

***Romanomermis culicivorax* (Nematoda: Mermithidae): una alternativa para el control de vectores de malaria en Nicaragua**

***Romanomermis culicivorax* (Nematoda: Mermithidae): an alternative for malaria vector control in Nicaragua**

Dr. C. Pedro Rivera Mendoza,^I Dr. Julio Blanco,^I Biol. Sheiky Solís Quant,^I Téc. Gloria Eliseo Astin,^I Dr. C. Israel García Ávila,^{II} Téc. Israel García García,^{II} MSc. Zulema Menéndez Díaz^{II}

^I Instituto de Investigaciones y Difusión de Innovaciones. FUPADE. Nicaragua.

^{II} Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la aparición de casos de malaria en zonas donde se creía controlada, como lo es la Región Autónoma Atlántica Norte en Nicaragua, se debe a múltiples factores como el costo de los productos químicos para el control vectorial, zonas de difícil accesibilidad y altos índices de pobreza. Recientemente existe un marcado interés en disminuir la incidencia y prevalencia de la malaria en esta área, mediante la producción y aplicación de alternativas biológicas de control.

Objetivos: establecer y estandarizar la cría de *Romanomermis culicivorax* para la producción masiva en condiciones de laboratorio y su utilización en criaderos naturales para reducir la población de *Anopheles albimanus* en 3 municipios de la Región Autónoma Atlántica Norte.

Métodos: se utilizaron cultivos de una cepa de *Romanomermis culicivorax* provenientes del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" de La Habana, Cuba. El establecimiento y la producción de esta cepa se hicieron siguiendo la metodología descrita por especialistas cubanos. El trabajo se realizó en 7 criaderos de 5 barrios pertenecientes a los municipios Puerto Cabezas, Waspam y Rosita, desde noviembre de 2009 a marzo de 2011.

Resultados: se estableció y estandarizó la cría del nematodo, utilizando la dosis de infestación de 7:1 (7 pre-parasíticos por larva) en condiciones de laboratorio. La dosis de aplicación en los criaderos fue 1 000 pre-parasíticos/m², demostrando ser adecuada para las condiciones de campo. Se lograron porcentajes de reducción elevados y en menor tiempo en los municipios Waspam y Rosita. Se demostró la permanencia del nematodo en los criaderos.

Conclusiones: se establece por primera vez y con éxito la producción masiva de *Romanomermis culicivorax* en Nicaragua. Los resultados en el terreno demostraron la eficiencia de este nematodo para controlar densidades larvales de *Anopheles albimanus*, lo cual constituye una alternativa de control vectorial.

Palabras clave: *Romanomermis culicivorax*, *Anopheles albimanus*, control biológico, nematodos parásitos.

ABSTRACT

Introduction: the emergence of malaria cases in areas where the disease was thought to be controlled, such as the North Atlantic Autonomous Region in Nicaragua, is due to a variety of factors, such as the cost of chemicals for vector control, the inaccessibility of areas and the high rates of poverty. A marked interest has recently arisen in reducing the incidence and prevalence of malaria in the region by developing and implementing biological control alternatives.

Objectives: establish and standardize the breeding of *Romanomermis culicivorax* for mass production under laboratory conditions and for its use in natural breeding sites to reduce the population of *Anopheles albimanus* in three municipalities of the North Atlantic Autonomous Region.

Methods: the study was based on cultures of a *Romanomermis culicivorax* strain obtained from Pedro Kourí Tropical Medicine Institute in Havana, Cuba. The strain was established and produced following the methodology described by Cuban specialists. The research was conducted at 7 breeding sites from 5 districts in the municipalities of Puerto Cabezas, Waspam and Rosita, from November 2009 to March 2011.

Results: breeding of the nematode was established and standardized with a 7:1 infestation dose (7 preparasites per larva) under laboratory conditions. The application dose at breeding sites was 1 000 preparasites/m², which proved to be appropriate for field conditions. High reduction percentages were obtained. These were achieved in a shorter time in the municipalities of Waspam and Rosita. It was found that the nematodes remained at the breeding sites.

Conclusions: successful mass production of *Romanomermis culicivorax* is established for the first time in Nicaragua. Field results show the efficiency of this nematode to control larval densities of *Anopheles albimanus*, constituting a vector control alternative.

Key words: *Romanomermis culicivorax*, *Anopheles albimanus*, biological control, parasitic nematodes.

INTRODUCCIÓN

La malaria en Nicaragua es provocada principalmente por *Plasmodium vivax*, y en menor número por *Plasmodium falciparum*. En 2008 se notificaron 762 casos de malaria en la nación, constituyendo la Región Autónoma del Atlántico Norte (RAAN) el área con el mayor número de enfermos, 231 infecciones por *P. vivax* y fue además el lugar de origen de 52 de los 61 casos de malaria por *P. falciparum* notificados en el país.¹

A pesar del descenso de la enfermedad en la última década, en la RAAN se concentró 37 % de la transmisión del país en 2008 y según datos suministrados por la dirección de Prevención de Enfermedades del Ministerio de Salud (MINSA), se señalan en 2010 los mayores índices de malaria en la RAAN. Los factores que provocan la persistencia de la malaria son diversos, se destacan algunos como las limitaciones de presupuesto, los problemas logísticos y la escasez de productos de control vectorial en algunas regiones del país.

Los vectores de esta enfermedad son *Anopheles albimanus* y *Anopheles pseudopunctipennis*, este último incriminado en la transmisión en la época de verano en algunas regiones.¹

Durante años las acciones de control de vectores llevadas a cabo en Nicaragua han incluido métodos químicos,² biológicos,^{3,4} y de control físico con participación comunitaria.¹ Recientemente existe un marcado interés en disminuir la incidencia y prevalencia de la malaria en la RAAN mediante la producción y aplicación de alternativas biológicas de control amigables con el ambiente, con bajo costo de producción, fácil manejo y gran efectividad.

En esta búsqueda, *Romanomermis culicivorax* (Ross y Smith, 1976) (Nematoda: Mermithidae) -parásito de larvas de mosquitos ampliamente estudiado y con éxito probado contra un grupo importante de culícidos de importancia médica⁵⁻⁷ resultó ser el agente de control biológico seleccionado para la ejecución del proyecto "Promoviendo la prevención y control biológico de enfermedades de transmisión vectorial en los municipios de Waspam y Puerto Cabezas", desarrollado con el apoyo financiero de la Unión Europea a través del PNUD y la Fundación para el Desarrollo "Rubén Darío" (FUPADE) en coordinación con el Ministerio de Salud (MINSA) y el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK) de Cuba.

Los objetivos de este trabajo eran establecer y estandarizar la cría de *Romanomermis culicivorax* para la producción masiva en condiciones de laboratorio y su utilización en criaderos naturales para reducir la población de *Anopheles albimanus* en 3 municipios de la RAAN.

MÉTODOS

Estructuración del área para la cría y estandarización de Romanomermis culicivorax

Se llevó a cabo la construcción y el montaje de una bioplanta (laboratorio) de 60 m² para la producción del biolarvicida en el Barrio Libertad ubicado al este de la ciudad de Bilwi (coordenadas N: 14°01.400' W: 083°23.226') en el municipio Puerto Cabezas. Con los espacios o áreas requeridos para su funcionamiento siguiente: área de trabajo, área de insectario, área de almacenamiento, área de bodega y área de oficina.

Material biológico

A partir de 18 cultivos de la cepa de *R. culicivorax* (mantenidos en contenedores plásticos de 0,026 m²) provenientes del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" de La Habana, Cuba se llevó a cabo el establecimiento y la producción de cepas de *R. culicivorax* durante 18 meses.

Cria masiva de Romanomermis culicivorax

Este nematodo posee dos etapas en su ciclo biológico: una de vida como parásito y otra de vida libre. En la primera la forma infectiva o pre-parasítica penetra en la larva de mosquito y se desarrolla en el interior, hasta que emerge como forma post-parasítica aproximadamente a los 5 o 7 días posteriores, provocando la muerte de su hospedero. Este post-parasítico que posee vida libre migra hacia el sustrato del criadero para continuar su desarrollo, alcanzar la madurez sexual y realizar la puesta de huevos, de donde emergerá una nueva progenie de pre-parasíticos.

En condiciones de laboratorio se emplearon como hospedero larvas de la especie *Culex quinquefasciatus*, recomendada para la producción masiva del nematodo, por su fácil manipulación y adaptación. Para ello se colectaron larvas y balsas de huevos de esta especie en dos criaderos naturales (pozo y tina) en los barrios San Judas y Libertad del municipio Puerto Cabezas las cuales se trasladaron al laboratorio en frascos plásticos de 1 L de capacidad y fueron colocadas en bandejas plásticas 0,2 m² (56,5 × 36,5 cm) hasta alcanzar el estadio pupal. Tanto las larvas colectadas en el campo como las obtenidas en el laboratorio se alimentaron con una dosis de 10 g de levadura de Lounger o levadura de panificación. Posteriormente se siguió la metodología de Pérez y otros⁸ para el establecimiento y la cría de las cepas de adultos de *Cu. quinquefasciatus* en el insectario.

La preparación del inóculo de pre-parasíticos para la infestación de larvas, en primer y segundo estadio, fue con una dosis de 7:1 según la metodología descrita por Santamarina.⁹ Pasados 5 días aproximadamente se realizó el tamizado de estas larvas infestadas y después la siembra de las formas post-parasíticas en el sustrato lavado y esterilizado. Para esto se dispuso de 78 bandejas de 0,2 m² (56,5 × 36,5 cm), para la infestación de las larvas. Este procedimiento se realizó en las áreas de insectario y de trabajo. Los cultivos de *R. culicivorax* obtenidos se trasladaron al área de almacenamiento donde se mantuvieron en contenedores plásticos durante 6 semanas a temperatura ambiente, para su adecuada explotación, reproducción y aplicación en campo.

Descripción de las áreas de aplicación de Romanomermis culicivorax

Los municipios de Puerto Cabezas, Waspam y Rosita fueron escogidos para la aplicación de este agente de control biológico (Fig.). Los criaderos a tratar eran lagunatos con vegetación, seleccionados en coordinación con los responsables de las enfermedades de transmisión vectorial (ETV) y de los sistemas locales de atención integral en salud (SILAIS). Se georreferenciaron con la ayuda de un GPS y fueron debidamente digitalizados e impresos en mapas.

Municipio de Puerto Cabezas: se trataron dos criaderos en el casco urbano de la ciudad de Bilwi, el primero denominado Sandino I con un área aproximada de 60 m² en el Barrio Sandino (ubicado en el suroeste de la ciudad, coordenadas N: 14°01,60' W: 83°23,483') y Sandino II ubicado en el Barrio *Spanish Town* con un área de 100 m² (ubicado al suroeste, coordenadas N: 14°01,59' W: 83°23,482'). Los últimos casos de malaria en estos barrios se reportaron en 2009 y 2010, respectivamente.



Fig. Municipalidades de la Región Autónoma del Atlántico Norte (RAAN) donde se realizó la aplicación del biolarvicida.

Municipio de Waspam: se seleccionaron 4 criaderos situados en el casco urbano del poblado en el barrio 4 de mayo, situado en las coordenadas N: 14° 44. 01' W: 83°58.2'. En este lugar se reportaron 18 casos de malaria (criaderos Sang I con 100 m², Sang II de 300 m² y Sang III, con 300 m²) y en el barrio Pancasan con 9 casos de malaria reportados se trató el criadero conocido como Masanto, cuya área es de 60 m.² Situado en las coordenadas N: 14° 44. 02' W: 83°58.3'.

Municipio de Rosita: se trató el criadero conocido como Emiliano II, ubicado en el barrio del mismo nombre y en dirección a Minnesota. Localizado en las coordenadas N: 13°56.095' W: 84°24.075'.

Aplicación en los sitios de cría

Previo a cada aplicación, se llevó a cabo un levantamiento entomológico en cada criadero seleccionado y se determinó la densidad larvaria de *An. albimanus*. Para la toma de las muestras se emplearon cucharones entomológicos siguiendo las normas establecidas por la OMS.¹⁰ En las aplicaciones del producto en el campo se empleó una bomba aspersora Hudson X-Pert, boquilla 8002 a una presión de 2 atmósferas. La dosis de aplicación fue de 1 000 pre-parasíticos/m². Se tomaron muestras del sustrato a fin de determinar el reciclaje natural en los criaderos del nematodo y su adaptación a las condiciones ambientales de la zona.

Se calcularon los valores de densidad larvaria (DL) y el porcentaje de reducción o reducción larval (% R) según las fórmulas siguientes:

$$DL = \frac{L}{n \times 0,01}$$

Donde L: total de larvas y n: número de cucharones.

$$\%R = \frac{DLi - DLf}{DLi} \times 100$$

Donde DLi: densidad larvaria inicial y DLf: densidad larvaria final.

RESULTADOS

Se logró establecer una colonia de mosquitos adultos de la especie *Culex quinquefasciatus* y la cepa de nematodo *R. culicivora* en las condiciones de la RAAN, así como estandarizar la cría para las condiciones de nuestro laboratorio. Se infestaron mensualmente 44 bandejas, a razón de 1 500 larvas por bandeja, con una productividad de 210 000 pos-parásitos, por lo que de cada contenedor almacenado pueden obtenerse 3 cultivos nuevos, o sea de 130 recipientes plásticos existentes se pudo obtener 390, para una producción de 3 120 000 pre-parasíticos en cada ciclo de producción; cantidad esta suficiente para tratar 3 120 m² de criaderos permanentes al mes, en dependencia de la capacidad productiva instalada actualmente. En la [tabla 1](#) se resumen las etapas de trabajo en la instalación con los valores de larvas infestadas y pre-parasíticos obtenidos.

Tabla 1. Producciones de *Romanormemis culicivora* en Región Autónoma del Atlántico Norte, Nicaragua, marzo 2009-febrero 2011

Períodos	Larvas de <i>Culex quinquefasciatus</i> infestadas	Total de pre-parasíticos obtenidos
Noviembre-Diciembre 2009	51 000	816 000
Enero-Diciembre 2010	388 200	4 192 255
Enero-Febrero 2011	144 060	617 116

En el criadero Sandino I, se encontró una densidad larvaria inicial de 422 larvas m², una vez aplicado el tratamiento esta disminuyó a 66 larvas/m², lo que representó una reducción larval de 84,3 % ([tabla 2](#)). Debido a intensas lluvias, ocurridas después del tratamiento ocurrió un incremento de la cantidad de larvas (de 66 a 225), lo que motivó otra aplicación del biolarvicida. En este criadero se logró que la producción larvaria se redujera a 93,3 % luego de las aplicaciones realizadas. Hacia el cuarto mes después de la aplicación y en los 10 meses posteriores (fecha de conclusión del trabajo), la densidad larvaria continuó en cero. En el criadero Sandino II, por las mismas razones explicadas antes, también se necesitó de una nueva aplicación ([tabla 2](#)).

La densidad larvaria de 102 larvas/m² en el criadero Sang I del municipio Waspam se redujo 76,4 %, 7 días después de la primera aplicación, no obstante, al mes

siguiente ocurrió un aumento a 133 larvas/m², lo que exigió una segunda aplicación. Posteriormente, debido valores bajos en el porcentaje de reducción (56,3 %), a los 16 días de la segunda aplicación, se hace un tercer tratamiento obteniéndose en este caso 87,9 % de reducción en la densidad larvaria. El factor climático (lluvia intensa) influye en el incremento de la cantidad de larvas y solo en el último de los tratamientos se logra la reducción de la densidad larvaria en 93,1 %. Desde esta fecha, la población larvaria se redujo a 0 en este criadero (tabla 3).

Tabla 2. Aplicaciones de *Romanormemis culicivorax*, densidad larvaria (DL) y porcentaje de reducción (%R) de *Anopheles albimanus* en dos criaderos en el municipio Puerto Cabezas, Nicaragua

Municipio	Criaderos	Primera aplicación	Aplicaciones posteriores										
		DL inicial	DL	%R	DL	%R	DL	%R	DL	%R	DL	%R	
Puerto Cabezas		15/12/09	24/12/09	10/02/10	18/02/10	26/03/10	04/04/10						
	Sandino I	422	66	84	225	47	29	87	51	77	15	93	
		16/03/10	23/03/10	04/05/10	17/05/10								
	Sandino II	153	29	80	102	34	22	78					

DL: densidad larvaria, %R: porcentaje de reducción.

Tabla 3. Aplicaciones de *Romanormemis culicivorax*, densidad larvaria y porcentaje de reducción de *Anopheles albimanus* en criaderos de los municipios Waspam y Rosita

Municipios	Criaderos	Primera aplicación	Aplicaciones posteriores											
		DL inicial	DL	%R	DL	%R	DL	%R	DL	%R	DL	%R	DL	%R
Waspam		02/03/10	10/03/10	03/04/10	19/04/10	26/04/10	13/05/10	19/05/10						
	Sang I	102	24	76,4	133	-30	58	56,3	7	87,9	102	-0,99	7	93,1
		19/04/10	26/04/10	13/05/10	19/05/10									
	Sang II	73	18	75,3	14	80,8	0	100						
		13/05/10	05/06/10	18/07/10	20/08/10	12/10/10	17/01/11							
	Sang III	102	32	68,6	11	89,2	55	46	11	89	4	96		
		17/01/11	01/03/11											
	Masanto	136	2	98,5										
Rosita		24/01/11	01/03/11											
	Emiliano II	215	12	94,4										

DL: densidad larvaria, %R: porcentaje de reducción.

En el criadero Sang II, aledaño al primero, la densidad inicial fue de 73 larvas/m². Luego de la primera aplicación del nematodo se obtuvo una reducción larval de 75,3 %, esta disminución fue mantenida hasta que la densidad larvaria se redujo a 0, permaneciendo este criadero negativo 9 meses después de esta aplicación. Por otro lado, en Sang III se mostró una disminución gradual de la densidad larvaria en el tiempo con un ligero incremento hacia los 93 días posteriores a la primera aplicación. Sin embargo, como puede apreciarse, en la misma tabla, a los 181 días, se ha alcanzado 96 % de reducción de *An. albimanus*. Al igual que en los criaderos anteriores, en febrero de 2011, la densidad de larvas en todos estos criaderos, se ha reducido a 0.

En Masanto, la densidad inicial fue de 136 larvas/m², a los 43 días posteriores a la primera aplicación, esta se redujo a 98,5 % y al igual que los criaderos Sang I, II y III, la población larvaria de *An. albimanus* en este sitio se redujo considerablemente.

En el municipio Rosita, en el criadero Emiliano II, se mostró una densidad larvaria de 215 larvas/m² y a los 7 días posteriores al tratamiento esta disminuyó a 12 larvas/m² para 94,4 % de porcentaje de reducción.

DISCUSIÓN

La familia Mermithidae agrupa una amplia variedad de especies de nematodos que son parásitos obligatorios. Muchos de los miembros de este grupo se pueden considerar como agentes potenciales de control biológico porque presentan especificidad para larvas de mosquitos, el parasitismo que provocan es siempre letal para el hospedero, son completamente inoocuos para la fauna acompañante y poseen capacidad de permanencia después de su introducción en los sitios de cría.^{11,12}

México y Cuba se destacan entre los países latinoamericanos que han realizado un número considerable de estudios de laboratorio y campo con especies de nematodos parásitos, evidenciado su capacidad de reducir altas densidades poblacionales de larvas de mosquitos de los géneros *Anopheles*, *Culex* y *Aedes*.¹³⁻¹⁵ Otros países que reportan resultados positivos luego de la aplicación de este método de control son El Salvador, Colombia y Brasil.¹⁶⁻¹⁸

En Nicaragua *R. culicivorax* no se encuentra en la naturaleza, por lo que su adaptación y producción masiva en las condiciones de laboratorio en la RAAN constituyen un éxito, a la vez de que es la primera bioplanta que se establece en el país. Estos resultados en el establecimiento de la cepa están en correspondencia con los datos obtenidos en las bioplantas de Oaxaca, México¹³ y Roraima, Brasil,¹⁸ así como los obtenidos en condiciones de laboratorio con *Anopheles nuñeztovari* en Venezuela.¹⁹

La dosis empleada en la aplicación en los criaderos demostró ser adecuada para las condiciones de campo en la RAAN, porque se lograron porcentajes de reducción elevados y en periodo corto en 5 de los 7 criaderos tratados. Resultados similares obtuvieron Pérez y otros²⁰ al evaluar dosis de 500 y 1 000 pre-parasíticos/m² en criaderos naturales de mosquitos. Estos autores reportan hasta 82 y 95 % de reducción para cada dosis respectivamente, mientras en Maracaibo, Venezuela,¹⁹ se reporta una efectividad de 95 a 100 %.

La especie *An. albimanus* es más abundante durante los períodos lluviosos, lo cual puede ser debido al incremento de criaderos disponibles,²¹ porque se favorece la formación de criaderos temporales que contribuyen al aumento de las densidades larvianas y la proliferación del mosquito. En nuestros resultados las variaciones del número de larvas en los criaderos tratados podría estar dado por las lluvias intensas ocurridas, lo cual motivó aplicaciones posteriores del nematodo.

La reducción gradual y mantenida durante meses de la densidad larvaria del vector de la malaria en los criaderos, puede explicarse porque en muestras tomadas en el sustrato de los criaderos después de la segunda aplicación se encontró la presencia de post-parásitos de *R. culicivora*, lo cual indica que el nematodo se adaptó favorablemente en los sitios tratados. Esto pudiera garantizar un control efectivo en la población larval de *An. albimanus* y en los casos de malaria. El reciclaje biológico del parásito por 3 y 4 meses está reportado^{20,22} y es una de las ventajas de este método de control.

En los países donde se han realizado este tipo de aplicaciones, como se señala antes, la prevalencia de la malaria se redujo notablemente, en nuestro caso las observaciones indican que se redujo, según datos suministrados por las enfermedades de transmisión vectorial, en los municipios donde se introdujo el nematodo.

Actualmente se continúa la producción del agente biológico en la bioplanta establecida utilizándose este en aplicaciones en criaderos naturales de mosquitos vectores en las comunidades de los municipios estudiados.

AGRADECIMIENTOS

Al apoyo financiero de la Unión Europea a través del PNUD, la Fundación para el Desarrollo "Rubén Darío" (FUPADE) que en coordinación con el MINSA desde junio de 2009 ejecutaron el proyecto: "Promoviendo la prevención y control biológico de enfermedades de transmisión vectorial en los municipios de waspam y puerto cabezas" en coordinación con el MINSA el cual responde a las necesidades manifestadas por el Ministerio de Salud de Nicaragua y los lineamientos generales de OPS/OMS para el milenio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Informe Situación del Paludismo en las Américas. Sección del país Nicaragua; 2008 [citado 13 Abril 2012], Disponible en: <http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Informe-Situacion-Paludismo-Americas—2008-Nicaragua.pdf>
2. Rivera P, López M, Valle S, López D, Espinoza P. Evaluación de la eficacia de Adeal (Pyriproxyfen, S-31183), 0.05 ppm para el control de *Anopheles albimanus* en Nicaragua. Rev Nica Ent. 1996;46:11-22.
3. Rivera P, López M, Valle S, López D, Espinoza P. Evaluación del larvicida y efecto residual de Culinex (BTI-H14, Tableta) y Temephos 1 % sobre *Aedes aegypti* en condiciones simuladas. Rev Nica Ent. 1996;43:31-40.

4. Rivera P, López M, Valle S, López D, Espinoza P. Impacto larvicida de dos formulaciones de *Bacillus sphaericus* (Vectolex C G, Spherimos y Griselef, líquidos), sobre *Anopheles albimanus* en Criaderos Naturales de Nicaragua. Rev Nica Ent. 1996;44:1-24.
5. Ross J, Smith S. A review of the mermithid parasites (Nematoda: Mermithidae) described from North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) with descriptions of three new species. Can J Zool. 1976;54:1084-102.
6. Brown B, Platzer E. Field trials with the mermithid nematode *Romanomermis culicivorax* in California. Mosq News 1977;37:603-8.
7. Platzer EG, Mullens B, Shamseldean M. Mermithid nematodes. In: Grewal P, Ehlers R, Shapiro-Ilan D, editors. Nematodes as biological control agents. Wallingford, UK: CABI Publishing; 2005. p. 411-8.
8. Pérez O, Rodríguez J, Bisset JA, Leyva M, Díaz M, Fuentes O, et al. Manual de indicaciones técnicas para insectarios. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2004.
9. Santamarina A. Cría masiva de *Romanomermis culicivorax* (Nematoda: Mermithidae) en las condiciones tropicales de Cuba. Rev Cubana Med Trop. 1996;48(1):26-33.
10. World Health Organization. Manual on practical entomology in Malaria. Part. II. Geneva: WHO; 1975.
11. Petersen JJ, Willis OR. Procedures for the mass rearing of a mermithid parasite of mosquitoes. Mosq News. 1972;32: 226-30.
12. Paily KP, Chandhiran K, Vanamail P, Kumar NP, Jambulingam P. Efficacy of a mermithid nematode *Romanomermis iyengari* (Welch) (Nematoda: Mermithidae) in controlling tree hole-breeding mosquito *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in a rubber plantation area of Kerala, India. Parasitol Res. 2013;112(3):1299-304.
13. Santamarina A, Pérez-Pacheco R, Honorio M. Susceptibilidad de las larvas de *Aedes aegypti* al parasitismo por *Romanomermis culicivorax* en condiciones de laboratorio y de campo en Oaxaca, México. Rev Panam Salud Pública. 2000;8(5):299-304.
14. Santamarina A, García I, Rivera J, Solís A. Release of *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) to control *Aedes taeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) in Punta del Este, Isla de la Juventud, Cuba. J Med Entomol. 1996;33(4):680-2.
15. Santamarina A, Pérez-Pacheco R. Aplicación del nematodo *Romanomermis culicivorax* (Nematoda: Mermithidae) en criaderos naturales de larvas de mosquitos (Diptera: Culicidae), en el Parque Lenin, Cuba. Folia Entomol Mexicana. 2007;46(3):119-26.
16. Petersen J, Willis R, Chapman C, Fukuda T. Release of *Romanomermis culicivorax* for control of *Anopheles albimanus* in El Salvador. 2. Application of nematode. Amer J Trop Med Hyg. 1978;27:1268-73.
17. Rojas W, Northup J, Gallo A, Montoya E, Restrepo M, Nimnich G, et al. Reduction of malaria prevalence after introduction of *Romanomermis culicivorax*

(Nematode: Mermithid), in larval *Anopheles* habitats in Colombia. Bull WHO. 1987;65(3): 331-7.

18. Santamarina A, Bellini A. Producción masiva de *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) y su aplicación en criaderos de anofelinos en Boa Vista (Roraima), Brasil. Rev Panam Salud Pública. 2000;7(3):155-61.

19. Rojas J, Sojo M, Mazzarri M, Soca L, García I. Susceptibilidad de *Anopheles nuneztovari* Gabaldón y *Aedes aegypti* (L.) a la infección con *Romanomermis iyengari* Welch (Rhabditida: Mermithidae). Invest Clín. 2002;43(4):255-62.

20. Pérez R, Santamarina A, Vásquez A, Martínez S, Suárez J. Efectividad y supervivencia de *Romanomermis culicivorax* en criaderos naturales de larvas de mosquitos. Agrociencia. 2009;43(8):861-8.

21. González Obando R. Influencia de las algas en la densidad larval de *Anopheles albimanus* Wiedemann (Diptera: Culicidae) en un lago de la zona del canal de Panamá. Bol Museo Entomología Universidad del Valle. 2005;2:1-7.

22. Pérez R, Rodríguez C, Lara J, Montes B, Ruíz J. Control of the mosquito *Anopheles pseudopunctipennis* (Diptera: Culicidae) with *Romanomermis iyengari* (Nematoda: Mermithidae) in Oaxaca, Mexico. Biol Control. 2005;32:137-42.

Recibido: 29 de junio de 2012.

Aprobado: 28 de octubre de 2013.

Pedro Rivera Mendoza. Instituto de Investigaciones y Difusión de Innovaciones. FUPADE. AP OR-22. Managua, Nicaragua. Correo electrónico: vrimen@hotmail.com