

## Evaluación de la efectividad de *Bacillus sphaericus* contra larvas de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) en criaderos naturales del estado Sucre, Venezuela

Jesús Berti Moser, Xiomara Ramírez, Julio E. González, Melfran Herrera

Centro de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental. Laboratorio Entomológico de Malaria. Las Delicias, al lado del Taller de Malariología. Av. Las Delicias. Maracay, estado Aragua. Venezuela. Teléfono (0243) 2419997-2413876

### Resumen

BERTI J, RAMÍREZ X, GONZÁLEZ JE, HERRERA M. 2002. Evaluación de la efectividad de *Bacillus sphaericus* contra larvas de *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) en criaderos naturales del estado Sucre, Venezuela. *Entomotropica* 17(1):1-5.

*Anopheles aquasalis* Curry es el principal vector de malaria de la región nororiental de Venezuela. Un experimento sobre el control biológico de esta especie fue realizado en el estado Sucre; el objetivo del estudio fue evaluar en el campo la efectividad y persistencia de una formulación granulada de *Bacillus sphaericus* sobre larvas de *An. aquasalis*. Los criaderos típicos de esta especie son humedales semi-permanentes con vegetación herbácea (*Eleocharis mutata*). En condiciones de campo se evaluaron dos (2) dosis comerciales (2 g/m<sup>2</sup> y 3 g/m<sup>2</sup>) de una formulación granulada (Vectolex® CG 7.5%) de *Bacillus sphaericus*. Esta formulación produjo muy buen control de las poblaciones larvarias de *An. aquasalis*; las dos dosis presentaron un efecto similar contra estas larvas en los habitats expuestos a pleno sol, de pH relativamente ácido y abundante vegetación emergente; llegando a producir un porcentaje de reducción larvaria mayor del 91% durante 7 días post-tratamiento (2 g/m<sup>2</sup> y 3 g/m<sup>2</sup>); igual al 94 % durante 14 días post-tratamiento (3 g/m<sup>2</sup>) e igual o mayor del 66 % a los 21 días post-tratamiento (2 g/m<sup>2</sup> y 3 g/m<sup>2</sup>).

**Palabras clave adicionales:** Biolarvicidas, control biológico, control microbiano, malaria, vectores.

### Abstract

BERTI J, RAMÍREZ X, GONZÁLEZ JE, HERRERA M. 2002. Field evaluation of effectivity of *Bacillus sphaericus* against *Anopheles aquasalis* Curry (Diptera: Culicidae) larvae in natural breeding-sites of Sucre State, Venezuela. *Entomotropica* 17(1):1-5.

*Anopheles aquasalis* Curry is the main vector of malaria in northeastern Venezuela. A study of its biological control was carried out in the Sucre State. The aim of this study was to evaluate the field effectivity and persistence of a granular formulation of *Bacillus sphaericus* against larval populations of *An. aquasalis*. The main breeding-sites of *An. aquasalis* are the semi-permanent freshwater wetlands with herbaceous emergent vegetation (*Eleocharis mutata*). In field trials, two commercial concentrations (2 and 3 g/m<sup>2</sup>) of a granular formulation (Vectolex® CG 7.5%) of *Bacillus sphaericus* were evaluated in the typical breeding habitat of *An. aquasalis*. The granular formulation provided very good larval control. The two dosages had the same effectivity against larvae in breeding-sites exposed to sunlight radiation, with acid pH and herbaceous emergent vegetation, producing a larval reduction greater than 91% during 7 days post-treatment (2 g/m<sup>2</sup> and 3 g/m<sup>2</sup>), equal to 94 % during 14 days (3 g/m<sup>2</sup>) and equal to or greater than 66% during 21 days post-treatment (2 g/m<sup>2</sup> and 3 g/m<sup>2</sup>).

**Additional key words:** Biolarvicides, biological control, malaria, microbial control, vectors.

### Introducción

El control de la malaria en el estado Sucre está basado en el uso de insecticidas contra mosquitos adultos y administración masiva de medicamentos antimaláricos a la población. Desafortunadamente en la actualidad existe resistencia tanto a fármacos antimaláricos como a insecticidas convencionales (Molina et al. 1997), lo cual compromete seriamente el éxito del programa.

El vector más importante del estado es *Anopheles aquasalis* (Berti et al. 1993 a, b) el cual tiene su área de distribución a lo largo de toda la zona costera del norte

del país, donde ha sido incriminado con *Plasmodium vivax* en la región de Santa Fe, estado Sucre (Cáseres 1993). Por otro lado, su comportamiento altamente exofilico hace poco eficiente el uso de insecticidas dentro de la vivienda, situación que se ve agravada por la presencia de resistencia a algunos insecticidas piretroides y organoclorados (Molina et al. 1997); ambos factores obligan a ensayar nuevos métodos de control que nos permitan un mejor manejo integrado del vector. En Venezuela actualmente podemos contar

con técnicas físicas de ingeniería antimalárica, agentes de control biológico (enemigos naturales y bacterias como *Bacillus sphaericus*) y mosquiteros impregnados con nuevos insecticidas de mayor acción residual.

Los problemas asociados con el control de la malaria en el estado Sucre han generado una serie de investigaciones sobre la bionomía, ecología y manejo integrado de sus principales vectores (Berti et al. 1993 a, b; Barrera et al. 1998; Barrera et al. 1999; Delgado et al. 1998; Grillet et al. 1998; Berti et al. 1998; Berti y Zimmerman 1998; Zimmerman y Berti 1994); sin embargo, en el país hasta el presente no se había evaluado el uso de *Bacillus sphaericus* contra *An. aquasalis* u otro vector de malaria del estado Sucre. A pesar de sus grandes ventajas, este producto nunca fue adquirido o usado con fines de control en el país, lo cual despierta algunas sospechas. No obstante, en otros países se conocen muchos trabajos sobre su utilización exitosa contra mosquitos vectores de malaria (Castro et al. 1996; Groves & Meisch 1996; Skovmand & Sanogo 1999; Karch et al. 1991; Berrocal et al. 2000; Blanco-Castro et al. 2000; Sharma 1993).

Por otro lado, en el país se han venido estudiando las especies que presentan susceptibilidad a insecticidas mediante un monitoreo periódico de sus poblaciones con la finalidad de detectar la aparición del fenómeno de la resistencia (Molina et al. 1997). En Venezuela, actualmente existe mucha disposición por parte de las autoridades de Salud, tanto regionales como nacionales, en relación a la utilización de bacterias en sus programas de control vectorial. Al respecto, los resultados obtenidos en el presente estudio, proporcionarán herramientas de aplicación inmediata en los programas de lucha antimalárica en el área de la Península de Paria y otras zonas maláricas del estado Sucre.

## Materiales y Métodos

### Area de estudio y tipo de hábitat

El estudio se realizó en una región ubicada al sur de la Península de Paria, conocida como Los Palmares (lat 10° 35' N, long 62° 50' W) y perteneciente a la Parroquia Yaguaraparo del municipio Cajigal. La topografía del área es plana y pantanosa, con mucha vegetación herbácea (pantano herbáceo); la vegetación principal está representada por los géneros *Cyperus*, *Thypha* y la especie *Eleocharis mutata*, la cual es dominante. Este es un hábitat acuático, temporal y estacional que permanece inundado durante 8 a 9 meses de la temporada lluviosa. El área forma parte de un extenso humedal conocido como "La Sabana de Venturini", donde existe actividad agropecuaria de

pastoreo (ganado vacuno y búfalos). La temporada lluviosa comienza el mes de mayo y se prolonga hasta finales de diciembre, siendo los meses de máxima precipitación julio, agosto, septiembre y octubre. La precipitación media anual está entre 1.200 y 1.700 mm, con un promedio de 1.450 mm. La temperatura media anual está entre 27° C y 28° C (Grillet et al. 1998).

### Diseño experimental

En este pantano se aplicó un diseño completamente aleatorizado, estableciéndose parcelas de 10 m x 10 m (100 m<sup>2</sup>) que fueron delimitadas artificialmente para la obtención de las unidades experimentales o réplicas por tratamiento (gramos de *Bacillus sphaericus* por cada m<sup>2</sup> de superficie tratada del criadero) y control. Por cada dosis comercial probada se establecieron tres parcelas experimentales (replicaciones) y sus respectivos controles de 100 m<sup>2</sup> cada una, para un total de tres replicaciones por tratamiento y por control. Las concentraciones probadas fueron de 2 g/m<sup>2</sup> (dosis comercial) y 3 g/m<sup>2</sup>. La primera evaluación (pre-evaluación) se realizó inmediatamente antes de aplicar el producto, las restantes fueron efectuadas periódicamente a los 2, 4, 7, 14, 21, 28 y 35 días post-tratamiento. El producto fue aplicado al criadero de forma manual, ya que se trata de una formulación sólida y granulada denominada VECTOLEX® CG 7.5%.

En cada parcela se tomaron 20 muestras de agua y en cada muestra se contó el número de larvas del tercer y cuarto estadio y el número de pupas, estas últimas fueron aisladas y observadas hasta la emergencia del adulto para su posterior identificación; paralelamente al muestreo de larvas y pupas se determinó: pH, temperatura del agua y profundidad del criadero. A los 28 y 35 días post-tratamiento, un desperfecto en la pila del equipo portátil impidió registrar el pH y la temperatura en algunas parcelas (3 g/m<sup>2</sup>) del ensayo. El efecto de cada tratamiento fue cuantificado calculando el porcentaje de reducción de larvas del tercer y cuarto instar, según la fórmula: % de Reducción = 100 - [(C1/C2 x T2/T1) 100] (Mulla et al. 1971).

### Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos se presentan en los Cuadros 1, 2 y las Figuras 1, 2, 3, 4. Según los mismos, el producto es altamente efectivo hasta las 96 horas (4 días) post-aplicación, produciendo un 100 % de reducción en la densidad relativa de larvas de *An. aquasalis* (Cuadros 1 y 2; Figuras 3 y 4). En cuanto a su persistencia en criaderos naturales, puede afirmarse que es bastante satisfactoria, ya que produjo valores

CUADRO 1: Valores del porcentaje de reducción larvaria y promedios de pH, temperatura y profundidad antes y después del tratamiento con Vectolex® CG a la dosis de 2g/m<sup>2</sup> de superficie del criadero (pantano herbáceo) en la sabana de Venturini, estado Sucre.

Día antes y después de la aplicación de <i>B. sphaericus</i>	Porcentaje de Reducción ** (Larvas 3-4to)	pH (Intervalo) ***	Temperatura (Intervalo) ***	Profundidad (Intervalo) ***
0		6,5 (6,5-6,5)	28,08 (27,5-28,5)	19,5 (16-25)
2	100	6,5 (6,5-6,5)	29,75 (29,0-31,5)	18,16 (15-20)
4	100	6,5 (6,5-6,5)	29,30 (28,5-30,0)	16,50 (15-18)
7	91,2	6,5 (6,5-6,5)	27,30 (27,0-27,5)	20,00 (18-22)
14	67,9	6,5 (6,5-6,5)	28,8 (28,5-29,0)	14,33 (10-18)
21	67,5	6,5 (6,5-6,5)	26,6 (26,5-27,0)	18,66 (18-20)
28	57,2	7,0 (7,0-7,0)	30,9 (30,0-32,5)	19,00 (18-20)
35	13,9	6,5 (6,5-6,5)	27,8 (27,5-28,5)	10,00 (10-20)

\*\* Porcentaje de reducción calculado según la fórmula de Mulla et al. (1971).

\*\*\* Promedio de 6 parcelas (3 tratadas y 3 controles). Intervalo entre paréntesis.

CUADRO 2: Valores del porcentaje de reducción larvaria y promedios de pH, temperatura y profundidad antes y después del tratamiento con Vectolex® CG a la dosis de 3g/m<sup>2</sup> de superficie del criadero (pantano herbáceo) en la sabana de Venturini, estado Sucre.

Día antes y después de la aplicación de <i>B. sphaericus</i>	Porcentaje de Reducción ** (Larvas 3-4to)	pH (Intervalo) ***	Temperatura (Intervalo) ***	Profundidad (Intervalo) ***
0		6,5 (6,5-6,5)	27,0 (27,0-27,0)	14,0 (10-18)
2	100	6,5 (6,5-6,5)	28,6 (24,5-31,0)	13,0 (7-18)
4	100	6,8 (6,5-7,0)	27,5 (27,0-28,0)	13,7 (10-18)
7	99,3	6,5 (6,5-6,5)	27,9 (27,0-28,5)	17,6 (10-25)
14	94,0	6,5 (6,5-6,5)	28,0 (27,5-28,5)	14,3 (10-18)
21	66,2	6,5 (6,5-6,5)	29,5 (28,5-30,5)	13,7 (10-18)
28 *	59,0			14,7 (10-19)
35 *	14,0			13,9 (9-17)

\* A los 28 y 35 días, no fue posible medir la temperatura y el pH debido a una avería (pila).

\*\* Porcentaje de reducción calculado según la fórmula de Mulla et al. (1971).

\*\*\* Promedio de 6 parcelas (3 tratadas y 3 controles). Intervalo entre paréntesis.

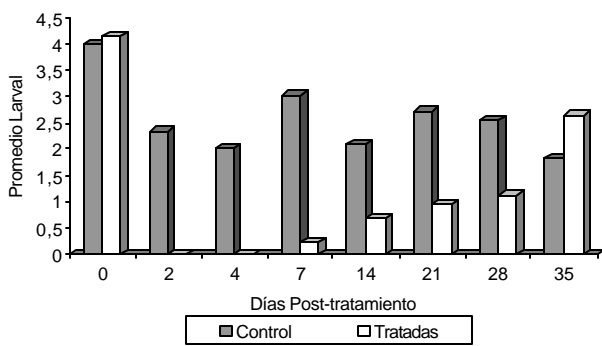


FIGURA 1: Promedio de larvas de *An. aquasalis* antes y después de la aplicación de Vectolex CG (*Bacillus sphaericus*) en la Sabana de Venturini, estado Sucre a la dosis de 2 g/m<sup>2</sup>

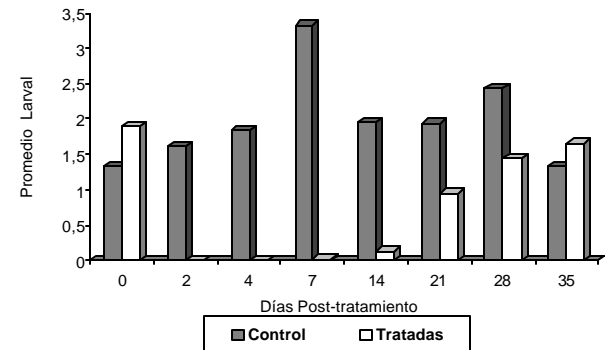


FIGURA 2: Promedio de larvas de *An. aquasalis* antes y después de la aplicación de Vectolex CG (*Bacillus sphaericus*) en la sabana de Venturini, estado Sucre a la dosis de 3 g/m<sup>2</sup>.

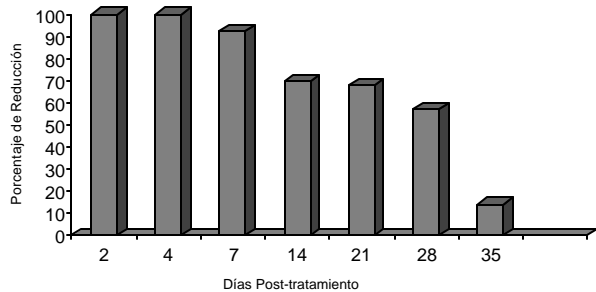


FIGURA 3: Porcentaje de reducción de larvas de *An. aquasalis*, según los días post-tratamiento con Vectolex CG en la sabana de Venturini, estado Sucre a la dosis de 2 g/m<sup>2</sup>.

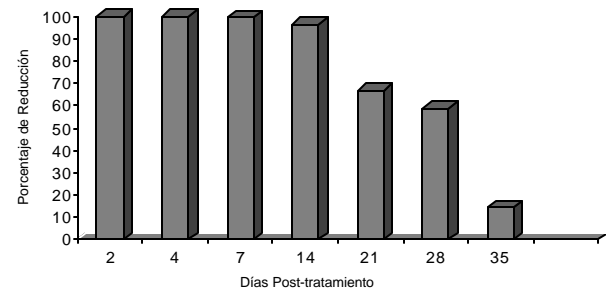


FIGURA 4: Porcentaje de reducción de larvas de *An. aquasalis*, según los días post-tratamiento con Vectolex CG en la sabana de Venturini, estado Sucre a la dosis de 3 g/m<sup>2</sup>.

sobre 94 % (3 g/m<sup>2</sup>) hasta por 14 días post-tratamiento (Cuadro 2). A partir del día 21 hubo una evidente reducción de la mortalidad larvaria (Cuadros 1 y 2); sin embargo, con ambas dosis (2 y 3 g/m<sup>2</sup>) todavía a 21 días de la aplicación, el porcentaje de reducción fue igual o mayor del 66 % (Cuadros 1 y 2); lo cual en términos de aplicabilidad, nos permite sugerir que este tipo de habitat deberá ser tratado con *Bacillus sphaericus* (VECTOLEX® CG) cada 21 días y principalmente en la época previa a la temporada lluviosa a fin de evitar una violenta explosión poblacional de larvas del vector al inicio de las lluvias (Berti y Zimmerman 1998).

La mayor parte de la literatura relacionada con el uso de *Bacillus sphaericus* hace referencia a su efectividad y/o persistencia sobre larvas de *Culex* spp., *Culex tarsalis* Coquillett (Mulligan et al. 1978) y muy especialmente *Cx. quinquefasciatus* Say (Mulligan et al. 1980; Thiery et al. 1997). No obstante, en la última década hay mayor interés sobre su uso contra algunas especies del género *Anopheles*, particularmente aquellas incriminadas como vectores de malaria. Al respecto, Castro et al. (1996) en Perú, evaluaron su efectividad en criaderos naturales a las 48 horas de la aplicación, reportando el 89 % de reducción larvaria de *Anopheles calderoni* Wilkerson, 89 % de *An. albimanus* Wiedeman, 99.9 % de *An. punctimacula* y 98 % de *An. pseudopunctipennis* Theobald a la dosis de 10 ml/m<sup>2</sup>. En Arkansas (EUA), Groves & Meisch (1996) al aplicar el producto contra *Psorophora columbiae* (Dyar and Knab) en campos de arroz a dosis de 0.9 g/ha, encontraron porcentajes de reducción de 87 y 90 %, 48 horas después del tratamiento. En criaderos de larvas de *Anopheles gambiae* Giles en Burkina Faso (Africa occidental), se evaluó la persistencia de una formulación granulada a la dosis de 3g/m<sup>2</sup> (30 kg/ha), obteniéndose 100 % de reducción larvaria a los 2 días; 91 % a los 5 días y 87 % a los 10 días del tratamiento con *B. sphaericus* (Skovmand & Sanogo 1999). Los resultados de estos autores son bastante similares a los nuestros; sin embargo, estos solo pueden ser comparados hasta la segunda semana. Igualmente ocurre con los resultados reportados por Karch et al. (1991) en Africa central (Zaire), donde se obtuvo con Vectolex-G a 3 g/m<sup>2</sup>, un porcentaje de reducción de 90 % por 7 días contra *An. gambiae*. Resultados similares obtuvieron Skovmand & Bauduin (1997) en Zaire con la misma especie. En todo caso en Venezuela, el producto fue bastante efectivo contra *Anopheles aquasalis* a 3g/m<sup>2</sup>, durante las dos primeras semanas (Tabla 2). En Perú fue evaluado el efecto residual de *B. sphaericus* (VECTOLEX® CG) en criaderos de *An. darlingi*, a las dosis de 1 y 2 g/m<sup>2</sup>, obteniéndose en ambos casos 100% de reducción larvaria a los 2 y 3 días del tratamiento y

un porcentaje mayor de 65 % hasta por 45 días (Berrocal et al. 2000). Este resultado con *An. darlingi* fue excelente en comparación con *An. aquasalis*; sin embargo, las diferencias pudieron ser causadas por el grado de susceptibilidad de estos vectores al producto y por condiciones de iluminación del criadero. En Guatemala se evaluó la persistencia de una formulación líquida (GRISELESF 2362) contra *Anopheles albimanus* a la dosis de 10 ml/m<sup>2</sup>, los resultados oscilaron entre 86.8 % y 100 % de reducción larvaria hasta por 45 días (Blanco-Castro et al. 2000); sin embargo, los datos aportados no son comparables debido a la inexistencia de un diseño experimental estadísticamente válido en dicho trabajo. En India, Sharma (1993) encontró excelentes resultados utilizando una formulación líquida (SPHERIX) de *B. sphaericus* a 0.5 g/m<sup>2</sup>. Este autor cita valores de 100 % para *Anopheles sundaicus* (Rodenwaldt) hasta por tres semanas; de 88.9 % para *Anopheles subpictus* Grassi hasta por cuatro semanas; de 81.6 % para *Anopheles annularis* Van der Wulp hasta por tres semanas; de 87.7 % para *Anopheles stephensi* Liston hasta por cuatro semanas y de 100 % contra la misma especie, también por cuatro semanas, pero a la dosis de 2 g/m<sup>2</sup> (Sharma 1993).

En todo caso, nuestros resultados en el estado Sucre serán validados en otros tipos de criaderos de la región y con diferentes especies de anofelinos. Asimismo, está prevista la evaluación del producto contra *An. aquasalis*, pero en otro tipo de habitat como es la zona de manglares ubicada cerca de Irapa, específicamente en la localidad de Río Chiquito, región costera del Golfo de Paria (eje vial Irapa-Yaguaraparo: lat 10° 34' N; long 62° 35' W). En algunos ríos del estado Sucre está presente la especie *Anopheles pseudopunctipennis* (Berti et al. 1998), la cual también será evaluada. En el futuro, es muy factible la evaluación del producto en estados del sur del país, donde existen otros vectores de malaria, como es el caso de *Anopheles darlingi* Root en Bolívar y Amazonas.

#### Agradecimiento

Al Dr. Russell Gardner por suministrar la formulación sólida y granulada de Vectolex® CG.

#### Referencias

- BERTI J, ZIMMERMAN R, AMARISTA J. 1993 a. Spatial and temporal distribution of anopheline larvae in two malarious areas in Sucre state, Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz 88(3):353-362.

- BERTI J, ZIMMERMAN R, AMARISTA J 1993 b. Adult abundance, biting behavior and parity of *Anopheles aquasalis* Curry, 1932 in two malarious areas of Sucre state, Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz 88 (3):363-369.
- BERTI J, GONZÁLEZ J, VANEGAS C, GUZMÁN H, AMARISTA J. 1998. Fluctuaciones estacionales de la densidad larvaria de *Anopheles pseudopunctipennis* en dos ríos de Santa Fé, estado Sucre, Venezuela. Bol Entomol Venez 13(1):1-15.
- BERTI J, ZIMMERMAN R. 1998. Métodos para control integrado de los vectores de la malaria en Venezuela. Bol Dir Malariol San Amb 38(2):123-136.
- BARRERA R, GRILLET MA, RANGEL Y, BERTI J, ACHE A. 1998. Estudio Epidemiológico de la reintroducción de la malaria en el nororiente de Venezuela mediante los sistemas de información geográfica y los sensores remotos. Bol Dir Malariol San Amb 38(1):14-30.
- BARRERA R, GRILLET MA, RANGEL Y, BERTI J, ACHE A. 1999. Temporal and spatial patterns of malaria reinfection in northeastern of Venezuela. Am J Trop Med Hyg 61(5):784-790.
- BERROCAL E, CAREY C, RODRÍGUEZ L, CALAMPA C, VALDIVIA L. 2000. A Residual effect of *Bacillus sphaericus* for control of *Anopheles darlingi* in Iquitos, Perú. Symposium on mosquito vector control and Biology in Latin America. J Am Mosquito Control Assoc 16(4):295-312.
- BLANCO-CASTRO S, MARTÍNEZ A, CANO O, TELLO R, MENDOZA I. 2000. Introducción de *Bacillus sphaericus* cepa 2362 (GRISELESF) para el control biológico de vectores maláricos en Guatemala. Rev Cubana Med Trop 2000. 52(1):37-43.
- CÁSERES R. 1993. Responsabilidad vectorial de *Anopheles aquasalis* Curry en la transmisión de *Plasmodium vivax* (Grassi y Feletti, 1890) en el estado Sucre, Venezuela. [Tesis Doctoral]. Maracay: Universidad Central de Venezuela. Fac Agronomía. 162 p.
- CASTRO J, GARCÍA I, NEYDRA D. 1996. Eficacia del *Bacillus sphaericus* en criaderos naturales de mosquitos en zonas de alto riesgo de malaria en Perú. Rev Peruana Epidem 9(2):1-8.
- DELGADO N, BERTI J, GONZÁLEZ J, AMARISTA J. 1998. Estudio biosistemático y ecológico de *Anopheles aquasalis* y sus implicaciones para el control de la malaria en el estado Sucre. III. Control biológico y manejo integrado del vector. Bol Dir Malariol San Amb 38(1):47-62.
- GRILLET M, MONTAÑEZ H, BERTI J. 1998. Estudio biosistemático y ecológico sobre *Anopheles aquasalis* y sus implicaciones para el control de la malaria en el estado Sucre. II. Ecología de sus criaderos. Bol Dir Malariol San Amb 38(1):38-46.
- GROVES R, MEISCH M. 1996. Laboratory and field plot bioassay of *Bacillus sphaericus* against Arkansas mosquito species. J Am Mosq Control Assoc 12(2):220-224.
- KARCH S, MANZAMBI Z, SALAUN J. 1991. Field trials with Vectolex-G and Vectobac-G against *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* breeding in Zaire. J Amer Mosq Control Assoc 7:176-179.
- MOLINA D, SAUME F, BISSET J, HIDALGO O, CASTILLO M, ANAYA W, SALAS O, GONZÁLEZ J, BARAZARTE H. 1997. Establecimiento de la línea de susceptibilidad a insecticidas en la fase adulta de *Anopheles* spp. de Venezuela. Bol Dir Malariol San Amb 37(1):55-69.
- MULLA M, NORLAND R, FANARA D, DARWAZEH H, MEKEAN D. 1971. Control of chironomid midges in recreational lakes. J Econ Entomol 64:300-307.
- MULLIGAN F, SCHAEFER C, MIURA T. 1978. Laboratory and field evaluation of *Bacillus sphaericus* as a mosquito control agent. J Econ Entomol 71:774-777.
- MULLIGAN F, SCHAEFER C, WILDER W. 1980. Efficacy and persistence of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes under laboratory and field conditions. J Econ Entomol 73(5):684-688.
- SHARMA VP. 1993. Progress report of biolarvicides in vector control. Malaria Research Centre. 22 Sham Nath Marg, New Delhi, India. 79 p.
- SKOVMAND O, BAUDUIN S. 1997. Efficacy of a granular formulation of *Bacillus sphaericus* against *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles gambiae* in West African. J Vector Ecol 22:43-51.
- SKOVMAN O, SANOGO E. 1999. Experimental formulations of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis israelensis* against *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles gambiae* in Burkina Faso. J Med Entomol 36(1):62-67.
- THIERY I, BALDET T, BARBAZAN P, BECKER N, JUNGINGER B, MAS JP, MOULINIER C, NEPSTAD K, ORDUZ S, SINEGRE G. 1997. International indoor and outdoor evaluation of *Bacillus sphaericus* products: complexity of standardizing outdoors protocols. J Am Mosq Control Assoc 13(3):218-226.

Recibido: 26-vi-2001

Aceptado: 22-i-2002

Correcciones devueltas por el autor: 20-ii-2002