

Rev Cubana Med Trop 2005;57(3):

Unidad Provincial de Vigilancia y Lucha Antivectorial, Sancti Spíritus

Control de culícidos con el empleo de *Bacillus thuringiensis* SH-14 var. *israelensis* en criaderos permanentes de la localidad de Fomento, provincia Sancti Spíritus, Cuba

[Lic. Carlos Alberto Cruz Pineda,¹](#) [Lic. Grisel Montero Lago,²](#) [Lic. Agustín Navarro Ortega³](#) y [Lic. Pedro Lorenzo Morejón Martín⁴](#)

Resumen

Se realizó una evaluación ecológica de tendencia temporal retrospectiva y descriptiva del período 1999-2000, en 8 cuerpos de agua de la localidad de Fomento, provincia Sancti Spíritus. Para evaluar la efectividad y permanencia del biolarvicida, se utilizaron datos de muestreos sistemáticos y de acciones de control de los programas provinciales de vigilancia y lucha antivectorial, recogidos en los expedientes de cada criadero en la Unidad Municipal de Higiene y Epidemiología de la localidad. Se aplicaron dosis de 10 mL de ingrediente activo por metro cuadrado, alcanzándose la reducción y estabilización de los índices larvales y de adultos en cebo humano, de importantes especies vectoras de malaria, filariais, y fiebre del Nilo occidental. Se comprobó la extensión del rango de recuperación larval hasta las 3 semanas.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, culícidos, control biológico, ecología, vectores, Cuba.

De las especies vectoras, los culícidos constituyen el grupo más numeroso, siendo responsables de la transmisión de importantes enfermedades al hombre.¹⁻⁴ Ante el impacto ecológico provocado mundialmente sobre la biosfera, la popularidad de los métodos químicos para el control de plagas ha decaído. En su lugar se promueven nuevas soluciones que incluyen el empleo de agentes de control biológico, alternativa que crece rápidamente como estrategia de lucha antivectorial.⁵

Entre los agentes más novedosos se encuentran las bacterias esporógenas; *Bacillus thuringiensis* SH14 var. *israelensis* ha demostrado una marcada eficacia y efectividad en la reducción de las densidades larvales en diferentes hábitat y contra numerosas especies de mosquitos.^{6,7}

Antes de las aplicaciones de *B. thuringiensis*, el control de larvas en criaderos permanentes de la localidad de Fomento, se alcanzaba con el empleo de temephos 2 % y petrolizaciones. Esto provocaba la inestabilidad de los hábitats con altos consumos de plaguicidas, contaminación ambiental y afectaciones a la fauna acompañante. Las experiencias con el control biológico eran escasas y puntuales, basadas en la siembra deliberada de peces.

Por su alta diversidad de culícidos Fomento se mantiene bajo una activa vigilancia entomológica, siendo considerada un área de riesgo epidemiológico permanente. Se registran tradicionalmente los mayores índices larvales de la especie, *Anopheles albimanus* (Wiedemann, 1823), principal vector de la malaria

en el Caribe.⁸

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el impacto provocado por las aplicaciones de *B. thuringiensis* SH-14 sobre los índices de culícidos, así como, del resto de la fauna acompañante (peces larvívoros, insectos acuáticos y moluscos fluviales), presentes en los cursos superficiales de esta localidad durante el período 1999 -2000.

Métodos

El estudio se basó, en una evaluación ecológica de tendencia temporal, retrospectiva y descriptiva del período 1999-2000, en 8 cuerpos de agua de la localidad de Fomento, provincia de Sancti Spíritus. Para evaluar la efectividad y permanencia del biolarvicida, se utilizaron datos de muestreos sistemáticos y de acciones de control, recogidas en los expedientes de cada criadero en la Unidad Municipal de Higiene y Epidemiología de la localidad.

Los índices larvales se determinaron semanalmente a través del método del cucharón,⁹ en puntos preestablecidos en cada criadero. Las muestras colectadas se conservaron en alcohol 70 % para su posterior identificación en el laboratorio. Los porcentajes de reducción larval se estimaron mediante la fórmula de Harrison.¹⁰ Los mosquitos adultos se monitorearon quincenalmente por el método de cebo humano,¹¹ en puntos próximos a cada curso superficial.

Las aplicaciones del biopreparado se realizaron con equipos de aspersión manual según los resultados de los muestreos periódicos, a razón de 10 mL de ingrediente activo por metro cuadrado.

Se realizaron muestreos periódicos (enero, mayo y septiembre), para determinar la influencia de las aplicaciones sobre la fauna acompañante. En peces e insectos acuáticos se cuantificó el número de individuos por lance, empleando un jamo de 50 por 40 cm y mango de 1,5 m de largo. En moluscos se determinó el número de individuos por unidad de esfuerzo en 15 min mediante un colador de bronce de 15 cm de diámetro, malla de 1 mm y mango de 1,5 m de longitud.

Se compararon los resultados de las variables densidad larval, densidad picada hora y la frecuencia de los tratamientos. Se correlacionó el comportamiento de las variables abióticas de los datos climáticos e indicadores fisicoquímicos del agua.

Para el procesamiento estadístico de los datos se empleó el programa computarizado Statistica (Estatística, ver 0.1. Windows, 2000). El ajuste de la normalidad se determinó a través del *test* de Kolmogorv-Smirnov. Para corroborar las diferencias entre variables, se aplicó el *test* de Wilcoxon. El resto de las diferencias se determinó a través de la prueba t para muestras dependientes, considerándose un nivel de significación de $\alpha = 0,05$.

Resultados

Se identificaron 15 especies de culícidos pertenecientes a 5 géneros en las fases de larvas y adultos (tabla 1). El género *Culex* fue el más representado con 9 especies y los menos abundantes, *Uranotaenia* y *Mansonia* con una especie en cada caso.

Tabla 1. Especies de culícidos según la fase de desarrollo, detectadas durante el período de estudio 1999-2000. Fomento, provincia de Sancti Spíritus

Especie

Estadios

	Larva	Adulto
<i>Culex quinquefasciatus</i> Say, 1823	x	x
<i>Culex nigripalpus</i> Theobald, 1901	x	x
<i>Culex corniger</i> Theobal 1903	x	
<i>Culex erraticus</i> Dyar et Knab, 1909	x	x
<i>Culex atratus</i> Theobald, 1901	x	
<i>Culex pilosus</i> Dyar et Knab, 1909	x	
<i>Culex chidestri</i> Coquillett, 1896	x	
<i>Culex iolambdis</i> Dyar, 1918	x	
<i>Culex tarsalis</i> Coquillett, 1896	x	
<i>Anopheles albimanus</i> Wiedemann, 1821	x	x
<i>Anopheles vestitipennis</i> Dyar et Knab, 1906	x	x
<i>Mansonia titillans</i> Walquer, 1848	x	x
<i>Psorophora confinnis</i> Lynch-Arribazalga, 1891	x	x
<i>Psorophora infinnis</i> Dyar et Knab, 1906	x	
<i>Uranotaenia sapphirina</i> Osten-Sacken, 1868	x	

Las aplicaciones con *B. thuringiensis* mostraron alta efectividad logrando reducciones larvales superiores a 95 % antes de las 72 h (fig. 1). Los mejores resultados se observaron en ríos y cañadas con 100 % de efectividad, los valores menos favorecedores se registraron en las zanjas.

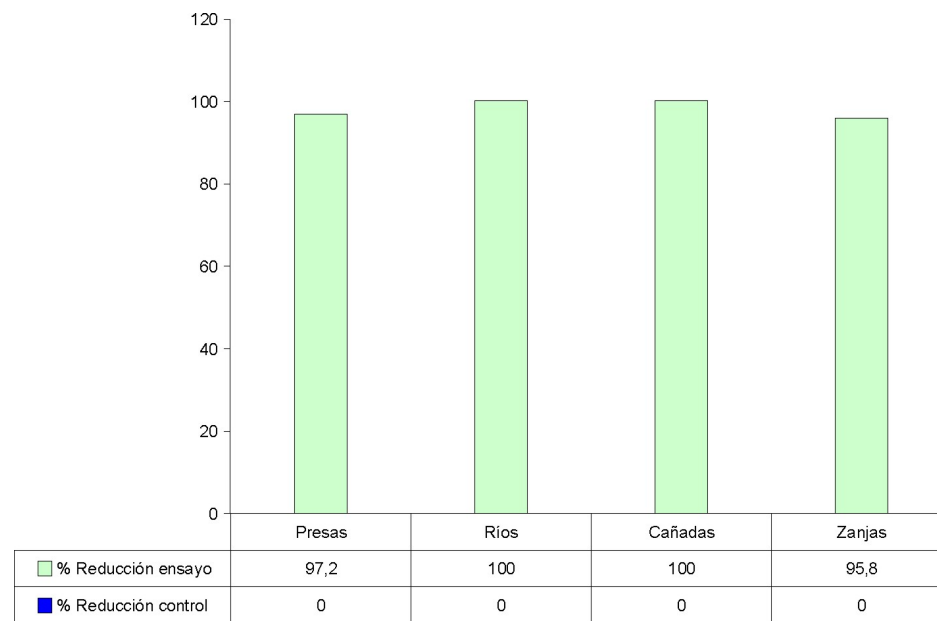


Fig. 1. Porcentajes de reducción larvaria promedio transcurrido 1 año de aplicado el *Bacillus thuringiensis* SH-14 var. israelensis en 4 grupos diferentes de hábitat en la localidad de Fomento, provincia de Sancti Spíritus, 2000.

Con las aplicaciones de *B. thuringiensis* durante 2000 se redujeron y estabilizaron los índices larvales (fig. 2). Observándose un rango de recuperación larval más prolongado que el alcanzado hasta la fecha. Este comportamiento difiere al del año precedente, en el que se registraron elevados picos con marcada inestabilidad.

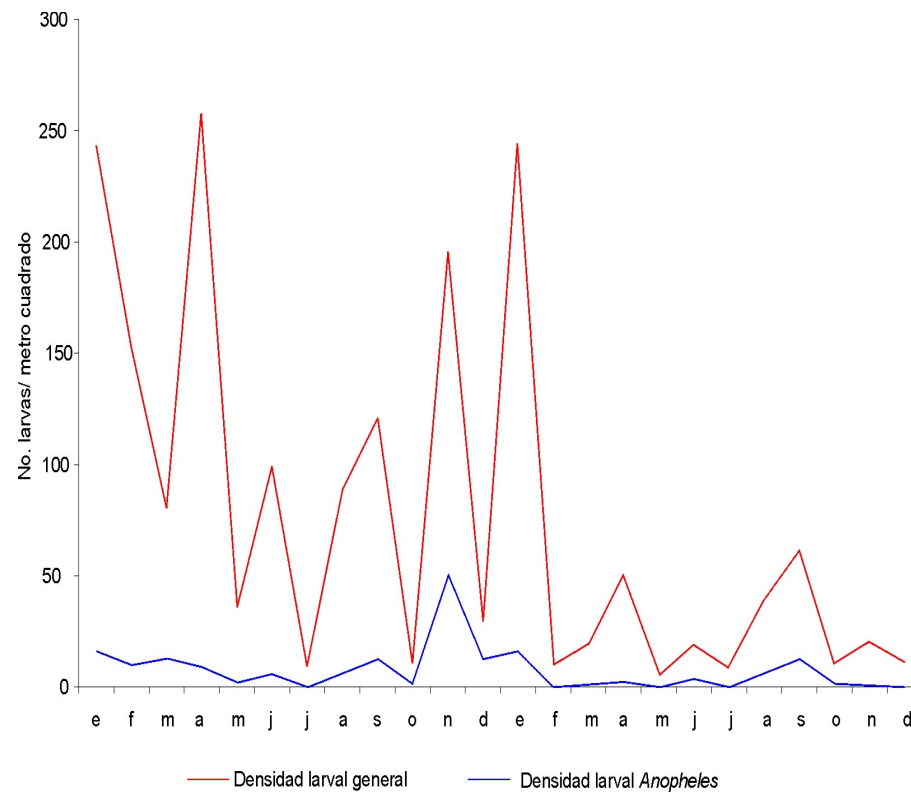


Fig. 2. Comportamiento de la densidad larval en criaderos permanentes de culícidos, localidad de Fomento 1999-2000.

La dinámica de los mosquitos adultos sufrió un cambio durante el período de estudio. En 1999 la media anual de la densidad picada hora (d.p.h.), fue de 10,2. Con el inicio de las aplicaciones de *B. thuringiensis* en el año 2000, se observó una reducción progresiva del indicador alcanzando una media anual de 6,3 d.p.h. (fig. 3).

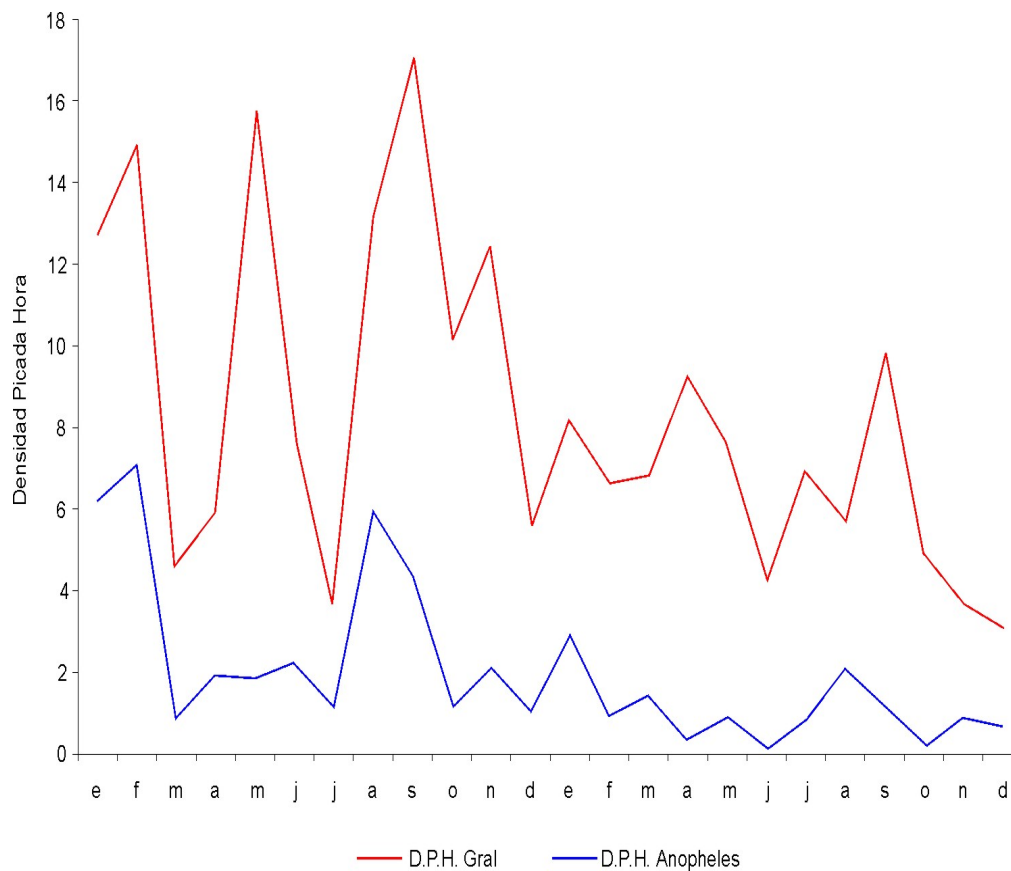


Fig. 3. Comportamiento de la densidad picada hora en puntos de monitoreo cercanos a los criaderos permanentes de culícidos, localidad de Fomento 1999 - 2000.

En relación con las variables climáticas el indicador de precipitaciones pluviales, fue el único que mostró un comportamiento atípico respecto al promedio histórico, siendo menor de lo esperado ($p < 0,05$) para la época de seca. En el período lluvioso también se comportó de forma atípica ($p < 0,01$) lloviendo más de lo esperado en relación con el promedio histórico (tabla 2).

Tabla 2. Valores de los parámetros físico-químicos de los criaderos estudiados. Fomento, provincia Sancti Spíritus 1999 - 2000

Hábitats	Rango de valores
pH	Temperatura °C
Presas	

No. 1	6,8 – 8,3	19,9 – 31,6
No. 2	7,9 – 8,1	20,1 – 31,0
Ríos		
Río No. 1	6,5 – 7,8	21,4 – 32,1
Río No. 2	6,9 – 8,5	21,7 – 31,4
Cañadas		
Cañada No.1	6,7 – 8,3	20,1 – 31,5
Cañada No.2	7,0 – 8,1	20,7 – 32,0
Zanjas		
Zanja No.1	7,3 – 10,8	20,4 – 32,3
Zanja No.2	7,2 – 9,4	21,0 – 31,8

Los indicadores abióticos pH y temperatura (tabla 3), mostraron un amplio rango de valores durante el período de estudio. El pH fluctuó entre 6,5 y 9,8, de igual forma la temperatura varío de 19,9 hasta 32,3 °C.

Tabla 3. Comportamiento de las variables climáticas durante el año 2000. Fomento, provincia Sancti Spíritus

Variable climática	2000		Período histórico		
	Seca	Lluvia	Período	Seca	Lluvia
Temperatura media anual °C	23,2	25,9	(1977- 2000)	22,6	25,8
Precipitaciones pluviales totales (mm)	254,2 *	1458,1 **	(1977- 2000)	289,6	1298,2

Humedad relativa media mensual (%)	80	83	(1977- 2000)	80	84
Dirección predominante del viento	E *	E	(1977- 2000)	N	E
Velocidad del viento media anual (km/h)	11,9	6,5	(1977- 2000)	9,1	6,3

En el caso de la fauna acompañante (tabla 4), no se produjeron alteraciones significativas en el número de individuos ni de las especies de los grupos encontrados.

Tabla 4. Comportamiento de las poblaciones de especies acompañantes antes y después de aplicaciones de *B. thuringiensis* var. *israelensis*. Fomento, provincia Sancti Spíritus, 2000

Hábitats	Peces						Insectos acuáticos						Moluscos					
	No. de muestreos						No. de muestreos						No. de muestreos					
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	No. de individuos.	No. de especies	No. de individuos	No. de especies	No. de individuos.	No. de especies	No. de individuos	No. de especies	No. de individuos.	No. de especies	No. de individuos.	No. de especies	No. de individuos.	No. de especies	No. de individuos	No. de especies	No. de individuos	No. de especies
Presa 1	18	4	13	4	16	4	15	8	19	7	21	8	63	7	71	7	69	7
Presa 2	12	3	9	3	11	3	18	6	11	5	17	6	36	6	39	6	31	6
Zanja 1	15	1	13	1	12	1	16	3	19	3	15	3	16	3	10	3	12	3
Zanja 2	16	1	14	1	15	1	18	4	23	3	15	4	17	4	13	4	19	4
Río 1	19	5	14	5	17	5	23	9	21	7	18	8	36	8	33	8	39	8
Río 2	12	4	9	4	11	4	16	10	11	8	20	10	49	7	42	7	46	7
Arroyo 1	28	5	19	5	26	5	19	7	22	6	24	7	55	6	64	6	61	6
Arroyo 2	33	4	26	4	28	4	16	9	10	9	19	9	39	7	31	7	28	7

Total	343	10	117	10	136	10	141	12	136	12	149	12	311	10	303	10	305	10
-------	-----	----	-----	----	-----	----	-----	----	-----	----	-----	----	-----	----	-----	----	-----	----

Discusión

Las reducciones poblacionales superiores a 95 % se produjeron en la totalidad de los hábitats y para todas las especies de culícidos, comportamiento que coincidió con los resultados alcanzados por *Montero* y otros,¹² en Cuba y *Gunasekaran*,¹³ en la India. Se observó la muerte masiva de larvas a las 24 h, lo cual valida el criterio de *Cochc* (Couch T. Mosquito pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*. *Developments in Industrial Microbiology*;1980:22), quien señaló que las mayores mortalidades larvales se producen entre las 24 y 48 h de realizadas las aplicaciones.

Según *De Banjac*,¹⁴ la residualidad del biolarvicida puede oscilar entre 1 y 5 semanas. Esta propiedad pudo influir en la estabilización del indicador larval, incrementando el rango de su recuperación y disminuyendo los picos poblacionales, en relación con el año presente.

Las reducciones larvales no alcanzaron 100 % en las zanjas, lo que pudiera asociarse a la existencia de una alta alcalinidad, factor que según *Venugopal*¹⁵ y otros, limita la actividad de la toxina; no observándose otra interferencia de las variables físicoquímicas en los indicadores larvales.

En el caso de las presas se consideró como factores limitantes la existencia de altas densidades poblaciones de organismos no blanco (ostrácodos, copépodos y poblaciones microbianas) así como, la existencia de altas densidades larvales y de escasos puntos sombreados que según *Beaker*,¹⁶ pueden debilitar la actividad biolarvicida.

Durante 1999 los valores de la d.p.h. mostraron una alta frecuencia de fluctuaciones en un amplio rango de valores. Con la aplicación de *B. thuringiensis* var. *israelensis*, en el año 2000 se alcanzó una estabilización en la dinámica poblacional para las especies presentes. Resultados que los autores de este trabajo consideran exitosos teniendo en cuenta lo planteado por *Hougart*¹⁷ y otros, quienes consideran que la reducción de las poblaciones adultas resulta un indicador de la eficiencia de las acciones de control larvario emprendidas.

El comportamiento atípico de la variable climática precipitación pluvial no impidió alcanzar reducciones larvales significativas durante el período de estudio. Esto pudiera estar influenciado por la sistemática presión del control, lo que según *Montero* y otros,¹² puede regir la variación de los índices larvales en criaderos permanentes. Estudios realizados por *Bradshaw* y otros,¹⁸ y *Shaman* y otros,¹⁹ han demostrado que bajo condiciones de presión, los factores climáticos ven limitada su influencia sobre el patrón de comportamiento estacional de los índices larvales.

El biolarvicida resultó ser efectivo en un amplio rango de valores de los parámetros físicoquímicos y condiciones ecológicas, coincidiendo con *Mulla* y otros,⁶ y *Venugopal*¹⁵ y otros, que solo se vieron limitadas por el alto nivel de alcalinidad del agua en las zanjas.

La fauna acompañante no sufrió afectaciones que se pudieran vincular con la aplicación del larvicida, coincidiendo con los resultados de numerosos estudiosos del tema OMS,²⁰ *Mulla*,²¹ y *Fillinger*.²² Estos han comprobado que desde la introducción del *B. thuringiensis* var. *israelensis* no se ha reportado ni un solo caso de personas o animales envenenados.

Control of culicides by using *Bacillus thuringiensis* SH-14 var *israelensis* in permanent breeding places of Fomento, province of Sancti Spiritus, Cuba

Summary

An ecological evaluation of retrospective and descriptive temporary trend was conducted from 1999 to 2000 in 8 water bodies of Fomento, province of Sancti Spiritus. To evaluate the effectiveness and permanence of the biolarvicide, there were used data of systematic samplings and of control actions of the provincial surveillance and antivectorial fight programs taken from the records of each breeding place in the Municipal Unit of Higiene and Epidemiology of the locality. Doses of 10 ml of active ingredient per square meter were administered. It was attained the reduction and stabilization of the larval and adult indices in human primer of important species which are vectors of malaria, phyliriasis, and Western Nile's fever. The extension of the larval recovery range up to 3 weeks was proved.

Key words: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, culicides, biological control, ehology, vectors, Cuba.

Referencias bibliográficas

1. Jozan M, Evans R, McLean R, Hall R, Tangredi B, Reed L, et al. Detection of west nile virus infection in birds in the United States by blocking ELISA and immunohistochemistry. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2003;(3):99-110.
2. Hardinger KL, Miller B, Storch GA, Desai NM, Brennan DC. West nile virus-associated meningoencephalitis in two chronically immunosuppressed renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2003;(10):1312-5.
3. Enserink M. Infectious diseases: gates pledges \$168 million for malaria research. *Science* 2003;(26):1828.
4. Bi P, Tong S, Donald K, Parton KA, Ni J. Climate variability and transmission of Japanese encephalitis in eastern china. *Vetor Borne Zoonotic Dis* 2002;3(3):111-5.
5. T.D.R. Progress Report 1991-92. Geneva:WHO; 1993.p.1-14.
6. Mulla MS, Frederici A, Darwasch HA, Ede L. Field evaluation of the microbial insecticida *B. thuringiensis* sH-14 again floodwater mosquitoes. *AAP/ Environ Microbiol* 1982;(43):1288-93.
7. Montero G, Espino R, Díaz M. Susceptibilidad comparativa de las especies de mosquitos *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* al *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* H-14 en criaderos de *Anopheles albimanus* Wiedemann, 1821 en condiciones naturales de Cuba. *Rev Cubana Hig Epid* 1986;24(2):165-71.
8. García I. Fauna cubana de mosquitos y sus criaderos típicos. La Habana:Academia de Ciencias de Cuba;1977.p.1-85.
9. OMS. Prevención del dengue y de la fiebre hemorrágica de dengue. Ginebra:División de lucha contra enfermedades tropicales y División de enfermedades transmisibles;1999.p.1-12.
10. ----- . Resistencia de los vectores de enfermedades a plaguicidas. Ginebra:V Informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial;1980.p.13-19. (Series de Informes Técnicos No. 655)
11. Margalef R. Ecología Omega. Barcelona:S.A./ Plató 26;1986.p.112-6.
12. Montero G, Martínez O, Díaz M. Tecnología de producción de *B. thuringiensis* SH-14 var *israelensis*. *Cuba Vet*; 1990:1-40.
13. Gunasekaran K, Prabakaran G, Balaraman K. Efficacy of a floating sustained release formulation of *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* in

- controlling *Culex quinquefasciatus* larvae in polluted water habitats. *Acta Trop* 2002;83(3):241-7.
14. Barjac de H. Toxicite the *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* por les larves the *Aedes aegypti* et the *Anopheles stephensi*. *C.R. Acad Sci Paris* 1978;286D:1175-8.
 15. Venugopal MS, Wolfersberger MG, Wallace BD. Effects of pH-on conformational properties related to the toxicity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin in *Biochim. Biophys Acta* 1159.1992;(2):185-92.
 16. Becker N, Zgomba M, Ludwig M, Petich F. Factors influencing the activity of B.t. H-14 treatments. *J Am Mosq Control Assoc* 1992;8(3):85-9.
 17. Hougard J, Mbentengam R, Lochouarn L, Escaffre H, Darriet F, Barabazan P, et al. Lutte contre *Culex quinquefasciatus* par *B. sphaericus*: resultats d' une campagne piloto dans une grande agglomeration urbaine d' Afrique Ecuatoriale. *Bull WHO* 1993;(71):76-8.
 18. Bradshaw WE, Zani PA, Holzapfel CM. Adaptation to temperate climates. *Evolution Int J Org Evolution* 2004;58(8):1748-62.
 19. Shaman J, Day JF, Stieglitz M, Zebiak S, Cane M. Seasonal forecast of St. Louis encephalitis virus transmission, Florida. *Emerg Infect Dis* 2004;10(5):802-9.
 20. OMS. Mammalian safety of microbial control agents for vector. Report o fan informal consultation. Geneva: WHO/VBC/81;1981.p.820-41.
 21. Mulla AM. Field evaluation and efficacy of bacterial agentes and their formulation against mosquito larvae. London: Academia Press; 1985.p.227-50.
 22. Fillinger U, Knols BG, Becker N. Efficacy and efficiency of new *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* and *Bacillus sphaericus* formulations against Afrotropical anophelines in Western Kenya. *Trop Med Int Health* 2003;(1):37-47.

Recibido: 2 de septiembre de 2004. Aprobado: 30 de septiembre de 2005.

Lic. *Carlos Alberto Cruz Pineda*. Unidad Provincial de Vigilancia y Lucha Antivectorial. Frank País No. 253. Sancti Spiritus. Teléfono: 41 27728. Correo electrónico: ccruz@escambray.sld.cu

¹ [Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Licenciado en Biología. Investigador Adjunto a la Academia de Ciencias.-](#)

² [Doctora en Ciencias. Licenciada en Biología. Investigadora Auxiliar. Laboratorios Biológicos y Farmacéuticos \(LABIOFAM\).-](#)

³ [Licenciado en Biología. Investigador Auxiliar. LABIOFAM.-](#)

⁴ [Máster en Entomología Médica y Control de Vectores. Licenciado en Biología. Instituto Nacional de Higiene de los Alimentos.](#)