

LABORATORIOS BIOLÓGICOS FARMACÉUTICOS, CUBA
ORGANIZACIÓN NO GUBERNAMENTAL "MOVIMONDO-MOLISV", HONDURAS.
MINISTERIO DE SALUD DE HONDURAS

Aplicación del biolarvicida *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF) para el control de la Malaria en un área de salud de la República de Honduras

Dr. Sergio D. Blanco Castro,¹ Lic. Elide Colombi² Téc. Luis Nery Flores³ y Téc. Daniel Canales³

RESUMEN

Se expusieron los resultados de la utilización del biolarvicida *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF), en la reducción de las densidades larvarias del vector malárico *Anopheles albimanus*, así como su repercusión sobre la situación epidemiológica de la enfermedad en el Área de Salud No. 2/Región Sanitaria No.1 del Ministerio de Salud de Honduras. El biolarvicida se aplicó durante 1999 en las 5 unidades productoras de salud más afectadas por esta enfermedad tropical (Ojo de Agua, Villa de San Francisco, San Juan de Flores, Moroceli y El Jicarito). Se empleó una dosis de 10 mL por metro cuadrado de área efectiva de criadero, determinándose las densidades larvarias durante las fases de pretratamiento y postratamiento biológico. Se pudo registrar de esta forma una efectividad de 100 % y una permanencia de hasta 4 meses postratamiento en los 11 criaderos monitoreados. Este impacto entomológico repercutió a su vez, sobre una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,01$) de la incidencia parasitaria anual de 1999 (21,45), respecto al año anterior, 1998 (45,64) en las 5 unidades tratadas. Fue también constatada la inocuidad del bacilo para los peces e insectos (Coleóptera, Hemíptera y Odonata) depredadores de larvas de mosquitos. Los satisfactorios resultados entomo-epidemiológicos logrados en esta área de salud permitieron recomendar este método biológico, como parte de los programas integrados para el control de los vectores maláricos en la República de Honduras.

DeCS: ANOPHELES; VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA; LARVA; CONTROL BIOLÓGICO DE VECTORES.

Cada año los parásitos de la malaria infectan entre 3 000 000 a 500 000 000 de personas, y causan alrededor de 2 700 000 muertes en todo el mundo.¹ La malaria o paludismo amenaza a más de 2 200 000 000 de personas (alrededor de 40 % de la población mundial). Esta enfermedad socava la salud y el bienestar de las mujeres y sus familias, pone en peligro la supervivencia de los niños, debilita la población activa y consume los escasos recursos tanto individuales como nacionales. Sin embargo, la malaria es una enfermedad curable, no una carga inevitable. Los ya extensos conocimientos adquiridos sobre la enfermedad y

su control, constituyen la base para poner en marcha una nueva iniciativa mundial de lucha contra la malaria.²

Según datos epidemiológicos publicados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), y el Ministerio de Salud de Honduras (MSH), cada año aumenta de forma significativa el número de casos de malaria en ese país centroamericano. En 1994 se registraron 52 110, 59 446 en 1995 y 75 565 casos fueron reportados para 1996.^{3,4} Esto refleja un incremento de 45 % de los casos durante ese período de 3 años. Se reporta a *Plasmodium vivax* como la especie que infecta aproximadamente 98 %

¹ Máster en Control de Vectores. Médico Veterinario.LABIOFAM. Cuba.

² Licenciada en Economía. Venezuela.

³ Técnica en Control de Vectores. Venezuela

de los casos en Honduras, mientras que el restante 2 % es producido por *P. falciparum*, el cual se asocia con una forma más severa de la enfermedad.^{3,5}

Sin embargo, en un brote de malaria reportado en enero de 1997 en el departamento hondureño de Colón, 22 % de los casos diagnosticados correspondió al tipo *falciparum*, reflejando un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,0001$) durante ese año. Según los investigadores, el incremento de esta forma maligna del paludismo podía responder a diferentes factores de riesgo, dentro de los cuales, la resistencia a la cloroquina destacaba entre los más importantes.⁶ El último reporte de resistencia a la cloroquina en Honduras databa de 1981.⁷

Por otra parte, el tránsito del huracán Mitch por Centroamérica a finales del año 1998, incidió de forma negativa sobre la situación epidemiológica de la malaria. Este fenómeno climatológico provocó entre otras cosas: la destrucción de infraestructuras y la pérdida de equipos e insumos, el desplazamiento de un gran número de personas; agudizó las condiciones precarias de la vivienda y generó la aparición de nuevos criaderos del vector.⁸

El control biológico de la fase acuática de los anofelinos vectores de la malaria es una estrategia interesante, pues resulta más factible en relación con el control de los adultos, dificultado a su vez, por la capacidad de dispersión de estos mosquitos. Por otro lado, los agentes de control biológico no generan la aparición de resistencia en estos vectores.⁹

Desde hace algunos años, en Honduras se han estado aplicando biolarvicidas confeccionados con bacterias esporógenas para el control de los vectores maláricos.¹⁰ El biolarvicida *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF) ha demostrado su elevada efectividad sobre *Anopheles albimanus* por períodos entre 3 y 5 meses postratamiento, en diferentes países de la Región como: Cuba,¹¹ Nicaragua¹² y Colombia.¹³

El objetivo general de este estudio consistió en evaluar la capacidad del biolarvicida *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF) para reducir las densidades larvianas de *Anopheles albimanus*, así como su repercusión sobre la disminución de la incidencia malárica durante 1999 en el Área de Salud No. 2/Región Sanitaria No. 1 del MSH.

MÉTODOS

El Área de Salud No. 2/Región Sanitaria No. 1 del MSH se ubica en el departamento de El Paraíso, fronterizo con la República de Nicaragua. Esta área es eminentemente agropecuaria, y reúne todas las condiciones requeridas para el desarrollo de los mosquitos anofelinos, vectores de la malaria.

La aplicación del biolarvicida *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF) se desarrolló durante 1999. Esta campaña formó parte de un proyecto financiado por la ONG "MOVIMONDO-Molisy", para el control biológico de los vectores maláricos en el Área de Salud No. 2 / Región Sanitaria No. 1 del MSH. Esta institución italiana pertenece a la Oficina Humanitaria de la Comisión Europea (ECHO). Tanto la aplicación, como la evaluación del mencionado larvicida biológico, estuvo a cargo del personal perteneciente al Departamento de Enfermedades Transmitidas por Vectores (DETV), de esta área de salud.

El producto fue aplicado a razón de 10 mL por metro cuadrado de área efectiva de criadero (AEC). Se consideró como AEC todo espejo de agua cubierto por vegetación, donde además, existieran larvas de *Anopheles albimanus*. Para la aplicación del líquido biolarvicida se emplearon bombas aspersores de motor, y manuales (Hudson X-Pert y Matabi), equipadas con boquilla HSS-8002E manteniéndose una presión entre 25-55 lb por pulgada cuadrada.

Las densidades larvianas por metro cuadrado se determinaron antes y después de la aplicación, con intervalos de 15 d postratamiento biológico. Estas densidades fueron calculadas a través del método del cucharón recomendado por la OMS.¹⁴ Se establecieron un total de 11 criaderos monitores en las diferentes localidades tratadas, con el propósito de evaluar la efectividad, la permanencia e inocuidad del bacilo aplicado. La efectividad del biolarvicida se calculó sobre la base de las densidades larvianas por estadios (I-III, IV y pupa), registradas durante las fases de pretratamiento y postratamiento biológico, empleándose la ecuación de Mulla.¹⁵

Se debe señalar que los autores se vieron imposibilitados de dejar algún criadero positivo sin aplicar (como control), pues tratándose del control de la malaria, era imprescindible tratar todos los

criaderos generadores de *A. albimanus*, para de esta forma disminuir la incidencia de la enfermedad. Se utilizaron como controles las densidades larvianas pretratamiento, comparándolas entonces con las densidades postratamiento biológico.

Con el propósito de obtener los mejores resultados posibles se desarrollaron las aplicaciones en las cinco Unidades Productoras de Salud (UPS), que históricamente presentaron la mayor incidencia parasitaria anual (IPA). Estas UPS ubicadas dentro del estrato malárico de alto riesgo fueron: Ojo de Agua, Villa de San Francisco, San Juan de Flores, Moroceli y El Jicarito. Es importante destacar que en el resto de las UPS (no tratadas) pertenecientes a esta área de salud, los valores de la IPA fueron realmente bajos (0-2), en relación con las 5 UPS tratadas (36,68-45,64). Razón por la cual estas UPS no pudieron ser utilizadas como control, pues desde el punto de vista estadístico era imposible establecer una comparación significativa. Para resolver este inconveniente se utilizó como control la IPA registrada en estas cinco UPS durante varios años anteriores (1995, 1996, 1997 y 1998), y se compararon estadísticamente con la IPA determinada para 1999.

Para estudiar el posible impacto epidemiológico tras la aplicación del biolarvicida, se utilizaron 3 de los indicadores maláricos más empleados (IPA, ILP e IAES). La incidencia parasitaria anual (IPA) se determina dividiendo el número de casos de malaria diagnosticados (gota gruesa) 1 un año, entre el número total de habitantes de la localidad, multiplicado por 1 000. La IPA constituye de esta forma, el más importante indicador que refleja la tasa de incidencia malárica anual por cada 1 000 habitantes.

El índice de láminas positivas (ILP) se calcula dividiendo el número de láminas positivas a malaria, entre el total de muestras examinadas, por 100. Este indicador expresa la eficiencia de la toma de muestra (gota gruesa) para el diagnóstico de la enfermedad, y no tiene una relación directa con el IPA. Mientras mayor sea el ILP, mayor será la eficiencia de la toma de muestra, porque se estará realizando la gota gruesa en aquellos pacientes que realmente presentan los síntomas característicos de la malaria.

El índice anual de exámenes de sangre (IAES), se determina dividiendo el total de muestras examinadas para el diagnóstico (independientemente de su resultado), entre el total de habitantes de la localidad, también multiplicando el resultado por 100. Si la eficiencia de la toma de muestra (ILP) es aceptable, o se mantiene similar al reporte de años anteriores, debe existir una relación directa entre la IPA y el IAES, pues al existir menos casos, se toman menos láminas.

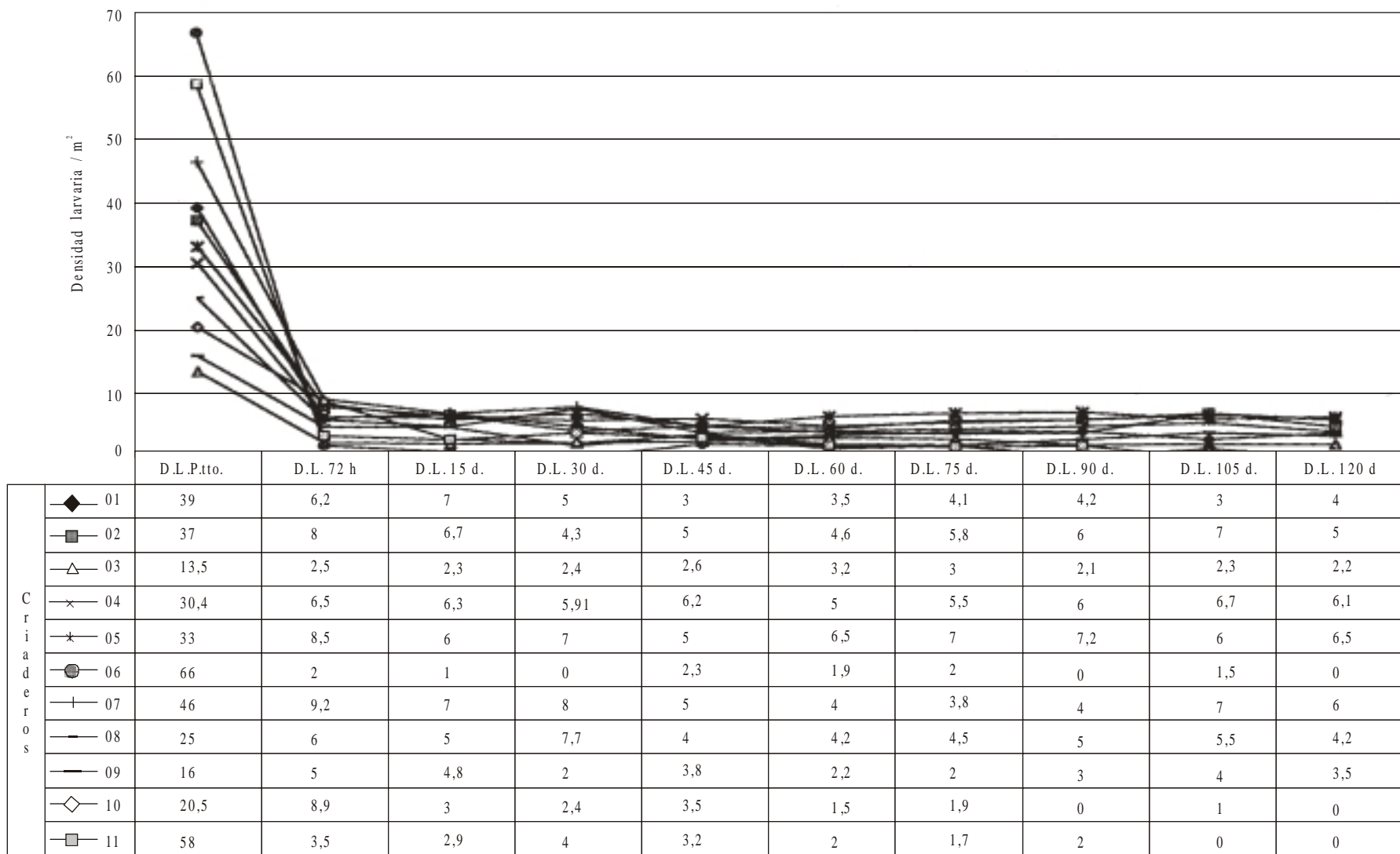
Los 3 indicadores maláricos (IPA, ILP e IAES) determinados de forma general para las 5 UPS tratadas durante 1999, fueron comparados estadísticamente con los de años anteriores (1995, 1996, 1997 y 1998). El procesamiento estadístico se realizó mediante un análisis de proporciones múltiples de medias, con prueba de Duncan acoplada.¹⁶

RESULTADOS

Transcurridas las primeras 72 h postratamiento biológico se observó una reducción de las densidades larvianas (D.L.72 h) para el IV estadio en cada criadero, encontrándose de 2-9,2 larvas por m². Posteriormente a intervalos de 15 d continuaron monitoreándose estas densidades larvianas postratamiento (D.L. 15 d, D.L. 30 d, D.L. 45 d, D.L. 60 d, D.L. 75 d, D.L. 90 d, D.L. 105 d y D.L. 120 d), manteniéndose igualmente bajas entre 0-7,7 larvas/m² (fig. 1).

Por no contar el estudio con criaderos controles, dada la importancia que reviste para el control de la malaria el tratamiento de 100 % de los criaderos generadores de anofelinos, se muestran para cada criadero, las densidades larvianas pretratamiento (D.L.P.tto.) del IV estadio, las cuales oscilaron entre 13,5-66 larvas/m² (fig. 1).

A los 4 meses postratamiento biológico se apreció entre 52-87 % de efectividad sobre el I-III *instar*, mientras que sobre el IV estadio la reducción larvaria fue de 78,12-100 % (fig. 2). Esta elevada mortalidad registrada sobre el IV estadio determinó que no se observaran pupas (100 %), se interrumpió de esta forma el ciclo biológico del mosquito *A. albimanus*, reportándose una efectividad de 100 % en los 11 criaderos monitoreados (fig. 2).



D.L.P.tto.: densidad larvaria pretratamiento, D.L.: densidad larvaria.

Fig. 1. Densidades larvarias (IV estadio) por criadero durante las fases de pretratamiento y postratamiento biológico.

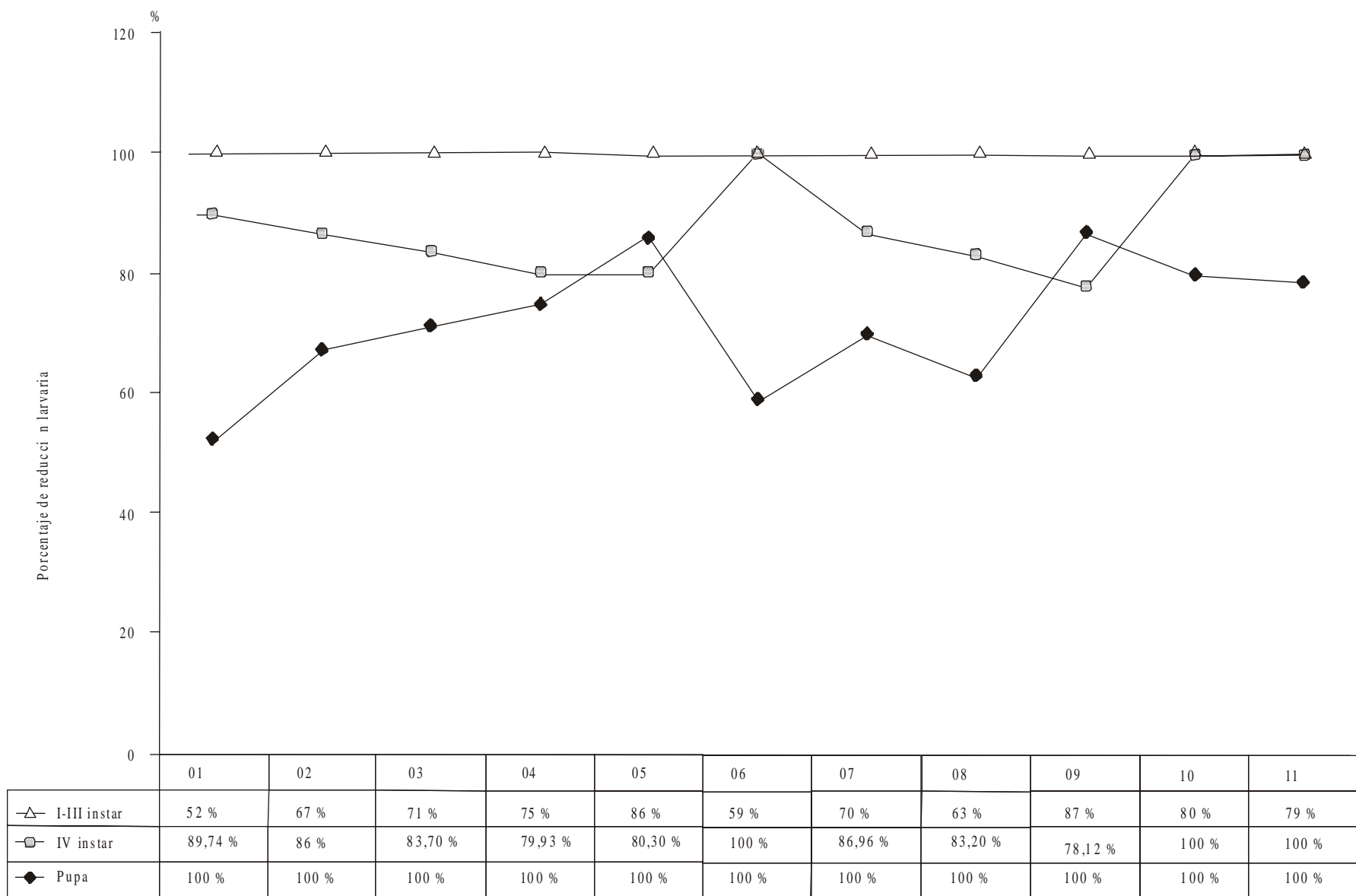
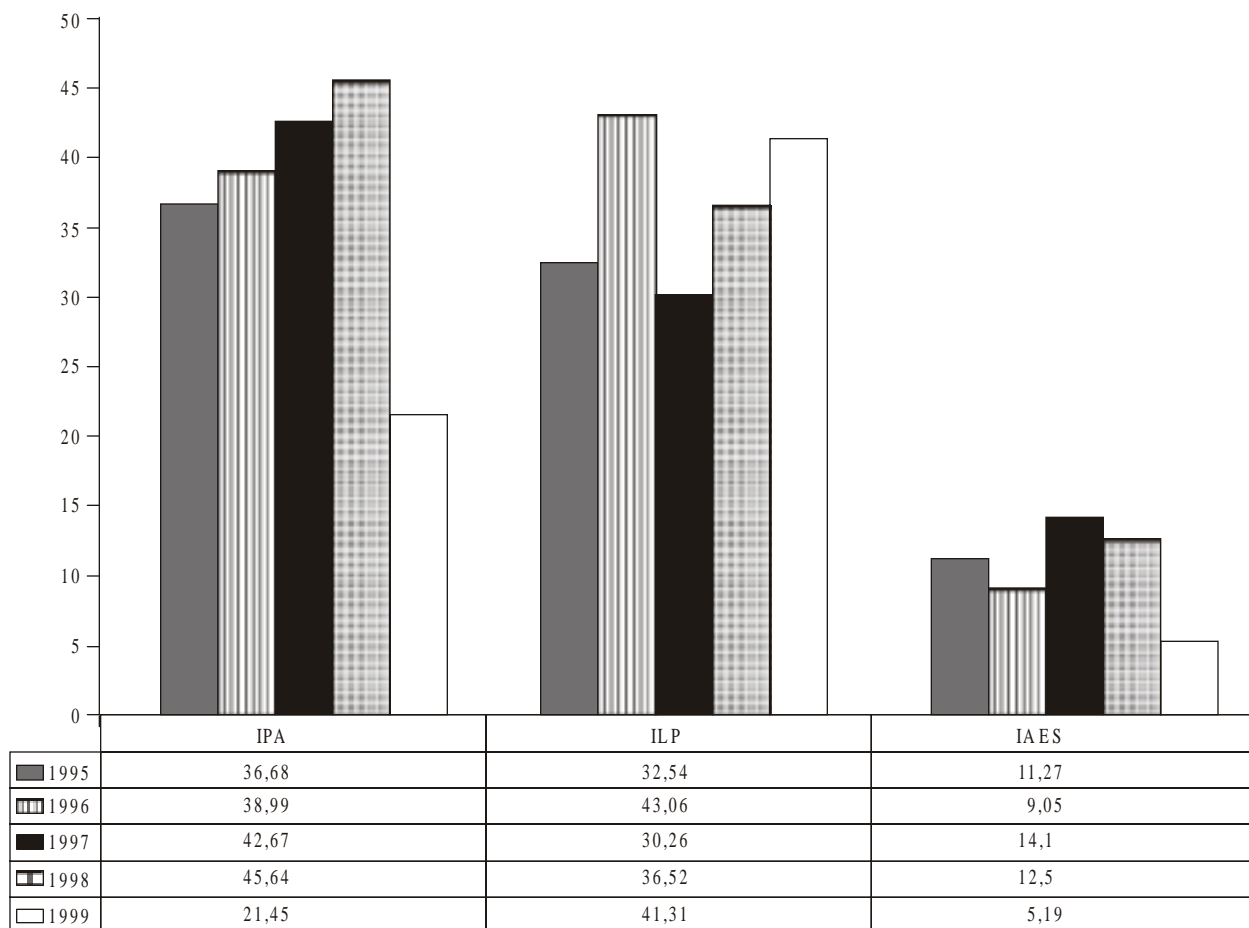


Fig. 2. Porcentajes de reducción larvaria de *Anopheles albimanus* transcurridos 4 meses de aplicado el biolarvicida *Bacillus sphaericus* – 2362 (GRISELESF).

El biolarvicida aplicado en las cinco UPS del Área de Salud No. 2 /Región Sanitaria No. 1 del MSH, mostró una permanencia de hasta 4 meses. Se observó además, su inocuidad para el resto de los organismos hidrobiontes depredadores de larvas de mosquitos, como peces e insectos (Coleóptera, Hemíptera y Odonata), presentes en los criaderos estudiados.

La incidencia parasitaria anual (IPA) calculada de forma general para las 5 UPS del Área de Salud No. 2 /Región Sanitaria No. 1 del MSH, denota el aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$)

experimentado por este indicador malárico durante los años 1995 (36,68), 1996 (38,99), 1997 (42,67) y 1998 (45,64) (fig. 3). Es importante señalar que durante ese período de 4 años, el control de los vectores transmisores de la malaria se basaba fundamentalmente en el empleo de insecticidas químicos. Sin embargo, el empleo del biolarvicida *B. sphaericus*-2362 durante 1999, propició una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,01$) de la IPA hasta 21,45, lo cual se corresponde con una reducción de 53 % de los casos de malaria en relación con el año anterior (fig. 3).



IPA: incidencia parasitaria anual, ILP: índice de *l*áminas positivas, IAES: índice anual de exámenes de sangre.

Fig. 3. Consolidado de los principales indicadores maláricos durante el período 1995-1999 en las 5 unidades productoras de salud.

El índice de láminas positivas (ILP) calculado de forma general para las 5 UPS durante los años 1995 (32,54), 1996 (43,06), 1997 (30,26), 1998 (36,52) y 1999 (41,31), no evidenció diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Esto indica que la eficiencia de la toma de muestra (gota gruesa) para el diagnóstico de la malaria, fue similar en estos años (fig. 3).

El índice anual de exámenes de sangre (IAES) determinado también de forma general para las 5 UPS en los años 1995 (11,27), 1996 (9,05), 1997 (14,1) y 1998 (12,5), experimentó en 1999 (5,19) una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en relación con los años anteriores, representando además, una reducción de 58,48 % en comparación con 1998 (fig. 3).

DISCUSIÓN

La aplicación del biolarvicida *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF) en 1999, para el control biológico del vector malárico *Anopheles albimanus*, en 5 UPS pertenecientes al Área de Salud No. 2 / Región Sanitaria No. 1 del MSH, demostró una efectividad de 100 %, una permanencia de hasta 4 meses postratamiento, y la inocuidad del producto para otros organismos acuáticos (como los peces e insectos depredadores de larvas de mosquitos).

Estos satisfactorios resultados coinciden con los reportados por *Montero-Lago G* y otros (1991), donde aplicaron en pilotaje 1 800 L del mencionado biolarvicida en 160 criaderos de mosquitos, pertenecientes al municipio de Santa Cruz del Norte, provincia La Habana (Cuba). De los focos trabajados, 157 eran de *Culex quinquefasciatus*, 2 criaderos mixtos de *C. quinquefasciatus* y *Anopheles albimanus* y otro de *Aedes taeniorhynchus*. Estos criaderos estaban conformados por 1 río, 2 lagunas de oxidación, 1 laguna, 4 presas, 2 micropresas y 150 fosas. Los investigadores encontraron mortalidades de 100 % hasta por 5 meses en criaderos sin corriente, demostrándose además, la inocuidad para otros hidrobiontes.¹¹

También en el lago Xolotlan-Managua de la República de Nicaragua en 1995, fue comprobada la efectividad y la permanencia del biolarvicida *B. sphaericus*-2362 (GRISELESF), aplicado en 11 criaderos de *Anopheles albimanus*: 9 criaderos pertenecientes al sector occidental, 1 zanja del sector

oriental y 1 laguna. Los resultados fueron óptimos tanto durante los rociados aéreos como terrestres. Se obtuvo una reducción general de 88-100 % de las densidades larvianas del mencionado vector, transcurridos hasta 3 meses postratamiento.¹²

Este bioplaguicida ha sido estudiado en el Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud, y en el Centro de Investigaciones Microbiológicas de la Universidad de los Andes de Santafé de Bogotá (Colombia), frente a las especies *Anopheles albimanus* y *Culex quinquefasciatus*, resultando una actividad biológica de 100 % de mortalidad. Este producto fue evaluado también en la ciudad de Buenaventura frente a las especies *Anopheles nuñeztovari* y *A. albimanus*, observándose en criaderos urbanos y periurbanos de este municipio colombiano, la elevada efectividad y una permanencia de hasta 3 meses.¹³

Los buenos resultados epidemiológicos obtenidos en 1999 en las 5 UPS del Área de Salud No. 2 / Región Sanitaria No. 1 del MSH, sobre la reducción de 53 % de los casos de malaria respecto al año anterior, 1998, se corresponden con los registrados en la República de Nicaragua. Los boletines epidemiológicos del Sistema Local de Asistencia en Salud (SILAIS) de Managua en 1997, después de la aplicación del biolarvicida *B. sphaericus*-2362 (GRISELESF) como control biológico de los vectores maláricos, reportaron una reducción de 50 % de los casos de malaria en relación con los años 1995 y 1996.¹²

Los resultados entomológicos obtenidos en el Área de Salud No. 2 / Región Sanitaria No. 1 del MSH, tras la aplicación del biolarvicida *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF), unido al impacto epidemiológico determinado sobre la reducción de la incidencia malárica, permiten recomendar su empleo como parte de los programas integrados para el control de esta enfermedad en la República de Honduras, extendiendo su posible empleo para Centroamérica.

AGRADECIMIENTOS

A la doctora Grisel Montero Lago y la licenciada María del Carmen Marqueti por la colaboración prestada en la revisión del manuscrito, así como al doctor Rafael de la Vega por el procesamiento estadístico de los resultados obtenidos en este estudio.

SUMMARY

The results of the application of biolarvicide *Bacillus sphaericus*-2362 (GRISELESF) for the reduction of larval densities of *Anopheles albimanus* as the impact on the epidemiological situation of the disease in health area 2, Sanitary Region 1 of the Ministry of Health Care of Honduras. The biolarvicide was applied in 1999 in five health units which were the most affected by this tropical disease (Ojo del Agua, Villa de San Francisco, San Juan de Flores, Moroceli and El Jicarito). The dose used was 10 ml per square meter of effective breeding area; larval densities were estimated during biological pre- and post-treatment phases. The product showed 100 % effectiveness and a lasting effect up to four months after treatment in the 11 monitored breeding sites. This entomological impact led to a significantly statistical reduction ($p < 0,01$) of annual parasite incidence in 1999 (21,45) as compared with 1998 (45,64) in the five treated units. It was also observed that this product was harmless to *Anopheles albimanus* larva-eating fish and insects (Coleóptera, Hemíptera and Odonata). The satisfactory entomological and epidemiological results in this health area allowed recommending this biological method as part of the comprehensive programs for the control of malarial vectors in the Republic of Honduras.

Subject headings: ANOPHELES, EPIDEMIOLOGIC SURVEILLANCE; LARVA; PEST CONTROL, BIOLOGICAL.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nussenzweig RS, Zavala F. A malaria vaccine based on a sporozoite antigen. *New Engl J Med* 1997;336:128-30.
- Organización Mundial de la Salud. La lucha contra el Paludismo. *Bol Oficina Sanit Panam* 1994;116(6):477-82.
- Pan American Health Organization. Malaria in the Americas. *Epidemiol Bull* 1996;71:1-6.
- Honduras, Ministry of Health. Internal surveillance report. Tegucigalpa: HMH; 1997.
- Dourado HV, Abdon NP, Martins SJ. Falciparum malaria. *Infect Dis North Am* 1994;8:207-23.
- Palmer CJ, Makler M, Klaskala WI, Lindo JF, Baum MK, Ager AL: Increased prevalence of *Plasmodium falciparum* malaria in Honduras, Central America. *Rev Panam Salud Publica* 1998;4(1):40-2.
- Nguyen-Dinh P, Hobbs JH, Campbell CC. Assessment of chloroquine sensitivity of *Plasmodium falciparum* in Choluteca, Honduras. *Bull World Health Organ* 1981;59:641-6.
- Organización Panamericana de la Salud. División de Prevención y Control de Enfermedades, Programa de Enfermedades Transmisibles. Situación de las enfermedades de mayor riesgo epidemiológico en el período post-Mitch. Países de Centroamérica, 1998. Segundo Informe. Washington DC: OPS; 1998.
- National Academy of Sciences. Manejo y control de plagas de insectos. 8va reimpresión Vol 3. México. DF: Edit LIMUSA; 1993;461-95.
- Perich MJ, Boobar LR, Stivers JC, Rivera LA. Field evaluation of four biorational larvicide formulations against *Anopheles albimanus* in Honduras. *Med Vet Entomol* 1990;4(4):393-6.
- Montero Lago G, Díaz Pérez M, Marrero Figueroa A, Castillo González FA. Resultados de las aplicaciones en pilotaje del biolarvicide *Bacillus sphaericus* 2362 en criaderos de mosquitos del municipio de Santa Cruz del Norte (provincia La Habana). *Rev Cubana Med Trop* 1991;43(1):39-44.
- Rivera P. Evaluación de la efectividad biolarvicide y residualidad de *Bacillus sphaericus* (cepa-2362) para el control de *Anopheles albimanus* en la costa del lago Xolotlan, Managua, Nicaragua, 1995. *Rev Nica Ent* 1997;42:7-14.
- Villareal LI. *Bacillus sphaericus*: para el control de vectores de enfermedades tropicales. *Rev Latinoam Salud Saneamiento Ambiental* 1995;(1):12-4.
- Organización Mundial de la Salud. Lucha biológica contra los vectores de enfermedades. Serie de Informes Técnicos No. 679, Ginebra; 1982.
- Mulla MC. Control of *Chironomid midgon* in recreational lakes. *Journ Econ Entom* 1971;(14):300-7.
- Quenouille MH. Introductory statistics. La Habana: Instituto del Libro; 1966:249. (Edición revolucionaria).

Recibido: 27 de octubre de 2000. Aprobado: 13 de noviembre de 2001.

Dr. Sergio D. Blanco Castro. Laboratorios Biológicos Farmacéuticos (LABIOFAM). Avenida Independencia km 16½, Boyeros, Ciudad de La Habana, Cuba. Apartado 17 200. Telefax: (537) 335748. Correo electrónico: desarrollo@labiofam.com.cu