto contó con financiamiento del Instituto Hondureño de Ciencia, Tecnología y la Innovación (IHCIETI).

9. Referencias Bibliográficas

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18(1), 265-266. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Avila-Montes, G. A., Araujo, R., & Orellana, G. (2010). Situación Epidemiológica del Dengue en Honduras Período 1991-2010. *Rev Med*

- Hondur. 78(3):113-168. <https://revistamedicahondurena.hn/assets/Uploads/Vol78-3-2010-15.pdf>
- Batra, C.P., Mittal, P.K., & Adak, T. (2000). Control of aedes aegypti breeding in desert coolers and tires by use of Bacillus thuringiensis var. israelensis formulation. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 16(4):321–3. <https://europepmc.org/article/med/11198918>
- 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):564–77. <https://doi.org/10.1111/tmi.12087>
- Brathwaite Dick, O., San Martin, J. L., Montoya, R. H., del Diego, J., Zambrano, B., & Dayan, G. H. (2012). The history of dengue outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg*. 87(4):584–593. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0770>
- Corbillón, C.O., González, A., Menéndez, Z., Companioni, A., Bruzón, R.Y., Díaz, M., & Gato, R. (2012). Influencia de factores bióticos sobre la eficacia de Bacillus thuringiensis var. israelensis contra Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). *Rev Cubana Med Trop*. 64(3): 235-243. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602012000300004&lng=es&tng=es.
- Grisales, N., Poupardin, R., Gomez, S., Fonseca-Gonzalez, I., Ranson, H., & Lenhart, A. (2013). Temephos Resistance in Aedes aegypti in Colombia Compromises Dengue Vector Control. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 7(9):e2438. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002438>
- Gunasekaran, K., Boopathi Doss, P. S., & Vaidyanathan, K. (2004). Laboratory and field evaluation of Teknar HP-D, a biolarvicidal formulation of Bacillus thuringiensis ssp. israelensis, against mosquito vectors. *Acta tropica*. 92(2):109–18. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.04.008>
- Hotez, P.J., Woc-Colburn, L., & Bottazzi, M.E. (2014). Neglected tropical diseases in Central America and Panama: Review of their prevalence, populations at risk and impact on regional development. *Int J Parasitol*. 44(9):597–603. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.04.00>
- Lima, E. P., Goulart, M. O., & Rolim Neto, M. L. (2015). Meta-analysis of studies on chemical, physical and biological agents in the control of Aedes aegypti. *BMC public health*, 15, 858. <https://doi.org/10.1186/s12889-015-2199-y>
- Lima, J., Melo, N., & Valle, D. (2005). Residual effect of two Bacillus thuringiensis var. israelensis products assayed against Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) in laboratory and outdoors at Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*. 47(3): 125-130. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652005000300002>
- Martinez, D. (2012). *Susceptibilidad de Larvas de Aedes aegypti (diptera: culicidae) al Insecticida TEMEFÓS (ABATE) en el Distrito Central, Francisco Morazán, Tegucigalpa, Honduras*. Repositorio Institucional UNAH. <http://www.tzibalnaah.unah.edu.hn/handle/123456789/4500>
- Melo-Santos, M., Sanches-Gomes E., Jesus, F. J., & Regis, L. (2001). Evaluation of a new tablet formulation based on Bacillus thuringiensis sorovar. israelensis for larvicidal control of Aedes aegypti. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 96(6): 859-860. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000600020>
- Melo-Santos, M., Varjal-Melo, J.J., Araujo A.P., Gomes, T.C.S., Paiva, M.H.S., Regis, L. N., Furtado, A. F., Magalhaes, T., Macoris, M., Andrighetti, M., & Ayres, C. (2010). Resistance to the organophosphate temephos: mechanisms, evolution and reversion in an Aedes aegypti laboratory strain from Brazil. *Acta tropica* 2010; 113(2):180–9. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.10.015>
- Mesa-Despaigne, A., Alvarado-Padilla, G., Licona-Licona, N., Ramos, R., & Aguilar, M. (2013). Residualidad del temefos en depósitos domésticos y su efectividad en el control de larvas de Aedes aegypti en Honduras. *MEDISAN*. 17 (6). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102930192013000600008&lng=es&nrm=iso. ISSN 1029-3019
- Muktar, Y., Tamerat, N., & Shewafera, A. (2016). Aedes aegypti as a Vector of Flavivirus. *J Trop Dis*. 4:223. <https://doi.org/10.4172/2329-891X.1000223>
- Ochoa, G. & Arrivillaga, J. (2009). *Bacillus thuringiensis: Avances y perspectivas en el control biológico de Aedes aegypti*. *Bol Mal Salud Amb v.49 n.2 Maracay dic. 2009*. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482009000200002
- Ochoa, Gustavo & Arrivillaga-Henríquez, Jazmin. (2009). Bacillus thuringiensis: Avances y perspectivas en el control biológico de Aedes aegypti. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. 2. 182-191. https://www.researchgate.net/publication/267329105_Bacillus_thuringiensis_Avances_y_perspectivas_en_el_control_biologico_de_Aedes_aegypti
- Ponce, J.F., Erazo, B., Yanes, N., Maradiaga, A., Bustillo, A., Cruz, A., Varela, D., Durón, D., Antúnez, K., Maradiaga, P., Matute, S., Sandoval, E. (2018). Susceptibilidad de la Larva de Aedes Aegypti Bacillus Thuringiensis Var Israelensis en Tegucigalpa, Honduras, *Revista Médica Honduras*, Vol. 86, Nos. 1 Y 2, 2018 <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/2018/pdf/Vol86-1-2-2018-3.pdf>
- Pontes, R.J., Dantas-Filho, F., Ferreira, A.C., Morais de Alencar, C.H., Ramos Jr, A., Pamplona, L., & Lima, J. (2010). Impact of water renewal on the residual effect of larvicides in the control of Aedes aegypti. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 105(2):220–4. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762010000200019>
- Pontes, R.J., Ferreira, A.C., Oliveira, J.W., & Kerr-Pontes, L.R. (2005). Residual effect of commercial applications of larvicides temefos and Bacillus thuringiensis israelensis on Aedes aegypti larvae in recipients with water renewal. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 38(4):316-321. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822005000400007>
- Reliefweb. (2013). Capacitan técnicos de salud para iniciar con la aplicación del BTI, nuevo producto para eliminación de larvas. <https://reliefweb.int/report/honduras/capacitan-t%C3%A9cnicos-de-salud-para-iniciar-con-la-aplicaci%C3%B3n-del-bti-nuevo-producto>
- Ritchie, S. A., Rapley, L. P., & Benjamin, S. (2010). Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti) Provides Residual Control of Aedes aegypti in Small Containers. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(6), 1053–1059. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0603>
- Secretaría de Salud de Honduras. (2014) Encuesta Entomológica bajo el Método de LYRAS, Región Sanitaria Metropolitana, Tegucigalpa, Febrero-Marzo 2014.
- Shetty, V., Sanil. D. & Shetty, N.J. (2015). Inheritance Pattern of Temephos Resistance, an Organophosphate Insecticide, in Aedes aegypti (L.). *Genetics Research International*. 2015:6. 181872. <https://doi.org/10.1155/2015/181872>

- Soberón, M., y Bravo, A. (2007). *Las toxinas Cry de Bacillus thuringiensis: modo de acción y consecuencias de su aplicación*. Biotecnología, V14 CS3.indd 304. http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/capitulo_27.pdf
- Staples, J.E. & Fischer, M. (2014). Chikungunya virus in the Americas-- what a vectorborne pathogen can do. *The New England Journal of Medicine*. 371(10):887–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1407698>
- World Health Organization. (2004). Global strategic framework for integrated vector management. Geneva, WHO. WHO/CDS/CPE/PVC/2004.10. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68624>
- World Health Organization. (2005). Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides. *World Health Organization*. WHO/CDS/WHOPEP/GCDPP/13. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69101>
- World Health Organization. (2009). Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. WHO. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44188>
- World Health Organization. (2012). WHOPEP-recommended compounds and formulations for control of mosquito larvae. Report of the Whopes Working Group Meeting September 2012. WHO. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75304/978924150408_9_eng.pdf?sequence=1