



Evaluación de campo de la eficacia de 2 formulaciones de Diflubenzuron (Dimilin DT y GR), inhibidor de la síntesis de la quitina contra las larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: culicidae) en contenedores de almacenamiento de agua

Usavadee Thavara¹, Apiwat Tawatsin¹, Chitti Chansang¹, Preecha Asavadachanukorn², Morteza Zaim³ Y Mir S Mulla⁴

¹National Institute of Health, Departamento de Ciencias Médicas, Ministerio de Salud Pública, Nonthaburi. ²Department of Statistics, Facultad de Comercio y Contabilidad, Chulalongkorn University, Bangkok, Tailandia. ³Esquema de Evaluación de Plaguicidas de la OMS, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza, ⁴Departamento de Entomología, University of California, Riverside, California, EE.UU.

Resumen

Se evaluó la eficacia larvicida de las formulaciones de tabletas (ingrediente activo: 40 mg/tableta) y granular (ingrediente activo al 2%) de diflubenzuron, inhibidor de la síntesis de la quitina, regulador del crecimiento de insectos contra la larva de *Aedes aegypti* (OL.) en contenedores de almacenamiento de agua en condiciones de campo en Tailandia. Se aplicó cada formulación a jarras de arcilla de 200 L en 5 dosis diferentes (0.02, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 mg/L de ingrediente activo). Las jarras se cubrieron con hojas de celocrete sólido y se colocaron a la sombra bajo techo. También se realizó otro experimento utilizando 3 dosis diferentes (0.1, 0.5 y 1 mg/L), en el cual se extrajo la mitad del agua en cada jarrón tratado y en el control se rellenaron semanalmente. Cada tratamiento se replicó 4 veces. Los tratamientos se sometieron a reto agregando semanalmente 25 larvas de 3^{er}. instar por jarra. Se efectuaron evaluaciones de cada tratamiento a través de la inhibición de emergencia (Porcentaje de inhibición de Emergencia ó "% IE") extrayendo y contando las pieles pupales 1 semana post-adición larval. Utilizando estas técnicas de evaluación, se logró un alto grado de eficacia larvicida (96-100% de Inhibición de Emergencia) con 4 dosificaciones (0.05, 0.1, 0.5 y 1 mg/L) de ambas formulaciones (tabletas y gránulos) por un periodo de 23 semanas post-tratamiento. La eficacia de la dosis más baja (0.02 mg/L) de las formulaciones de tabletas y gránulos duró por 21 y 22 semanas, respectivamente. En las condiciones de extracción de agua y llenado semanal, se obtuvo un alto grado de eficacia larvicida (96-100% de IE) en las 3 dosificaciones con la formulación de tableta 18 a 21 semanas post-tratamiento, dependiendo de la dosis. El presente estudio pone en evidencia un alto nivel de actividad residual con las 2 formulaciones de diflubenzuron contra las larvas de *Ae. aegypti* en contenedores de almacenamiento de agua. Teniendo en cuenta los factores ambientales y las condiciones de uso del agua, es probable que las dosis de 0.05 a 0.1 mg de ingrediente activo /L sean eficaces y aporten control de larga duración por 3 a 4 meses en campo.

Introducción

Generalmente, se reconoce al *Aedes aegypti* (L.) como el vector más importante responsable de la transmisión de virus de dengue que causan la fiebre del dengue, una seria enfermedad transmitida por los mosquitos. Esta especie de mosquitos está muy extendida en todo el mundo, incluyendo las regiones tropicales, subtropicales y templadas. Para el control de *Ae. aegypti* se han desarrollado y se recomiendan (Mulla *et al.*, 2004; Thavara *et al.*, 2004) larvicidas químicos y microbianos que contienen una variedad de ingredientes activos, tales como el temefos, Bti y reguladores del crecimiento de insectos ("IGRs").

El presente estudio se emprendió para evaluar la eficacia residual de 2 formulaciones de diflubenzuron (tabletas y gránulos) de la compañía Crompton Corporation (hoy Chemtura) contra larvas de *Ae. aegypti* en contenedores de almacenamiento de agua en condiciones de campo. Se utilizaron múltiples do-

sis de cada formulación y los jarrones tratados y los controles se sometieron a prueba de reto semanal con larvas durante aproximadamente 27 semanas.

Materiales y métodos

Sitio del Estudio

El presente estudio se realizó en una estación de investigación de campo para la evaluación de productos mosquitocidas y otros agentes experimentales para el control de vectores, en Bang Bua Thong District, Provincia de Nonthaburi, Tailandia. Mulla *et al.* (2003, 2004) presentan una descripción pormenorizada de las instalaciones de la investigación.

Materiales y tratamientos

Diflubenzuron [1-4(clorofenil)-3-(2,6-difluorobenzil) urea] es inhibidor de la síntesis de la quitina que se aplica al agua con el fin de controlar la repro-



reguladores de crecimiento

ducción de vectores de enfermedades. En el presente estudio, se evaluaron 2 formulaciones de diflubenzuron: tabletas (Dimilin T, 2g de peso/tableta con 40 mg de ingrediente activo por tableta) y gránulos Dimilin G, 2% de i.a. Estas formulaciones fueron facilitadas por la compañía Crompton Corporation, hoy Chemtura. Cada formulación se aplicó en jarrones de arcilla vitrificada de 200 L utilizando 5 dosificaciones (0.02, 0.05, 0.1, 0.5 y 1mg/L de i.a.) y cada dosificación consistió en 4 jarrones. Para obtener dichas dosis, se trató cada jarrón de cada dosis particular con $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$, y 5 tabletas de Dimilin T, respectivamente, mientras que los tratamientos con Dimilin G fueron de 0.2, 0.5, 1, 5, y 10g, respectivamente. Los tratamientos, incluyendo los controles se dispusieron en un diseño de bloque y se colocaron en una fila de oriente a occidente. Los jarrones se trataron después de la adición de la primera cohorte de larvas y semanalmente se reemplazó la pérdida de agua.

Evaluación de la eficacia

Los tratamientos fueron sometidos a prueba semanalmente con una cohorte fresca de larvas criadas en laboratorio, en las que se agregaron por jarrón 25 larvas (3^{er} instar) de *Ae. aegypti* transferidas en vasos de agua. Se agregó aproximadamente 1g de alimento molido de ratón por jarrón para las larvas. Se evaluó la mortalidad larval al comienzo y la posterior emergencia de adultos, mediante conteo de pieles pupales.

Resultados

En la gráfica 1 se ilustra la eficacia residual del diflubenzuron (formulación en tabletas) en las 5 diferentes dosificaciones (0.02, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 mg/L de ingrediente activo) contra las larvas de *Ae aegypti* en jarrones constantemente llenos. Como puede observarse, la dosis más baja (0.02 mg/L) de la formulación en tabletas arrojó una excelente eficacia con un

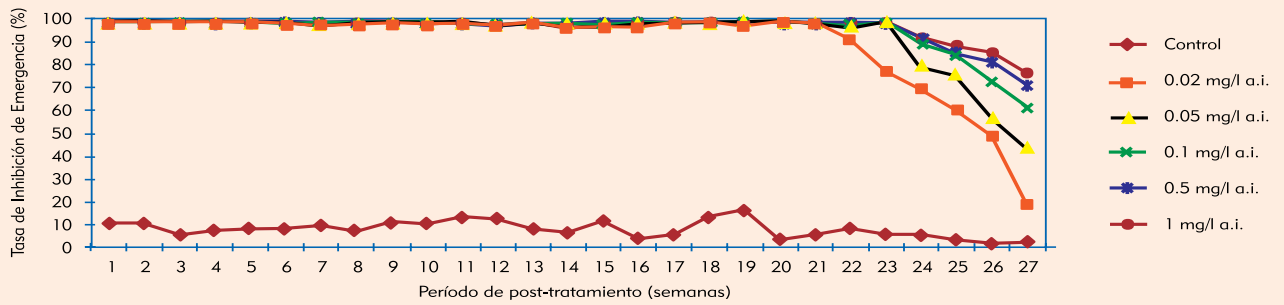
alta tasa de inhibición de emergencia (96-100% IE) por 21 semanas post-tratamiento, período después del cual su eficacia declinó continuamente durante el período restante, hasta descender alrededor del 50% de IE a las 26 semanas post-tratamiento.

Resulta evidente que los patrones de eficacia residuales de la formulación granular de diflubenzuron fueron casi los mismos que los patrones de la formulación en tableta. Sin embargo, cuando las 2 formulaciones alcanzaron su máximo período de excelente eficacia, la eficacia del grupo de la formulación granular declinó un poco más rápidamente que la del grupo de la formulación en tableta.

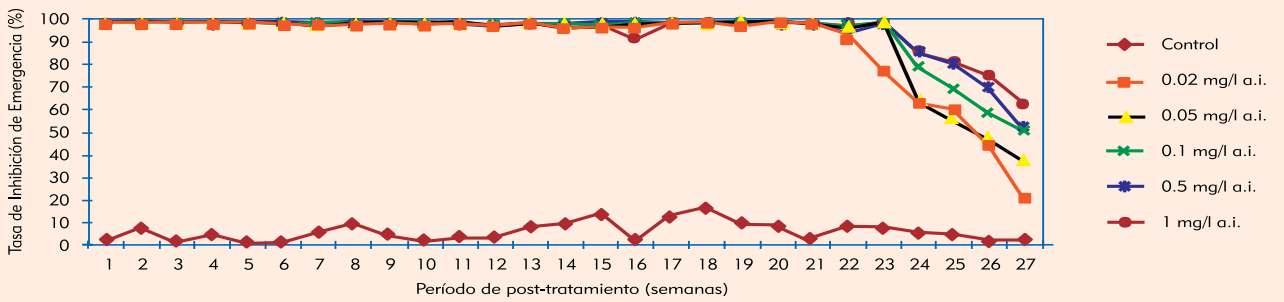
En la figura 3, después de alcanzar el máximo período de excelente eficacia a las 21 semanas post-tratamiento, la eficacia de diflubenzuron tableta a la dosis de 0.5 mg/L de i.a. cayó rápidamente hasta aproximadamente el 54% de Inhibición de Emergencia en la semana 22.

Discusión

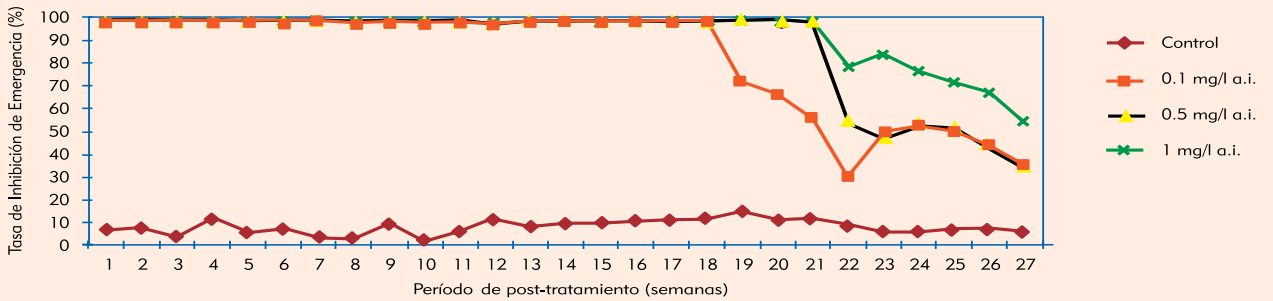
Diflubenzuron es un Regulador del Crecimiento de los Insectos que inhibe la síntesis de quitina de las larvas de mosquitos durante la ecdisis, lo que afecta el desarrollo larval en todas las instares larvales y en otras etapas. Sin embargo, existen diferencias significativas en la actividad inhibidora del diflubenzuron entre instares, y se halló que las larvas de 3^{er} instar son las más resistentes al efecto inhibitor de diflubenzuron (Martins y da Silva, 2004) y el diflubenzuron no causa ninguna reducción en el potencial de reproducción del *Ae aegypti* (Fournet *et al.*, 1993). Con la ingestión de diflubenzuron, las larvas no tuvieron capacidad de completar su muda y posteriormente murieron. Este es un modo completamente diferente de acción que la de otros larvicidas de químicos sintéticos y, por ello, aporta una estrategia novedosa para el manejo de la resistencia cuando se produce resistencia a los larvicidas convencionales.



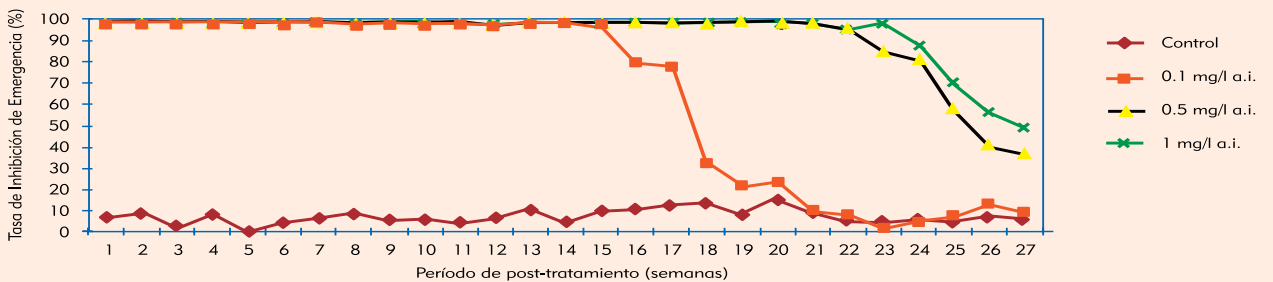
Gráfica 1 - Eficacia residual (porcentaje de inhibición de emergencia) de diflubenzuron tabletas (40 mg de ingrediente activo/tableta) a diversas dosificaciones (mg/L de i.a.) en jarrones de almacenamiento de agua (200L), mantenidos llenos sin intercambio de agua.



Gráfica 2 . Eficacia residual (porcentaje de inhibición de emergencia) de diflubenzuron gránulos (2% de ingrediente activo) a diversas dosificaciones (mg/L de i.a.) en jarrones de almacenamiento de agua (200L), mantenidos llenos sin intercambio de agua.



Gráfica 3 - Eficacia residual (porcentaje de inhibición de emergencia) de diflubenzuron tabletas (40 mg de ingrediente activo/tableta) a diversas dosificaciones (mg/L de i.a.) en jarrones de almacenamiento de agua (200L), extrayendo semanalmente 1/2 del volumen de agua y volviendo a llenarlos.



Gráfica 4 - Eficacia residual (porcentaje de inhibición de emergencia) de diflubenzuron gránulos (2% de ingrediente activo) a diversas dosificaciones (mg/L de i.a.) en jarrones de almacenamiento de agua (200L), extrayendo semanalmente 1/2 del volumen de agua y volviendo a llenarlos.



reguladores de crecimiento

El presente estudio documenta la excelente eficacia larvicida de dos formulaciones de diflubenzuron en diferentes dosificaciones contra el 3^{er} instar de larvas de *Ae. aegypti* en jarrones de almacenamiento de agua (con capacidad de 200 L) en condiciones de campo. Utilizamos larvas de 3^{er} instar de *Ae. aegypti* para la evaluación con el fin de determinar la eficacia larvicida contra la etapa más resistente de la especie objeto de ensayo.

Los datos de nuestro estudio sustentan un alto nivel de eficacia residual para ambas formulaciones de diflubenzuron contra las larvas de *Ae. aegypti* en contenedores de almacenamiento de agua en condiciones de campo. Recientemente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó el uso de 2 formulaciones de diflubenzuron (2% DT y 2% GR) para el control de mosquitos que se reproducen en contenedores, tales como los *Ae. aegypti* a una dosis de 0.02-0.25 mg/L de ingrediente activo, con una eficacia residual esperada de 2 a 4 meses (OMS, 2006).

Por lo tanto, es probable que al menos 2 formulaciones de diflubenzuron, objeto de ensayo en el presente estudio, pudiera constituir un larvicida sustituto o un larvicida alternativo para el control de larvas de *Ae. aegypti*, ya que estas formulaciones no tienen características desagradables.

Además de la buena eficacia contra las larvas de *Ae. aegypti*, el diflubenzuron también presenta un amplio espectro de actividad larvicida contra diversas especies de mosquitos, tales como el *Anopheles quadrimaculatus* Say y *Culex tarsalis* Coquillett (Estrada y Mulla, 1986), *An. culicifacies* Giles, *An stephensi* Liston y *Cx. quinquefasciatus* Say (Ansari *et al*, 2005). La OMS (2006) también recomendó el uso de diflubenzuron (formulaciones 2% GR y 25% WP) para el control de mosquitos en masas abiertas de agua a la dosis de 25-100 g/ha de ingrediente activo.

Respecto a la seguridad, la OMS clasifica el diflubenzuron como improbable de representar un peligro o riesgo agudo en uso normal, dado que tiene baja

toxicidad aguda y crónica para los mamíferos, sin indicación de carcinogenicidad, mutagenicidad o teratogenicidad (OMS, 2006). El diflubenzuron también es amigable para el medioambiente con baja toxicidad para las aves, peces y plantas acuáticas. Aunque el diflubenzuron es altamente tóxico para la biota que no es el blanco de su aplicación, tales como algunos crustáceos y macro-invertebrados, la resurgencia de los organismos blanco afectados y de aquellos afectados que no son blanco de su aplicación se produce con bastante rapidez (OMS, 2006).

En conclusión, se logró un alto grado de eficacia larvicida (96-100% de Inhibición de Emergencia) con 4 dosificaciones (0.05, 0.1, 0.5 y 1 mg/L de ingrediente activo) de ambas formulaciones de diflubenzuron por un período de 23 semanas post-tratamiento, mientras que la eficacia de la dosificación más baja (0.02 mg/L de ingrediente activo) de las formulaciones de tabletas y gránulos duró 21 y 22 semanas post-tratamiento, respectivamente. En las condiciones de extracción y rellenado semanales del agua, se obtuvieron altos grados de eficacia larvicida (96-100% de Inhibición de Emergencia) con las 3 dosificaciones con la formulación de tableta por 18 a 21 semanas post-tratamiento, en tanto que la eficacia de la formulación de gránulos persistió de 15 a 23 semanas post-tratamiento dependiendo de la dosis utilizada. El presente estudio demostró claramente un alto nivel de actividad residual para ambas formulaciones de diflubenzuron (tabletas y gránulos) contra las larvas de *Ae. aegypti* en contenedores de almacenamiento de agua. Considerando los factores ambientales y las condiciones del uso de agua, es probable que las dosificaciones de 0.02 a 0.1 mg/L de ingrediente activo sean dosis efectivas para proporcionar un control duradero por al menos 3 a 4 meses en campo.

Reconocimientos

El presente estudio se llevó a cabo en colaboración con el Departamento de Entomología de la Univer-

sidad de California, Riverside, EE.UU. Quisiéramos agradecer a la compañía Crompton Corporation (hoy Chemtura) por suministrar las muestras de las formulaciones para el experimento. Los autores reconocen y agradecen el constante aliento y apoyo del Dr. Pathom Sawanpanyalert, Director del National Institute of Health (NIH), Departamento de Ciencias Médicas, Ministerio de Salud Pública, Tailandia. Reconocemos la asesoría eficaz de Ruthairat Sritommarat, Payu Bhakdeenuan, Deanpen Deepolngam, Laddawan Wansopa, Thanittha Chumphonrak y Chumphon Chumphonrak del NIH, Tailandia para la realizar oportunamente la evaluación y mantenimiento del sitio del experimento. Agradecemos a Yutthana Phusap, Jefe de la Unidad del Insectario, NIH, Tailandia, por su suministro continuo de larvas de mosquitos utilizados en el experimento.

Referencias

1. Ansari MA, Razdan RK, Sreehari U. Laboratory and field evaluation of Hilmilin against mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 2005; 21: 432-6.
2. Bang YH, Tonn RJ, Jatanasen S. Pilot studies of Abate® as larvicide for control of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1972; 3: 106-15.
3. Batra CP, Mittal PK, Adak T, et al. Efficacy of IGR compound Starycide 480 SC (triflumuron) against mosquito larvae in clear and polluted water. *J Vector Borne Dis* 2005; 42: 109-16.
4. Campos J, Andrade CF. Larval susceptibility to chemical insecticides of two *Aedes aegypti* populations. *Rw Saude Publica* 2001; 35: 232-6.
5. Chen CD, Nazni WA, Lee HL, et al. Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to temephos in four study sites in Kuala Lumpur City Center and Salangor State, Malaysia. *Trop Biomed* 2005; 22: 207-16.
6. Chansang C, Chansang U, Thavara U, et al. The distribution of *Aedes aegypti* in rural areas during 1989-1991. *Bull Dept Med Sci* 1993; 35: 91-106.
7. Estrada JG, Mulla MS. Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. *J Am Mosq Control Assoc* 1986; 2: 57-60.
8. Fournet F, Sannier C, Monteny N. Effects of the insect growth regulators OMS 2017 and diflubenzuron on the reproductive potential of *Aedes aegypti*. *J Am Mosq Control Assoc* 1993; 9: 426-30.
9. Georghiou GP, Wirth M, Tran H, et al. Potential for organophosphate resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Caribbean area and the neighboring countries. *J Med Entomol* 1987; 24: 290-4.
10. Kittiyapong P, Strickman D. Distribution of container-inhabitation *Aedes* larvae (Diptera: Culicidae) at a dengue focus in Thailand. *J Med Entomol* 1993; 30: 601-6.
11. Martins F, Da Silva IG. Evaluation of the inhibiting activity of the diflubenzuron on the ecdysis of larvae of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37: 135-8.
12. Mekuria Y, Gwinn TA, Williams DC, et al. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* from Santo Domingo, Dominican Republic. *J Am Mosq Control Assoc* 1991; 7: 69-72.
13. Mulla MS. The future of insect growth regulators in vector control. *J Am Mosq Control Assoc* 1995; 11: 269-73.
14. Mulla MS, Darwazeh HA. Efficacy of new insect growth regulators against mosquito larvae in dairy wastewater lagoons. *J Am Mosq Control Assoc* 1988; 4: 322-5.
15. Mulla MS, Thavara U, Tawatsin A, Chompoosri J, Zaim M, Su TY. Laboratory and field evaluation of novaluron, a new acylurea insect growth regulator, against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Vector Ecol* 2003; 28: 241-54.
16. Mulla MS, Thavara U, Tawatsin A, Chompoosri J. Procedures for the evaluation of field efficacy of slowrelease formulations of larvicides against *Aedes aegypti* in water-storage containers. *J Am Mosq Control Assoc* 2004; 20: 64-73.
17. Paeporn P, Ya-umphan P, Suphaphathom K, et al. Insecticide susceptibility and selection for resistance in population of *Aedes aegypti* from Ratchaburi Province, Thailand. *Trop Biomed* 2004; (suppl): 1-6.
18. Phanthumachinda B, Phanurai P, Samutrapongse W, et al. Studies on community participation in *Aedes aegypti* control at Panus Nikhom District, Chonburi Province, Thailand. *Mosq-Borne Dis Bull* 1985; 2: 1-8.
19. Su T, Mulla MS, Zaim M. Laboratory and field evaluations of novaluron, a new insect growth regulator (IGR), against *Culex* mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 2003; 19: 408-18.
20. Thavara U, Tawatsin A, Chansang C, et al. Larval occurrence, oviposition behavior and biting activity of potential mosquito vectors of dengue on Samui Island, Thailand. *J Vector Ecol* 2001; 26: 172-80.
21. Thavara U, Tawatsin A, Kong-Ngamsuk W, Mulla MS. Efficacy and longevity of a new formulation of temephos larvicide tested in village-scale trials against larval *Aedes aegypti* in water storage containers. *J Am Mosq Control Assoc* 2004; 20: 176-82.
22. WHO. Report of the ninth WHOPES working group meeting, WHO/HQ, Geneva, 5-9 December 2005. *WHO/CDS/NTD/WHOPES/2006.2* 2006.
23. Wirth MC, Georghiou GP. Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. *J Am Mosq Control Assoc* 1999; 15: 315-20.