PN-ABJ-795
74486

Vector Biology
and Control Project

Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) as a component of malaria vector control in the Health Sector II program, USAID/Tegucigalpa

by

Edward D. Walker

VBC Report No. 81227

Managed by Medical Service Corporation International • Sponsored by the Agency for International Development
1901 North Fort Myer Drive • Suite 400 • Arlington, VA 22209 • (703) 527-6500 • Telefax: (703) 243-0013 • Telex: 248812 (MSCI UR)

Author

Edward D. Walker is an assistant professor, Department of Entomology, Michigan State University, East Lansing, Michigan.

Acknowledgment

The author gratefully acknowledges the support, assistance, and cooperation of the following individuals: Engineer Jose Gomez, Director, Division of Vector-borne Diseases (DETV), Honduran Ministry of Public Health; Stan Terrell, Ross Hicks, and Robert Haladay, USAID/Tegucigalpa; Pedro Guerrero, Gerardo Alvarado, and Rufino Chavez of DETV; and Andrew Arata, Vector Biology and Control Project, Arlington, Virginia.

Preparation of this document was sponsored by the Vector Biology and Control Project under contract No. DPE-5948-C-00-5044-00 to Medical Service Corporation International, Arlington, Virginia, USA, for the Agency for International Development, Office of Health, Bureau of Science and Technology.

Table of Contents

Executive Summary 1

1. Introduction 4

2. Development of a Work Plan 9

3. Findings 13

Previous use of *Bti* in Honduras 13
Evaluation of mist and ULV backpack sprayers 16
Residual efficacy of an experimental, alginate formulation of *Bti* 20
Other consultant activities in Progreso 21

4. Conclusions and Recommendations 24

Conclusions 24
Recommendations 24

5. Literature cited 26

Figures

Figure 1. Insecticide use for indoor house spraying against *Anopheles* vectors of malaria in Honduras, 1970-1989 5

Figure 2. National rate of malaria infection per 1,000 residents in Honduras, 1959-1989 6

Figure 3. Map of Honduras 10

Figure 4. Partial Map of *Anopheles* larval habitats in the Progreso Area 15

Figure 5. Map of the irrigation canal system at the extensive sugarcane plantation surrounding the colonia of Palermo in Progreso, Honduras 16

Figure 6. Histogram showing distribution of droplet sizes of *Bti* as a function of diameter, emitted from either a Hudson ULV backpack sprayer or a Solo mist backpack sprayer 18

Figure 7. Percentage of total *Anopheles* larvae in each of four larval instars in samples taken on successive days from habitats treated or not treated (control) with *Bti*-C, an experimental formulation of *Bti* 23

Tables

Table 1. Positive slides for *Plasmodium vivax* malaria in Progreso, Honduras, weeks 41 - 46, 1990 . . . 12

Table 2. Efficacy of Vectobac 12AS *Bti* formulation when applied by ULV or mist spray against *Anopheles* larvae in habitats in Progreso, Honduras, December 1990 22

Appendices

Appendix A
Itinerary for EDW trip to Honduras, November-December 1990 27

Appendix B
List of Persons Contacted 31

Appendix C
Report of *Anopheles* larval habitat reconnaissance in Progreso, to Jose Gomez from Edward Walker, Nov. 22-23, 1990 32

Appendix D
1990 DETV plan for expanded *Bti* use in the developing biological larval control project 37

Appendix E
Work plan for Progreso developed by Edward Walker under Jose Gomez' signature for Dr. Oscar Antonio Molina, Director of Sanitary Region 3, Nov. 27, 1990 41

Appendix F
Preliminary report of the use of *bti* for *Anopheles* larval control in Progreso, to Jose Gomez from Edward Walker, Dec. 14, 1990 45

Appendix G
Recommendations on the continued use of *Bti* for *Anopheles* larval control by DETV, to Jose Gomez from Edward Walker, Dec. 14, 1990, forming part of the report presented in Appendix F 48

Appendix H.
Spanish version of "A field guide to use of *Bti*" 51

Executive Summary

At the request of USAID/Tegucigalpa and the Vector Biology and Control Project, Edward Walker went to Honduras from November 18 to December 17, 1990, to consult with the A.I.D. officials in the Health Sector II project and with personnel of the Division of Vector-Borne Diseases (DETV), Ministry of Public Health of Honduras, about the use of *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)* in the Division's malaria control program. The objective of the consultancy, which was conducted in Tegucigalpa and Progreso, were to:

1. Ascertain the status of the DETV's biological larval control program using *Bti*;

2. Continue training a cadre of DETV workers in using *Bti* and application equipment, including mist blowers and ultra-low-volume (ULV) backpack sprayers, and evaluating its effectiveness;

3. Continue field trials of the efficacy of *Bti* against *Anopheles* larvae in typical habitats in Honduras using motorized mist and ULV backpack sprayers;

4. Test the efficacy and residual activity of an experimental formulation of *Bti*; and

5. Finish the guide to the use of *Bti*, in Spanish, for DETV training and operational programs.

I continued working with a DETV team on using *Bti* to control *Anopheles* vectors. DETV had developed a plan to use *Bti* in 1990 prior to this consultancy, but the plan was never implemented because of political changes at the national level and within the DETV. DETV had acquired plenty of *Bti* and equipment to apply it, but they remained in storage for about one year.

The team of DETV workers with whom I had worked previously had forgotten much of their training. We reviewed this training through field applications of *Bti*. The team used motorized mist and ULV sprayers, and learned the merits and differences of these methods of applying liquid *Bti*.

Field tests conducted in Progreso in December 1990 of an experimental, powder formulation of *Bti*, called *Bti*-C, showed that it had no long-lasting, residual effectiveness. Rather, the material caused a short-term reduction in numbers of *Anopheles* larvae in a habitat, similar to the effect of commercial liquid *Bti*.

I made the following recommendations to the Director of DETV, Ing. Jose Gomez:

1. DETV should use *Bti* for malaria control along with other measures already being used; never as a sole intervention.

2. DETV should use *Bti* in those areas where larval habitats are well-mapped and accessible, such as Catacamas and Comayagua.

3. DETV should carry out a limited version of its 1990 plan in 1991, and should use the *Bti* in storage. DETV should begin treating selected larval habitats in June and continue through October. In addition, DETV should consider using *Bti* to lower *Anopheles* populations during non-rainy seasons. I have given DETV a monthly schedule for using its stocks of *Bti*.

4. DETV should seriously consider buying four all-terrain vehicles for the larval control program. These vehicles would give field teams access to sites that are difficult to reach.

5. DETV's purchase of Solo backpack mist sprayers that cannot easily be converted to apply granular *Bti* has limited DETV's flexibility. DETV and USAID/Tegucigalpa should evaluate this situation as the *Bti* program continues.

6. DETV should complete the "Field Guide to Use of *Bti*" for its training and operation. One of the objectives of this consultancy was to finish a Spanish version of this guide, and it is given here as Appendix H.

1. Introduction

The Ministry of Public Health of the Republic of Honduras has had an active malaria-control campaign since 1959. It has emphasized control of the *Anopheles* vectors of this disease through the use of residual insecticides applied to the inner walls of human dwellings. The Ministry used DDT from 1959 until 1970, both DDT and propoxur from 1971 until 1988, and has used fenitrothion since 1981. The amount of these insecticides used from 1970 to 1989 is shown in Figure 1; there were considerable annual fluctuations.

The number of cases of malaria (primarily *Plasmodium vivax* but with a small percentage of *Plasmodium falciparum*) recorded under Honduras' passive surveillance system has varied annually. (Figure 2). However, the malaria case rate has not declined consistently since the beginning of the malaria control program (Figure 2). This trend suggests that the Ministry needs new malaria control strategies.

The Health Sector II program of USAID/Tegucigalpa currently works with the Ministry of Public Health's Division of Vector-Borne Diseases (DETV), formerly the Division of Vector Control (DCV) to develop integrated malaria control programs, including:

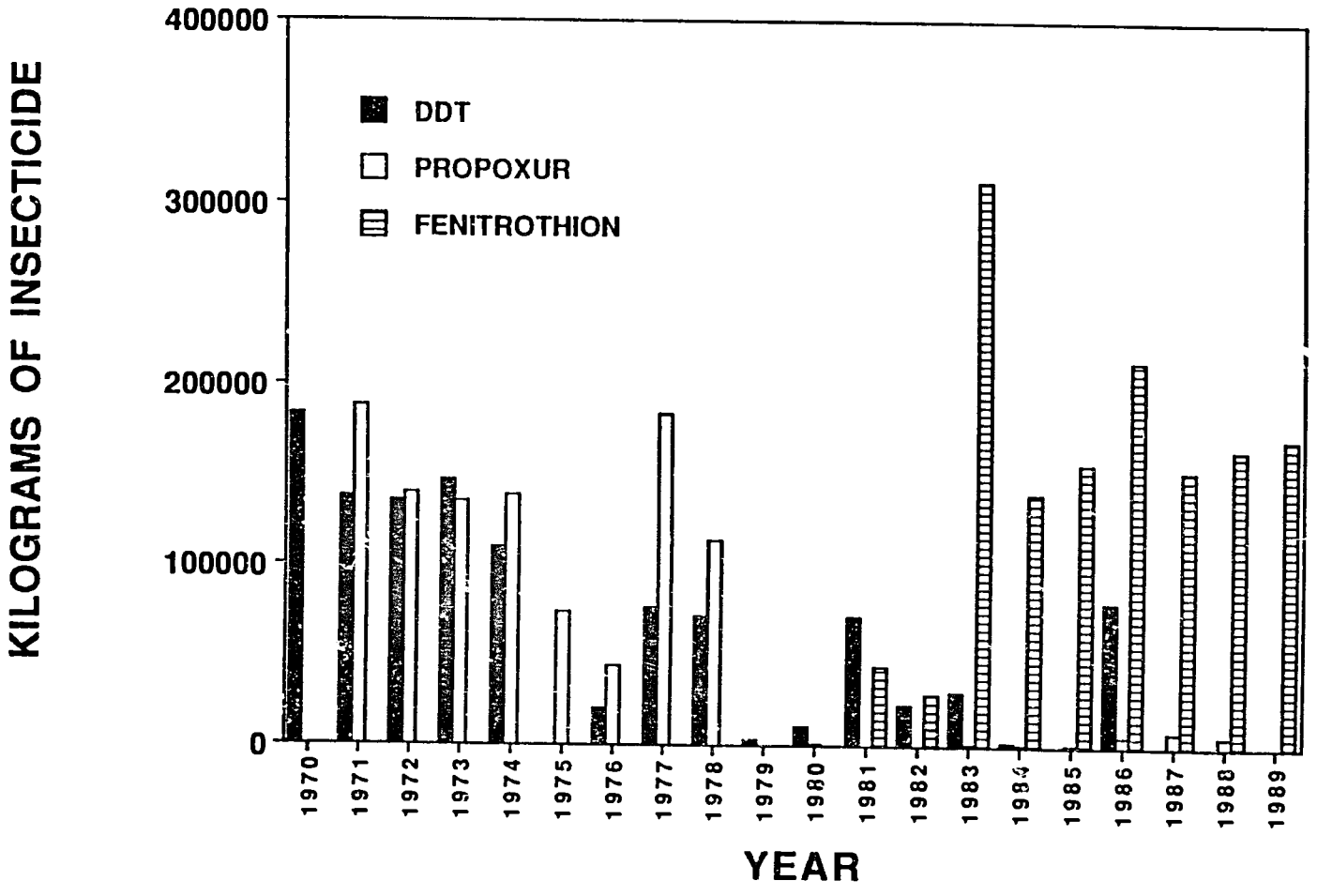
1. Spraying the indoor walls of houses with fenitrothion;

2. Eliminating larval *Anopheles* habitats by changing the environment ("physical larval control");

3. Passive case surveillance by volunteers who take blood smears from people seeking treatment for fever and dispense chloroquine; and

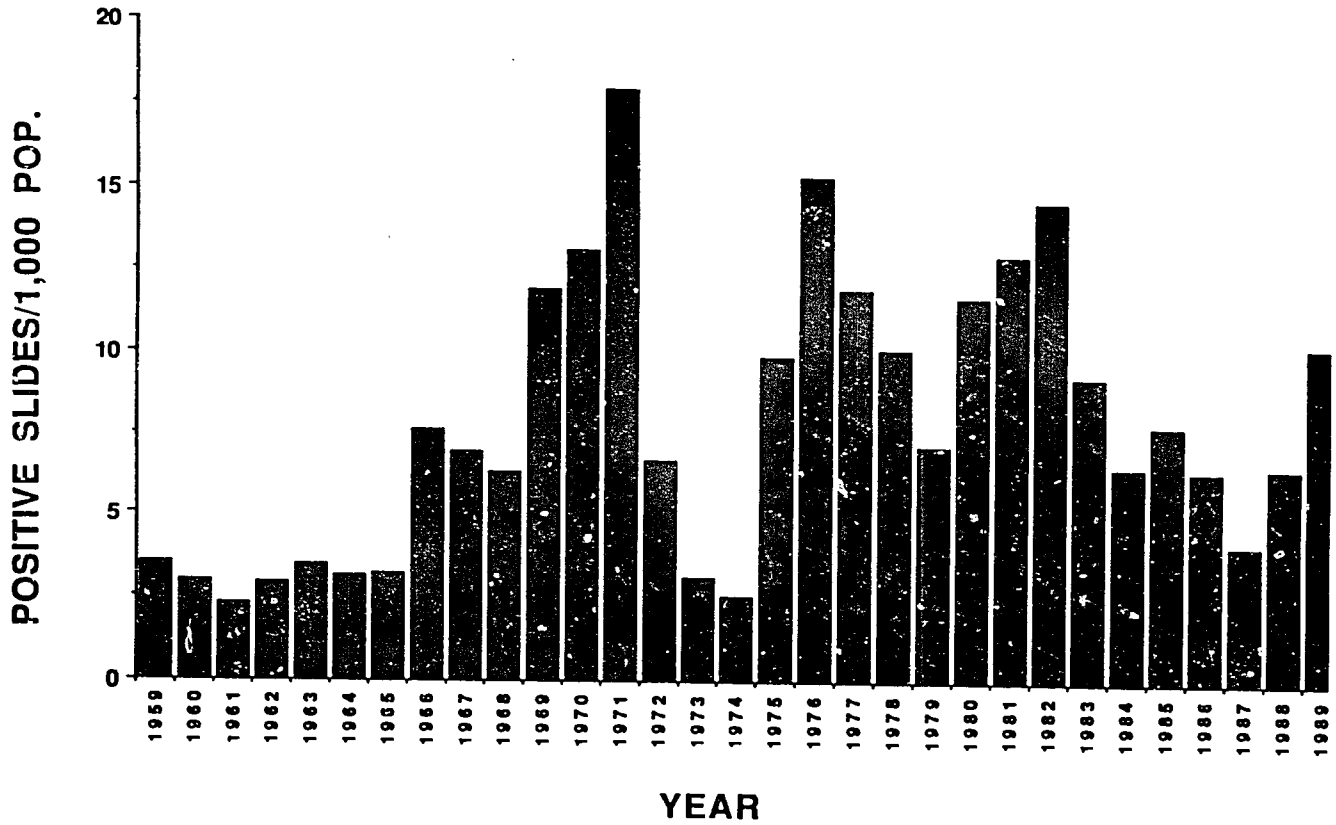
4. Use of the bacteria-derived larvicide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) for biological control of *Anopheles* larvae.

Figure 1. Insecticide Use for Indoor House Spraying Against *Anopheles* Vectors of Malaria in Honduras, 1970-1989



Data from Division of Vector-Borne Diseases, Ministry of Public Health, Honduras

Figure 2. National rate of Malaria Infection Per 1,000 Residents in Honduras, 1959-1989*



*Based on the number of malaria-positive slides submitted

Data from the passive surveillance system of the Division of Vector-Borne Diseases, Ministry of Public Health, Honduras

Bti is highly specific in its toxic effect on mosquito larvae; it is non-toxic for other organisms (Lacey and Undeen 1986, Laird et al. 1990). However, its residual life in water is short compared to less-specific, chemical larvicides (Lacey and Undeen 1986, Walker and Inman 1989, Perich et al. 1990), and it requires frequent applications.

Dr. Andrew Arata and Dr. Lawrence Lacey of the Vector Biology and Control Project first outlined how *Bti* could be used as part of an integrated program for malaria vector control in Health Sector II (Arata and Lacey 1988, VBC Report AR-105-4). In May 1989, Dr. Lacey and I conducted field evaluations of *Bti's* effectiveness against the primary vector of malaria in Honduras, *Anopheles albimanus* (see Walker and Lacey 1989, VBC Report AR-120-4). Other recent work also showed that *Bti* was effective against larvae of this species in Honduras (Perich et al. 1990).

In September and October 1989, I furthered this work with Mr. Allan Inman, and continued training a cadre of DETV field workers in the use of *Bti*. We realized that Catacamas, Department of Olancho, provided an excellent setting for a model biological larval control program based on the use of *Bti* because of its discrete larval habitats and DETV's reconnaissance of the area (see Walker and Inman 1989, VBC report AR-120-4A). Mr. Allan Inman and I wrote a field guide to the use of *Bti* (see Walker and Inman 1989, VBC report AR-120-4A), which we hoped the DETV would use as a training manual.

I conducted a consultancy under the auspices of the Vector Biology and Control Project for the DETV and the Office of Health and Population, USAID/Tegucigalpa, from November 18 to December 17, 1990. The objectives of the consultancy were to:

1. Ascertain the status of DETV's biological larval control program;

2. Continue training a cadre of DETV workers in using *Bti* and application equipment, including mist blowers and ultra-low-volume (ULV) backpack sprayers, and evaluating its effectiveness;

3. Continue field trials of the efficacy of *Bti* against *Anopheles* larvae in typical habitats in Honduras using motorized mist and ULV backpack sprayers;

4. Test the efficacy and residual activity of an experimental formulation of *Bti* provided by Dr. Andrew Spielman of Harvard University; and

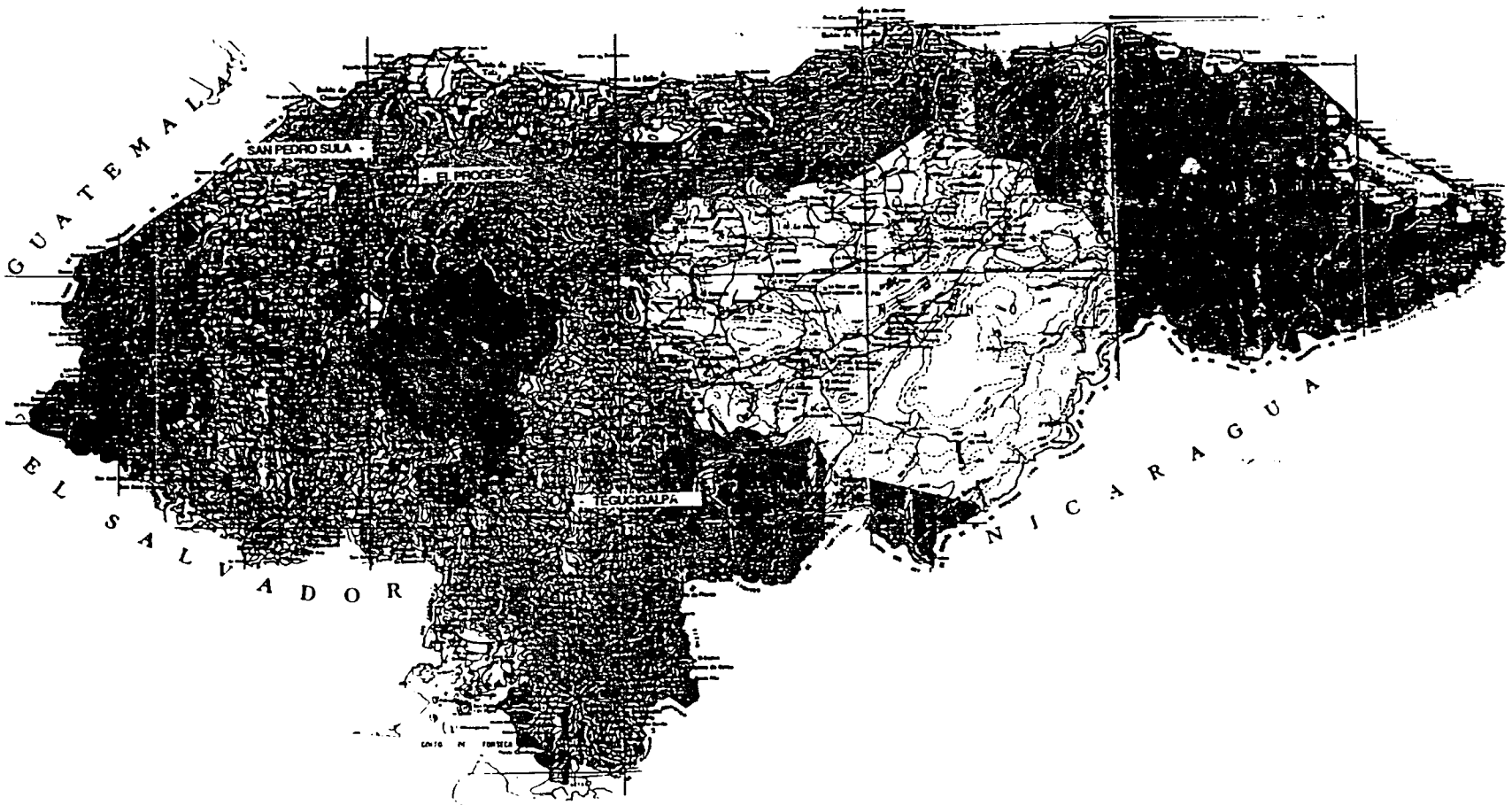
5. Finish the guide to the use of *Bti*, in Spanish, for DETV training and operational programs.

2. Development of a Work Plan

Originally, I hoped to work in Catacamas during this consultancy with the same team of DETV workers that I had worked with previously. However, owing to heavy rains, flooding, and concern about the possibility of large *Anopheles* populations near the north coast of Honduras, I worked with the team in the area of Progreso instead (Sanitary Region 3, Area 2; see map of Honduras, Figure 3). Progreso (population approximately 60,000) has traditionally had high numbers of malaria cases, and I was told anecdotally that about 8,000 cases of vivax malaria had occurred there from the beginning of the year through October 1990. Although the serious flooding did not begin until November, both the general public and the DETV believed that there was a link between the flooding and increased malaria rates. Table 1 shows slide-positivity rates for several colonias and barrios of El Progresso from weeks 41 to 46 of 1990, indicating that indeed there was considerable malaria transmission in the area (data courtesy of Mr. Norman Lopez, chief of DETV, Area 2, Region 3).

I met with Ing. Jose Gomez, Director of DETV, and Mr. Pedro Guerrero, DETV field worker, to plan a trip to Progreso to reconnoiter the area, inspect *Anopheles* larval habitats, and estimate the *Anopheles* larval populations in the area. Mr. Guerrero and I traveled to San Pedro Sula November 21, and met with the DETV regional director and area supervisors November 22. We then traveled to Progreso and conducted reconnaissance of larval habitats, returning to Tegucigalpa November 24.

Figure 3. Map of Honduras



I wrote a report of the findings and delivered it to Mr. Gomez November 25. A copy of this report is given in Appendix C. In it, I noted that the flood waters had receded; that the flooding had apparently caused a decrease in larval populations of *Anopheles*, as larvae were hard to find during our reconnaissance (except in the colonia called Palermo); and that DETV should not initiate a mass campaign to control *Anopheles* larvae with *Bti* in Progreso because of its lack of habitats and low larval populations. Despite this information and these recommendations, Director Gomez asked me to continue working in Progreso and to adapt any plans I had made for work in Catacamas to the Progreso area.

Table 1. Positive Slides for *Plasmodium vivax* Malaria Progreso, Honduras, weeks 41 - 46, 1990

Colonia/Barrio	No. slides examined	Percent slides positive	Week of year
Palermo	442	45.9	41
La Fraternidad de la Paz	73	45.2	41
Policarpo Paz de Garcia	120	46.7	41
Centroamericana	106	29.2	43
San Miguel	133	36.1	43
Corocol I	223	34.5	43
Corocol II	197	40.6	43
Corocol III	106	26.4	45
12 de Junio	109	29.4	47
6 de Julio	105	44.8	45
Berlin	362	32.3	45
La Libertad	110	27.3	46
Quebrada Seca	331	31.4	46

3. Findings

Previous use of *Bti* in Honduras

I performed two one-month consultancies in Honduras in 1989 with Dr. Lawrence Lacey and Allan Inman, respectively. We were able to:

1. Train team of experienced DETV workers to use and evaluate *Bti*;

2. Establish a model program of *Bti* use in Catacamas, Olancho;

3. Show that *Bti* was highly effective against *Anopheles albimanus* and other *Anopheles* spp., but that the effect in habitats was of short duration, providing effective control for about eight days.

DETV developed a plan to expand the use of *Bti* in 1990 (shown in Appendix D). This plan was a logical continuation of the evaluation and training resulting from the 1989 consultancies. Unfortunately, DETV never implemented the plan because of a change in government at the national level and changes in the administration of DETV. DETV received shipments of liquid (approximately 425 gallons) and granular (approximately 900 pounds) *Bti*, and 20-25 Solo backpack mist sprayers and 20-25 Hudson ULV sprayers.

When I arrived in November 1990, I found that none of the *Bti* had been used and none of the sprayers had been removed from their shipping crates. In addition, the Solo mist sprayers could not easily be converted to apply granules. This was a serious purchasing error because DETV has only one dilapidated backpack machine that can be used to apply *Bti* granules. The team of DETV workers that I had previously trained to use *Bti* had forgotten much of the information, partly because DETV failed to implement the 1990 plan, and because DETV and USAID/Tegucigalpa did not ensure that the "Field Guide to Use of *Bti*" was completed and

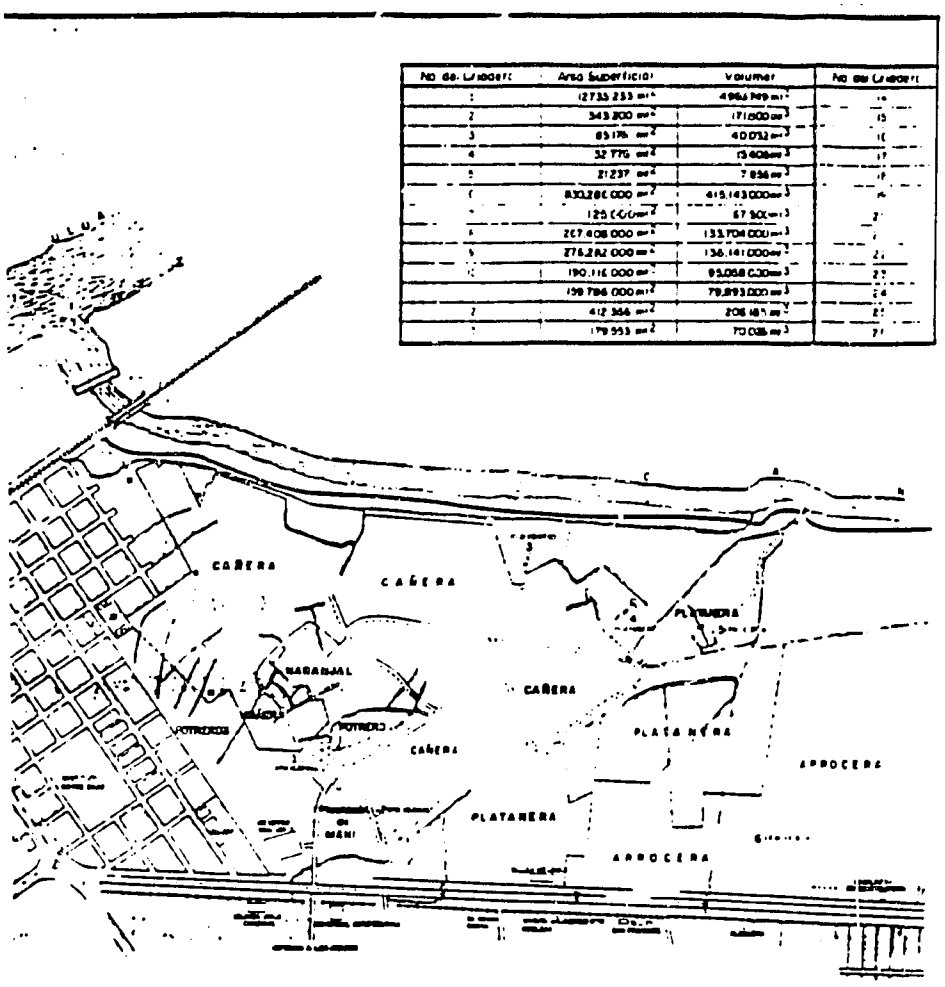
distributed. The guide would have provided these workers with a written reinforcement of their training. In addition, I ascertained that the USAID health officers held the impression that the use of *Bti* was a possible sole intervention for malaria control. However, it was always made clear to them that *Bti* should only be used as part of an integrated malaria control program and only in appropriate areas.

Larval habitat reconnaissance in Progreso

The DETV team dispatched to work in Progreso on the *Bti* project included Mr. Pedro Guerrero, Mr. Rufino Chavez, and Mr. Gerardo Alvarado. The larval habitat reconnaissance we conducted was guided by a partial reconnaissance map (Figure 4) of the northwestern portion of Progreso, and by two local DETV workers (Mr. Emilio Aguilar and Mr. Oscar Moises Ochoa) who had conducted reconnaissance for *Anopheles* larvae in the area previously. These two young workers had a great deal of information on the location of larval habitats and quantitative information on *Anopheles* larvae populations from different areas, but their records (on modified "pezquiza larvaria" forms) and collections in alcohol-filled vials were not being used in DETV's operations. These records and collections represent a wealth of information on the distribution and abundance of various species of *Anopheles* in Progreso, and DETV should collate the data before they are lost.

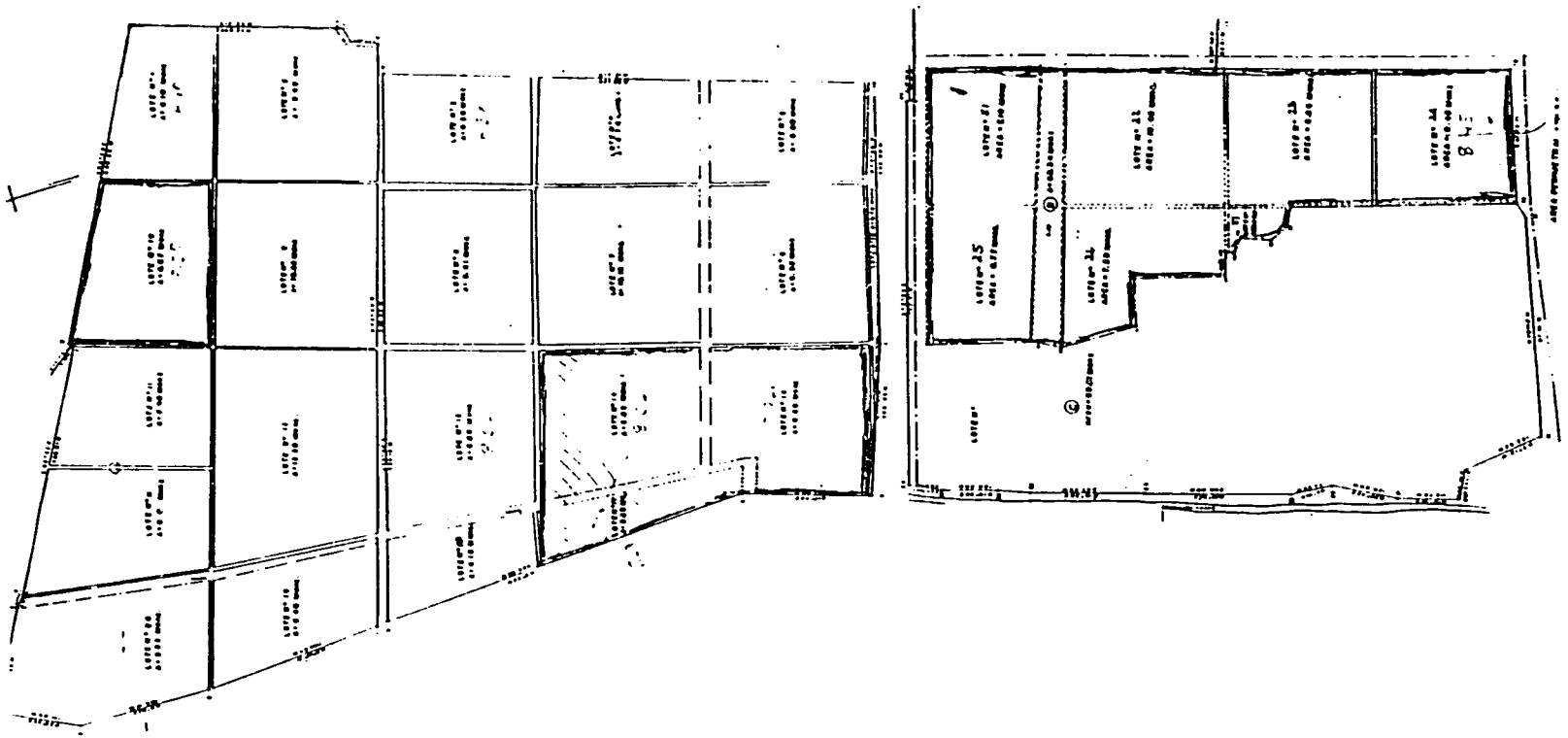
We found potential larval habitats in several areas of Progreso, including Palermo (cattle lagoons associated with pasture, ditches in the urban areas, and an extensive ditching system for nearby sugarcane fields — see Figure 5), Rancho de Esperanza (cattle lagoons), Magandi (a water lettuce lagoon), Brisas de Ulua (flooded yards under houses in urban Progreso), and Barranca (pools from a stream). In contrast, the rice fields located about two kilometers north of El Progesso, immediately south of Quebrada Seca, and directly west of the Canal de Alivio, were dry, as were the rice fields forming part of the BAPROSA landholding (see Figure 4). These rice fields may be important contributors to the *Anopheles* vector population in Progreso, but we were not able to evaluate this possibility because the flooding had disrupted the irrigation cycle of

Figure 4. Partial Map of *Anopheles* Larval Habitats in the Progreso Area



Source: Division of Vector-Borne Diseases, Honduras

Figure 5. Map of the Irrigation Canal System at the Extensive Sugarcane Plantation Surrounding the Colonia of Palermo in Progreso, Honduras*



* Provided by an agricultural engineer at the plantation

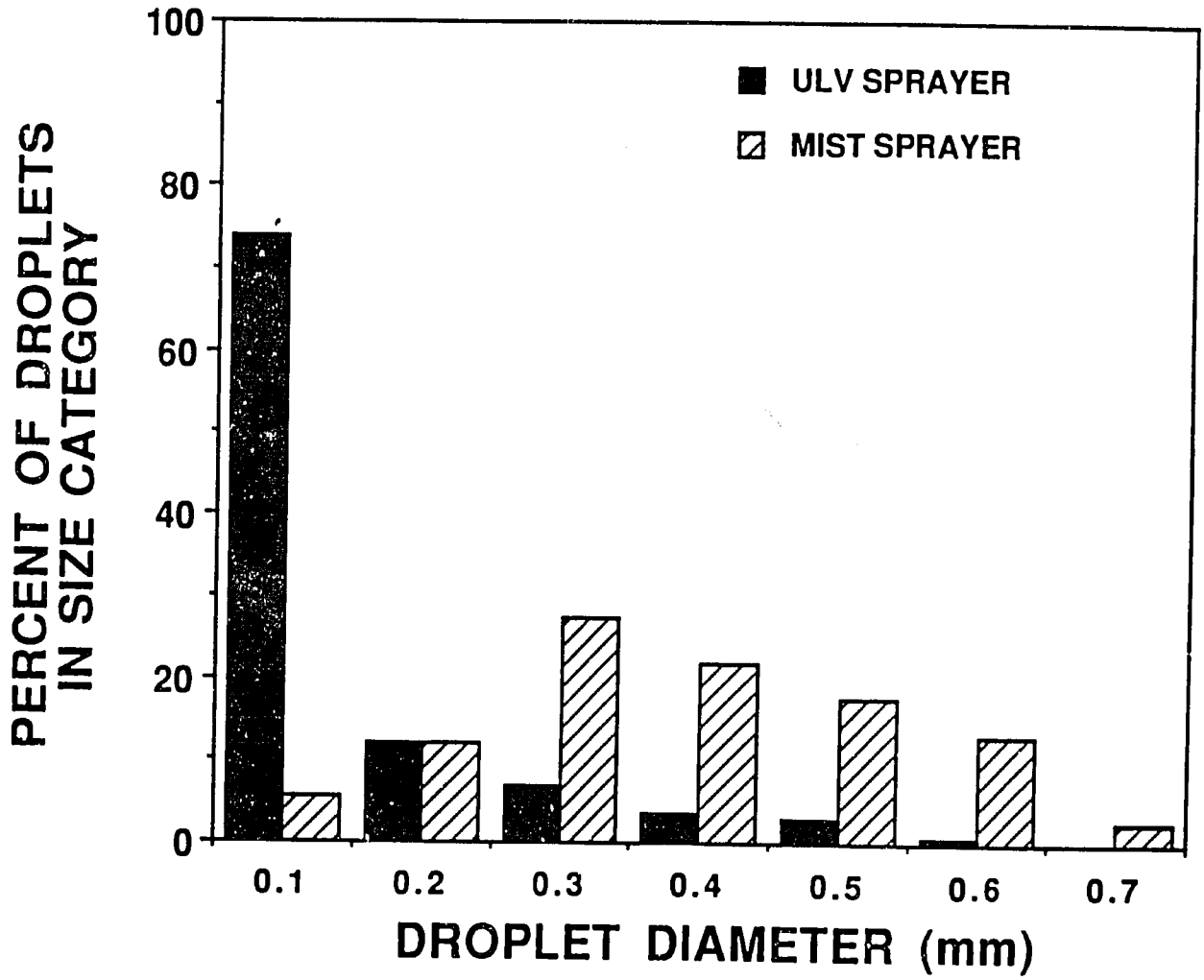
the rice planters. The extensive system of ditches west of the Hacienda Versalles had no larvae, for unknown reasons. Ponded streams near the Hacienda Julio Rodriguez contained extremely high numbers of larvae. The irrigation ditches among the African oil-palm plantations north of the city contained few *Anopheles* larvae, possibly because of the recent flooding. *Aedes* and *Psorophora* larvae were common in this area, however, and adults of these mosquitoes presented a nuisance.

Evaluation of mist and ULV backpack sprayers

The team of DETV workers had some experience with a Jacto motorized backpack mist sprayer, but none with the new Solo sprayers or Hudson ULV machines. It seemed particularly important to train the team members to use these machines. Therefore, the members of the team and I conducted an evaluation of *Bti* application against *Anopheles* larvae in the Progreso area using Solo sprayers and Hudson ULV machines. First we estimated the rate of output of liquid *Bti* from both machines when operated at full throttle and at various nozzle diameters. The Solo sprayer, set at the "#1" nozzle setting, dispensed one liter of mix in approximately five minutes, while the Hudson ULV sprayer dispensed one liter of neat *Bti* in approximately 20 minutes when the smallest nozzle accompanying the kit was attached.

We also compared the droplet size dispensed by the two sprayers by collecting droplets on non-siliconized glass slides at a distance of approximately five meters from the machines operating at highest settings. Then we measured the droplets with a hand-held microscope and ocular micrometer. Relative droplet sizes dispensed by the sprayers are shown in Figure 6. These measurements do not represent exact droplet sizes, because the impact of the droplets on the glass slides caused a spread that is not estimable on non-siliconized slides. The majority of droplets from the Hudson ULV sprayer were less than 0.1 mm in diameter (range, < 0.1 mm to 0.6 mm). The majority of particles from the Solo mist sprayer were 0.3 to 0.6 mm in diameter (range, < 0.1 mm to 0.7 mm).

Figure 6. Histogram Showing distribution of droplet sizes of *Bti* as a function of diameter, emitted from either a Hudson ULV backpack sprayer or a Solo mist backpack sprayer



We performed these tests to show DETV team members the importance of understanding how this equipment works and the importance of the concept of rate of application, and also to demonstrate the greater efficiency of the ULV sprayer compared to the Solo mist sprayer. The ULV sprayer's efficiency was obvious because the smaller droplet size generated by this sprayer allowed better penetration through thick cover. In addition, the lesser amount of *Bti* used during application provided considerable savings and (as shown below) an equal efficacy in killing *Anopheles* larvae. However, the mist sprayer produced a visible cloud while the tiny droplets produced by the Hudson ULV sprayer were barely visible. Team members thought this difference made the mist sprayer appear to be more effective.

We chose 11 habitats distributed within and around Progreso to evaluate application of *Bti* by a Jacto mist sprayer and the Hudson ULV backpack sprayer. The *Bti* was mixed in a ratio of one part *Bti* to nine parts water for the mist sprayer and applied neat from the ULV sprayer. Team members applied it evenly while walking slowly along the sides of habitats. Because the members of the DETV team had forgotten the mixing rates for mist applications, we reviewed the basics involved in mixing *Bti* with water prior to application.

On December 2, we made pre-treatment samples using standard 450 ml mosquito dippers with 25 - 236 dips taken depending on the size of the habitat. The next day, the team applied *Bti* in five habitats using the Hudson ULV sprayer and in two other habitats using the Solo mist sprayer, while four other habitats remained as untreated, experimental controls. The *Bti* used was Vectobac 12AS. On December 4, the team took 50 to 100 post-treatment dips per habitat and recorded the data.

The results of these trials, given in Table 2, showed that *Bti* application by each type of sprayer reduced by 100 percent the number of *Anopheles* larvae in the treated sites. In contrast, the control sites maintained populations of *Anopheles* larvae, although larvae populations declined at two of the sites at Palermo, probably

because of dilution resulting from rainfall. This experiment helped demonstrate to the DETV team the reliability of the ULV sprayer, even though it was less dramatic than the mist sprayer.

Residual efficacy of an experimental, alginate formulation of *Bti*

Dr. Andrew Spielman of Harvard University provided an experimental formulation of *Bti*, which VBC made available for evaluation during this consultancy. Detailed information about the formulation was not generally available, except that this dry powder consisted of endotoxin derived from sporangia of the bacteria rather than from the parasporal bodies within the sporulating cell bodies. In addition, the endotoxin was adsorbed to alginate particles, which would float on the surface of the water when applied in larval habitats and slowly release the toxin, causing a sustained or residual attack against *Anopheles* larvae. We had no information on the rate of application or the best means for application, except that the material should be suspended in water and applied with standard spray equipment.

We originally planned to test this experimental formulation, hereafter called *Bti*-C, at the Catacamas site. After our plans were altered, a test was arranged at Progreso. On December 4, we took 50 pre-treatment dips in two adjacent sites at Barranca. On December 3, we attempted to mix about eight soupspoonsful of the *Bti*-C powder with eight liters of water in a Hudson can. However, the powder did not mix with water, and we could not re-suspend it in the Hudson can. Attempts to apply this slurry failed and the powder clogged the sprayer lines. A similar attempt to apply the slurry from the Solo mist sprayer also failed and the spray lines became blocked. Therefore, we applied the dry powder onto the surface of one of the Barranca habitats with a homemade salt shaker, and left the other habitat as a control area. We made the application December 5 when Dr. Andrew Arata was present, and took daily post-treatment dip samples through December 12.

The results of this experiment are shown in Figure 7. Unfortunately, the data for the control site for December 10 were lost. However, the data trends clearly show that *Bti*-C caused mortality in the first day after treatment, but that the *Anopheles* larval populations recovered quickly after the day of application, similar to their recovery after application with a commercial liquid formulation (Walker and Inman 1989). By December 12, the day I left the site to return to Tegucigalpa, third-instar *Anopheles* larvae were present in the treated site, indicating that there was no residual *Bti* toxin acting upon the population.

Other consultant activities in Progreso

The team and I organized a demonstration of *Bti* application for the area health officer, Dr. Maria-Elena Reyes, and the area chief of the DETV, Mr. Norman Lopez, in flooded areas of the BAPROSA landholding rice fields December 10. In addition, the team and I applied *Bti* in the Progreso and Lima areas to help reduce *Anopheles* populations during the flooding emergency. These applications provided valuable experience for the team members, who had to perform field maintenance of equipment and make decisions in the field about whether to apply *Bti* at a given locale.

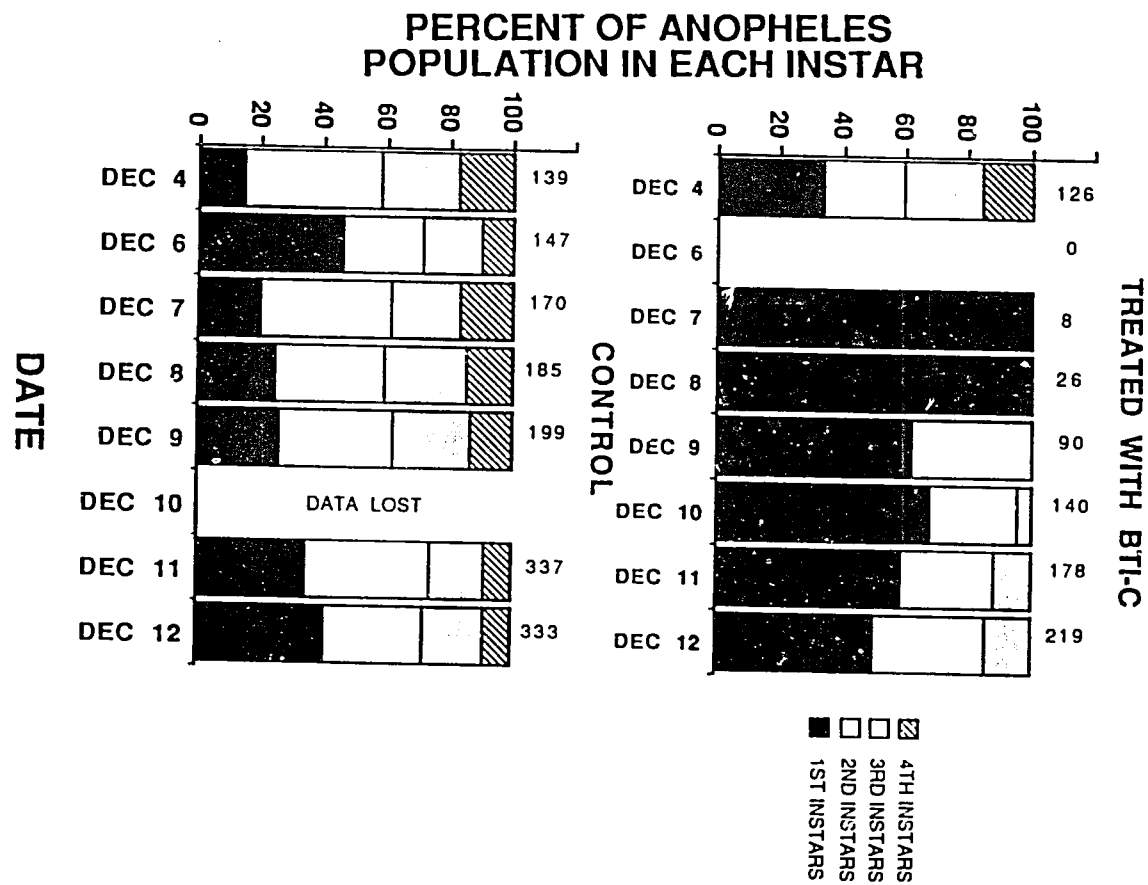
Table 2. Efficacy of Vectobac 12AS *Bti* formulation when applied by ULV or mist spray against *Anopheles* larvae in habitats in Progreso, Honduras, December 1990

Habitat	Treatment	Mean Number Before Treatment	Number of larvae per dip: After Treatment
Palermo 13	ULV	3.9	0.0*
Palermo 14	ULV	6.4	0.0*
Palermo 16	ULV	8.2	0.0*
Rancho de Esperanza	ULV	1.3	0.0*
Magandi	ULV	0.8	0.0*
Brisas del Ulua	Mist	1.1	0.0*
Palermo Canerna	Mist	0.86	0.0*
Palermo 15	Control	12.3	0.3**
Palermo 11	Control	2.0	1.7
Palermo 17	Control	1.3	0.1**
Barranca 23	Control	2.5	2.8

*100 percent reduction in numbers of *Anopheles* larvae in post-treatment dips.

**Reductions in these control habitats probably due to dilution by heavy rainfall.

Figure 7. Percentage of total *Anopheles* larvae taken from habitats treated or not treated (control) with *Bti*-C, an experimental formulation of *Bti**



*The total number of *Anopheles* larvae collected on that day is above each bar. Fifty dips were taken per day.

4. Conclusions and Recommendations

Conclusions

Since my previous consultancy, DETV had not progressed significantly in developing the *Bti* program as a component of their overall malaria control program, although they had developed a plan for limited use of *Bti*. This plan, prepared for 1990 prior to this consultancy, was never implemented as a result of political changes at the national level and within DETV.

The team of DETV workers had forgotten much of their previous training on use of *Bti*. DETV had acquired large volumes of *Bti* and equipment to apply it, but these materials remained in storage for about one year. During this consultancy, I endeavored to retrain the team members under rather difficult circumstances in Progreso. Team members now have fresh knowledge and are prepared to continue the program. This team, which includes Mr. Rufino Chavez, Mr. Gerardo Alvarado, and Mr. Pedro Guerrero, has good experience in use of mist and ULV sprayers, and team members understand the differences in these approaches to applying liquid *Bti* as a result of our field experiments.

An experimental, powder formulation of *Bti*, called *Bti*-C, showed no long-lasting, residual life in an experiment conducted in Progreso in December 1990. Rather, the material caused a short-term reduction in numbers of *Anopheles* larvae, an effect similar to that of applying commercial liquid *Bti*.

Recommendations

In a report to Ing. Jose Gomez, Director of DETV, I made several recommendations, which I reiterate here:

1. DETV should use *Bti* for malaria control only in conjunction with other measures already being used and not as sole intervention.

2. DETV should develop the *Bti* component of vector control in those areas where larval habitats are well-mapped and readily accessible, such as in Catacamas and Comayagua.

3. DETV should carry out a limited version of its 1990 plan in 1991, and should use the *Bti* in storage. DETV should begin treatment of larval habitats in select communities in June and continue through October. In addition, DETV should consider using *Bti* to lower *Anopheles* populations during non-rainy seasons. I have given DETV a monthly schedule for using its stocks of *Bti*.

4. DETV should seriously consider buying four all-terrain vehicles for the larval control program. These vehicles would give field teams access to sites that are difficult to reach.

5. DETV's purchase of Solo backpack mist sprayers that cannot easily be converted to use granular *Bti* has limited DETV's flexibility. DETV and USAID/Tegucigalpa should evaluate this situation as the *Bti* program continues.

6. DETV should complete the "Field Guide to Use of *Bti*" for its training and operations. One of the objectives of this consultancy was to finish a Spanish version of this guide, and it is given here as Appendix H.

5. Literature cited

Arata, A.A. and L.A. Lacey. 1988. Review of protocol for the use of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) for malaria control in Honduras in the Health Sector II project, December 12-16, 1988. Report AR-105-4. Arlington: Vector Biology and Control Project.

Lacey, L.A. and A.H. Undeen. 1986. Microbial control of black flies and mosquitoes. **Annu. Rev. Entomol.** 31:265-296.

Laird, M., L.A. Lacey, and E.W. Davidson. 1990. Safety of Microbial Insecticides. Boca Raton: CRC Press.

Perich, M.J., L.R. Boobar, J.C. Stivers, and L.A. Rivera. 1990. Field evaluation of four biorational larvicide formulations against *Anopheles* albimanus in Honduras. **Med. Vet. Entomol.** 4:393-396.

Walker, E.D. and A.D. Inman. 1989. Honduras: use of *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) against *Anopheles* vectors of malaria in the Health Sector II project. Report AR-120-4A. Arlington, VA: Vector Biology and Control Project, USAID.

Walker, E.D. and L.A. Lacey. 1989. Honduras: field evaluations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) against *Anopheles* larvae. Report AR-120-4. Arlington, VA: Vector Biology and Control Project, USAID.

Appendix A

Itinerary for EDW trip to Honduras, November-December 1990

Date	Activity
Nov. 18	Arrived Arlington, Virginia.
19	Reviewed work plan with Dr. Andrew Arata, Vector Biology and Control office, Arlington.
20	Traveled to Tegucigalpa. Afternoon meeting with Mr. Stan Terrell USAID/Tegucigalpa.
21	AM: Met with Mr. Jose Gomez about trip to Progreso to ascertain level of *Anopheles* larval population following flooding in the area. Began to organize trip with Mr. Pedro Guerrero. Obtained partial larval habitat reconnaissance map from topographic office, central office of DETV.
	PM: Traveled to San Pedro Sula with Pedro Guerrero.
22	AM: Meeting at Region 3 headquarters, San Pedro Sula, with region chief Dr. Oscar Antonio Molina and area supervisors. Discussed emergency vector control in flooded areas of Region 3.
	PM: Traveled to El Progreso, located Area 2 DETV office. Met with Mr. Norman Lopez, chief of DETV in Area 2, Region 3, and local DETV workers (Mr. Emilio Aguilar and Mr. Oscar Moises Ochoa), who had been conducting some *Anopheles* larval habitat reconnaissance.

Nov. 23	Larval habitat reconnaissance with Mr. Pedro Guerrero, Mr. Emilio Aguilar and Mr. Oscar Moises Ochoa in area around Progreso.
24	AM: Traveled to Tegucigalpa.
	PM: Wrote report of larval habitat reconnaissance in El Progreso for Ing. Jose Gomez.
25	Finished report started Nov. 24, reviewed it with Dr. Stan Terrell. Copy of report appended.
26	Wrote plan of work for Progreso. Met with DETV epidemiology group about work plan. Group included Ing. Jose Gomez, Mr. Pedro Guerrero, and Drs. Ramon Soto, Ricardo Kaffe, Laura-Julia Salgado, Agustin Lago Arroyo (PAHO epidemiologist on location in Honduras), and Eduardo Fernandez.
27	AM: Acquired equipment and supplies for work in Progreso. Arranged for supplies to be transported.
	PM: Traveled to Progreso with Mr. Pedro Guerrero, Mr. Rufino Chavez and Mr. Gerardo Alvarado.
28	Reconnaissance for larval habitats appropriate for field trials, equipment testing and training in Progreso area.
29	Heavy rains and extensive flash-flooding required cancellation of field work. Met Dr. Maria-Elena Reyes, traveled with her, Mr. Jose Gomez, Mr. Norman Lopez to Santa Rita area to check potential sites for *Bti* applications.

Nov. 30	Field vehicle appropriated to distribute chloroquine. Worked on "Field Guide to Use of *Bti*" at DETV office in Progreso with Gerardo Alvarado and Rufino Chavez.
Dec. 1	Continued reconnaissance of larval sites, especially in the Palermo colonia of Progreso. Found *Anopheles* larvae in ditches in the colonia and in the irrigation canals in the large cane fields surrounding Palermo. Also found sites with larval populations in Magandi and Brisas de Ulua.
2	Continued reconnaissance of larval sites, and chose 11 for experimental applications of *Bti*. Took pre-treatment dip samples from these sites.
3	Calibrated Hudson ULV and Solo mist backpack machines. Tried unsuccessfully to mix *Bti*-C powder with water.
4	Took post-treatment dip samples from treated and nontreated (experimental control) sites in area of Progreso. Took pre-treatment samples at Barranca site for *Bti*-C powder study. Dr. Andrew Arata arrived at 2:00 PM. Heavy rains began again in afternoon.
5	Took ULV and mist droplet samples on glass slides to compare droplet sizes generated by the two machines. Visited the local health center and toured larval habitats with Dr. Andrew Arata. Applied the *Bti*-C powder by hand at the Barranca site.
6	Took post-treatment samples at various sites including Barranca site. Looked for additional sites to apply *Bti*.

Dec. 7	Continued larval habitat reconnaissance and applications of *Bti* in Palermo, San Miguel, Omonita, Remolinas and Las Dos de Mayo. Maintained equipment in the field by cleaning clogged nozzles, adjusting carburetors, clearing gas and insecticide filters and lines. Took post-treatment samples at Barranca.
8	Continued larval habitat reconnaissance and applications of *Bti* in Corocol I, Corocol II, and Fatima. Took post-treatment samples at Barranca.
9	Examined efficacy of Dec. 7-8 applications at all sites. Took post-treatment samples at Barranca.
10	Continued reconnaissance and applications in Palermo and Lima, near highway. Demonstrated application techniques and evaluations at Baprosa rice fields for Dr. Reyes and Mr. Norman Lopez. Post-treatment evaluations at Barranca site.
11	Continued reconnaissance and *Bti* applications around Lima, and performed post-treatment evaluations at Barranca.
12	Continued post-treatment evaluations at Barranca. Traveled to Tegucigalpa with Mr. Pedro Guerrero.
13	Worked on report and *Bti* guide in Tegucigalpa.
14	Continued report and *Bti* guide writing. Met with Mr. Jose Gomez and Dr. Stan Terrell at DETV headquarters in Comayaguela. Met with Mr. Robert Haladay and Dr. Stan Terrell at USAID/HRD in Tegucigalpa.
15	Continued report and *Bti* guide writing.
16	Traveled to Arlington. Outlined preliminary report for VBC.
17	Met for debriefing with VBC project in Arlington.

Appendix B

List of Persons Contacted

Engineer Jose Gomez	Chief, Division of Vector-born Diseases (DETV), Ministry of Public Health
Mr. Robert Haladay	Chief, USAID/Tegucigalpa, Health and Population
Mr. Ross Hicks	USAID/Tegucigalpa, Health Sector II
Dr. Stan Terrell	Epidemiologist, USAID/Tegucigalpa, Health Sector II
Dr. Arturo Maradiaga	Epidemiologist, DETV
Dr. Ramon Soto	Epdemiologist, DETV
Dr. Ricardo Kaffe	Epidemiologist, DETV
Dr. Eduardo Fernandez	Epidemiologist, DETV
Dr. Laura-Julia Salgado	Epidemiologist, DETV
Dr. Agustin Lago Arroyo	Epidemiologist, PAHO, stationed with DETV
Dr. Maria-Elena Reyes	DETV Supervisor of Area 2, Region 3, Progreso
Mr. Norman Lopez	Chief of DETV, Area 2, Region 3, Progreso
Dr. Oscar Antonio Molina	Chief of Region 3, Honduran Ministry of Public Health, San Pedro Sula
Dr. Andrew Arata	Vector Biology and Control Project, Arlington

Appendix C

Report of Anopheles larval habitat reconnaissance in El Progreso, to Jose Gomez from Edward Walker, Nov. 22-23, 1990

INFORME DE LA PEZQUIZA DE LARVAS DE ANOPHELES EN EL AREA 2, REGION 3, (PROGRESO) DESPUES DE LA INUNDACION: 22-23 NOVIEMBRE 1990

RESUMEN

En las últimas semanas, lluvias pesadas han causados grandes inundaciones en la costa del norte de la República de Honduras, especialmente en la Región Sanitaria No. 3 del Ministerio de Salud Pública (MSP). Los aguas extensivos dejados por esta inundación criaron la posibilidad de una situación grave por las enfermedades transmitidas por mosquitoes: malaria y dengue. Es posible que los aguas dejaron criaderos grandes para las larvas de Anopheles albimanus, el vector principal de la malaria en esta región. Esta situación podría resultar en un aumento de la población de Anopheles, y un resultante epidemia de la malaria. Al pedido del Director de la División de Enfermedadedes Transmitidas por Vectores (DETV), fui al Progreso para cooperar con el personal de la DETV en un análisis de la situación.

Llegamos a Progreso el jueves 22 de Noviembre a las dos de la tarde. Visitamos todos los 26 criaderos al oeste de la carretera principal a Tela indicados en un mapa de la DETV con la excepción de las arroceras - (criaderos 8 - 11) cerca de la Canal de Alivio (no hubo pasaje por alla). La

mayor parte del agua dejado por la inundación había retrocedido al Río Ulúa u a uno de sus brazos. El agua en los arroyos (por ejemplo, Quebrada Seca) y en las zanjas estuvo corriendo bién. En general, encontramos muy pocas larvas anofelines. Todos los parceles del gran criadero #6, una arrocera de aproximamente 830,000 metros cuadrados, fueron seca y sin arroz. Los criaderos 7, 12, 13, y 14 (lagunas associadas con arroyos) tuvieron pocas o ningunas larvas. Atrás de la hacienda Versalles había una sistema de zanjas asociadas con praderas y platanales nuevas que tuvieron unas larvas de Anopheles, pero no muchos. Sin embargo, encontramos en este area larvas (y adultos que nos picaron) de Aedes y Psorophora. Atrás de la Hacienda Julio Rodriguéz, encontramos una área de palmas africanas que había tenido bastante inundaciones. Allá, una sistema de zanjas y lagunas pequeñas no tuvieron larvas, y el agua todavia estaba retrocediendo. Este sistema incluyó criaderos 15-26.

En el viernes 23 de Noviembre, visitamos Palermo, un sector del Progreso. Dos trabajadores locales de la DETV, Emilio Aguilar y Oscar Moises Ochoa, nos acompañaron. Desfortunadamente, no había un plano de los criaderos para este sector. Tampoco había un sistema de enumeración de los criaderos, sin embargo encontramos bastante criaderos allá. Varios de los habitantes de Palermo nos dijeron que los zancudos les molestaban mucho en la noche. Descubrimos que trabajadores de la DETV hubieron completado pezquizas de Palermo en Septiembre y Octubre del 1990. Entonces, tuvimos información de la abundancia de larvas anofelines en este lugar. Investigamos mas de 14 criaderos en este sector, pero no notamos los indices larvarios. Encontramos cuatro tipos de criaderos: (1)

canales en la cañera grande atrás de Palermo; (2) agua situada en los terrenos de la gente; (3) agua negra en zanjas; y (4) canales en praderas cerca de los puentes de la linea férrea. En los canales en la cañera, con un tamaño de un kilometro cuadrado, había agua estancada e agua corriente.

Encontramos una cantidad de larvas anofelines en estos canales, en números iguales que encontraron los trabajadores de la DETV en sus pezquizas en Septiembre y Octubre, con indices larvarios de 0% hasta 45%. En agua ubicada en los terrenos de las casas, encontramos muchas larvas anofelines y de Culex también. En zanjas de agua negra, encontramos pocas larvas. En los canales cerca de la férrea, encontramos larvas anofelines con frecuencia. En todos los criaderos que nosotros investigamos, encontramos larvas anofelines en números iguales que encontraron la DETV en sus pezquizas en Septiembre y Octubre antes de la inundación.

RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES DE LAS PEZQUIZAS

Tratamientos con Bti.

1. La mayor parte del agua de las inundaciones en El Progreso ha retrocedido. Mucha del agua que queda va a secar o retroceder pronto porque hay menos lluvia ahora.
2. Nosotros creemos que las inundaciones causaron un disminución de las larvas anofelines en la área al oeste de Progreso. Aúnque hay más ambíto natural de larvas anofelines en Progreso, este ambíto va a desaparecer pronto sin producir una nueva población grande de Anopheles albimanus. También, las arroceras cerca de la ciudad no tienen agua ahora y por esta

razón tampoco tienen larvas. Por estas razones, la DETV no se debe iniciar un programa de emergencia de control de larvas con Bti. en esta parte de Progreso.

3. Por contraste, en Palermo encontramos muchas larvas anofelinos en abundancia similar a las pezquizas antes de las inundaciones. En esta área, la DETV puede iniciar un programa de control de larvas con Bti.

4. En otras áreas afectadas por las inundaciones, recomendamos que la DETV aumenta sus reconocimientos de las poblaciones de Anopheles albimanus en la siguiente manera:

a. Coordinar con otras entidades (CEDEN, Soto Cano, etc) en un reconocimiente areo de la areas afectados por las inundaciones para identificar criaderos potenciales y indicarlos en un mapa.

b. Asignar una prioridad a estos criaderos según datos epidemiológicos y entomológicos ya existentes.

c. Enviar equipos terrestes a los lugares prioritarios indicados en el reconocimiento areo para averiguar la existencia de las larvas anofelines.

d. Evaluar los datos de los reconocimientos con los datos epidemiológicos para tomar decisiones al nivel de Area de Salud.

e. Iniciar el medido de control apropiado al criadero control larvario (físico, químico, o biológico), control de los mosquitos adultos, u medicación.

5. La DETV se debe aumentar su capacidad de vigilancia epidemiológica con una recolección y análisis mas agil de las láminas en las áreas afectadas por las inundaciones. Esta medidia podría implicar el desplazamiento del personal de campo y/o del laboratorio a estas áreas.

FACTORES LIMITANTES NOTADO EN EL CAMPO

1. El personal de campo faltaba botas, cucharones, goteras, transporte, mapas, y pesquizas larvarias suficientes para realizar los reconocimientos de los criaderos. Hay que coregir estos problemas lógisticos.

2. El personal de campo necesitaba mejor supervisión entomológica.

Appendix D

1990 DETV plan for expanded Bti use in the developing biological larval control project

República de Honduras
Ministerio de Salud
Div.Control de Vectores

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES DE EJECUCION
DEL PROYECTO DE UTILIZACION DEL Bti
PARA EL CONTROL DE LARVAS DE ANOFELINOS
EN REGIONES SANITARIAS No.III, IV, VI, Y VII (período Febrero-Septiembre, 1990)

No.	AREAS DE ACCION	ACTIVIDADES	REGION SANITARIA III	IV	VI	VII	FECHA DE	HASTA	RESPONSABLE	INDICADOR DE CUMPLIMIENTO (OBSERVACIONES)
1.	Programación -	1.1. Reconocimiento geográfico y elaboración de coronas de localidades seleccionadas. (se incluye selección definitiva de localidades) de acuerdo estudio retrospectivo epidemiológico y evaluación entomológica.	A-1 A-2 A-6	A-1 A-2	A-2 A-3 A-4	A-1 A-2	19/02/90	-29/06/90	Coordinación proyecto en colaboración con equipos regionales.	Croquis de coronas por localidad. Presupuesto de gastos de actividad compartido por falta de presupuesto (ver costos).
		1.1.1 Compilación de datos					28/05/90	-22/06/90		
		1.1.2 Terminación de análisis					22/06/90	-06/07/90		
		1.2 Adiestramiento de personal regional en la aplicación de Bti (uso y manejo de bombas G.L.V.)	6insp	5insp	5insp	5insp	11/06/90	- 16/06/90	Equipo operaciones de campo (Guerrero, Mejía, Andino y Calix	Plan de capacitación regional. Guía de aplicación de Bti
2.	Estrategias de ejecución	2.1 Aplicación de Bti en seleccionadas durante ciclos de tratamientos de cada 7 días	6insp	5insp	5insp	5insp	25/07/90	- 24/10/90	Equipo local de Ejecución del proyecto en coordinación con nivel central.	Plan de aplicación por región.
		2.2 Verificación de criaderos cada 7 días (Encuestas entomológicas)	6insp	5insp	5insp	5inps	25/07/90	- 24/10/90	Equipo local de ejecución del proyecto en coordinación con nivel central.	Plan de evaluación por región.
		2.3 Encuestas sociales en localidades seleccionadas (solamente en la Región 3)	6insp	5insp	5insp	5inps	6/08/90	- 30/08/90	Coordinación-proyecto	Encuestas por localidad

No.	AREAS DE ACCION	ACTIVIDADES	REGION SANITARIA III	IV	VI	VII	FECHA DE	HASTA	RESPONPONSABLE	INDICADOR DE CUMPLIMIENTO (OBSERVACIONES)
3.	Monitoria y Evaluación	3.1 Supervisión directa operacional	6insp	5insp	5insp	5insp	11/06/90	- 30/10/90	Coordinación proyecto y supervisión	Plan de Supervisión (Número de Supervisiones directas)
		3.2 Tabulación de datos					01/11/90	- 30/11/90	Coordinación-proyecto	Instrumentos de tabulación de datos
		3.3 Reajustes operacionales					Hasta 31/10/90		Coordinación-proyecto	
		3.4 Análisis de resultados y divulgación (Incluye I y II año)					Hasta 15/12/90		Coordinación-proyecto	Remisión de Evaluación
4.	Cooperación Técnica	4.1 Asistencia proyecto V.B.C. en ejecución y evaluación							Proyecto V.B.C. US/AID	Visita del Dr. Ed Walke para asistencia del proyecto
		4.1.1 Ejecución					10/07/90	-04/08/90		
		4.1.2 Evaluación					10/12/90	-15/12/90		

PRESUPUESTO DE GASTOS DEL PROYECTO Bti 1990

No.	ACTIVIDAD	Unidad Cantidad	Costo Unitario (Lps)	Sub-total (Lps)	Total (Lps
1.	Programación y ejecución				
1.1	Reconocimiento Geográfico y elaboración de coronas de localidades (47 días)	Brigada 4	423.00	16,920.00	
1.2	Adiestramiento de personal regional (5 días)	Partic.24		3,750.00	
1.3	Aplicación de Bti en campo y verificación (Evaluación entomológica) E.S.) (83 días)	Brigada 4		31,374.00	
1.4	Suspensión y evaluación	Sup. 3		12,540.00	
	Total			64,584.00	

Appendix E

Work plan for El Progreso developed by Edward Walker under Jose Gomez' signature for Dr. Oscar Antonio Molina, Director of Sanitary Region #3, Nov. 27, 1990

DIRECCION GENERAL DE SALUD

DIRECCION CABLEGRAFICA "DIGRALSA"

DIVISION DE CONTROL DE VECTORES
Tegucigalpa, D.C. Honduras, C.A.

TELEFONOS NUMEROS: 32-7899 Y 32-6783

OFICIO Nº 672-90-JDETV

27 de noviembre de 1990

Doctor
Oscar Antonio Molina
Director Región Sanitaria Nº 3
San Pedro Sula

Estimado Doctor:

Por este medio remito a Usted el Plan de Actividades en la aplicación de Bti en esa región sanitaria, actividad que será realizada por parsonal de este nivel y esa región.

Agradeciendo su atención al presente es grato suscribirme atentamente,

ING. JOSE RUBEN GOMEZ S.
Jefe D E T V

cc: Sr. Ministro de Salud
Sr. Director General de Salud
Sr. Subdirector Gral. REgión Nor Occidental
ARchivo
JRGS/vpr

DIRECCION GENERAL DE SALUD

DIRECCION CABLEGRAFICA "DIGRALSA"

DIVISION DE CONTROL DE VECTORES

Tegucigalpa, D.C. Honduras, C.A.

TELEFONOS NUMEROS: 32-7899 Y 32-8783

PLAN DE ACTIVIDADES EN LA APLICACION DE Bti
REGION SANITARIA Nº 3

Despues de haber realizado gira de inspección en el área Nº 2 de la REgión Sanitaria Nº 3 para conocer la magnitud del problema con relación al índice de infectación en los criaderos de Anopheles albimanus y decidir la aplicación del Bacilus Thuringiensis (Bti) presentamos a Usted plan a desarrollarse del 27 de noviembre al 28 de diciembre 1990.

1) 27 - 11- 90 Traslado a la REgión Sanitaria Nº 3, presentación del Plan a las autoridades regionales.

28-29/11/90 SElección de 9 criaderos adecuados para la aplicación experimental del Bti en sus dos composiciones polvo, líquido y control experimental.

30 - 11 -90 Aplicación del BAcillus (Bti)

1 a 5/12/90 Inspección diaria a criaderos en estudio

Despues del dia 6/12/90 La inspección se hará cada 3 días, se incluyen nuevas aplicaciones dependiendo el tipo de componente.

Durante el mismo tiempo se harán pesquizas larvarias en otras áreas de la región como ser 1 y 3 y se harán aplicaciones del BAcillus como medida de apoyo al problema actual.

2) NECESIDADES:

- Personal: Del nivel central 4 personas:
  Edward Walker, Pedro Guerrero Pance, Ramón Rufino Chávez, Gerardo Alvarado y la inclusión de tres personas más del nivel regiónal.

- Equipo:
  2 bombas Hudson a ULV
  1 bomba de mochila solo
  2 bombas aspersoras Hudson
  6 Dipper
  3 pares de botas altas
  2 yardas de franela
  2 yardas de manta
  Bti
  5 tambos de 5 galones líquido
  1 caja de polvo en botellas
  5 Bolsas Bti granulado

DIRECCION GENERAL DE SALUD

DIRECCION CABLEGRAFICA "DIGRALSA"

DIVISION DE CONTROL DE VECTORES

Tegucigalpa, D.C. Honduras, C.A.

TELEFONOS NUMEROS: 32-7899 Y 32-8783

- TRansporte:
  El necesario para equipo y personal con permiso correspondiente para movilizarnos en horas y días inhábiles.

- Viáticos:
  30 días de pago de viáticos sin incluir 23, 24 y 25 de diciembre 1990 pagados de nivel central.

Del nivel regional se necesita lo siguiente:

a) Abastecimiento de combustible

b) ACeite fuera de borda

Appendix F

Preliminary report of the use of Bti for
Anopheles larval control
in El Progreso, to Jose Gomez
from Edward Walker, Dec. 14, 1990

EL Progreso

12 Diciembre 1990

INFORME PRELIMINAR DEL PROYECTO DEL USO DE "B.T.I."
EN AREA #2, REGION SANITARIA #3
Noviembre - Diciembre 1990

"Bti." (abreviatura de Bacillus thuringiensis israelensis) es un larvicida derivada de una bacteria. Es muy selectiva para larvas de zancudos y también tiene acción rapido. Las larvas tienen que comer Bti. para ser afectadas. Las pupas no comen, y por eso no son afectadas. No hace daño a otros insectos, ni animales o plantas, y puede ser aplicada en agua usada por ganado, para larvar, y para bañarse. Sin embargo, es mejor no poner Bti. en agua para tomar.

Bti. es fabricado por compañias en Europa y Norteamerica. Estas compañias producen formulaciones de líquido, granula, y liberación sostenida (con actividad residual). Formulaciones de líquido y granula pueden ser aplicadas con equipo regular.

Desde 1988, la DETV ha considerado el uso de Bti. en su programa de control de Anopheles vectores de la malaria. Un equipo de DETV trabajaron con unos asesores técnicos de la AID (Edward Walker, Lawrence Lacey, Allan Inman) en 1989 en varios lugares en Honduras para aprender sobre el uso de Bti. de esta manera. El grupo de personas del equipo (Pedro Guerrero, Rufino Chavez, Gerardo Alvarado) y un asesor técnico (Edward Walker) de la AID trabajaron en el área del Progreso desde Noviembre 27 hasta el Diciembre, 1990, para continuar sus experiencias en el uso de Bti. El equip tuvo tres objetivos:

1. Realizar pesquizas y tratamientos para matar larvas de zancudos durante la emergencia por inundaciones;
2. Practicar y comparar el efecto de aplicacion de Bti. en líquido con motomochilas de bruma y ULV;
3. Realizar una prueba del efecto del Bti. en polvo experimental.

El equipo inició sus actividades con el reconocimiento de criaderos e hizo aplicaciones de Bti. cerca de la carretera desde Progreso a Tela y desde Progreso a Lima; tambien, en San Miguel, Las Dos de Mayo, Fatima, Corocol I y II, Berlin, Quebrada Seca, cerca de las Haciendas Versalles y Julio Rodriguez, Rancho la Esperanza, Mangandí, Brisas del Ulua, Remolinos, Palermo, y arrocercas de BAPROSA. En total hasta el dia 11 de Diciembre se tenían seleccionado 25 criaderos de los cuales aproximadamente 18 fueron positivos por Anopheles, y se realizaron 30 aplicaciones de Bti. en sus diferentes composiciones se incluyeron criaderos temporales ocasionados por las lluvias y las inundaciones.

Once criaderos (Palermo, Magandí, Brisas del Ulua, Rancho de Esperanza) fueron usados en las comparaciones de la eficacia de aplicaciones de Bti. en líquido con motomochilas de ULV y bruma. Las eficacias con las motomochilas fueron iguales, con 100% de mortalidad en los criaderos tratados en las 24 horas después de aplicación. Análisis del espectro de tamaños relativos de gotitas producido por las motomochilas mostró que la motomochila de ULV hacía gotitas de 0.1 hasta 0.2 millimetros en diámetro, y la motomochila de bruma hacía gotitas de 0.4 hast 0.7 miillimetros en diámetro. Por eso, es mejor usar la motomochila de ULV en criaderos con más vegetación, porque las gotitas penetrarán mejor que las de bruma.

El equipo realizó la prueba del polvo de Bti. en dos criaderos cerca del edificio de Coprosa. Los trabajadores lo aplicaron en Diciembre 5, y sacaron cucharanadas en varios días siguientes. El polvo mató todas las larvas en el criadero tratado, y el polvo continuó matando larvas por unos días después de aplicacion. El equipo continuará con esta prueba por más tiempo.

Esta es una breve reseña de las activadades durante nuestra estadia en la ciudad de Progreso, Area #2 de la Región Sanitaria #3. Se agradece a las autoridades del area su valiosa cooperación y apoyo a nuestra esfuerzos.

cc: Dr. Oscar Antonio Molina

Dra. Maria Elena Reyes

Sr. Norman López

Appendix G

Recommendations on the continued use of Bti for Anopheles larval control by DETV, to Jose Gomez from Edward Walker, Dec. 14, 1990, forming part of the report presented in Appendix F

RECOMENDACIONES

1. La DETV puede usar el Bti. como medida complimentaria con la destrucción de los adultos y el control físico larvario. Bti. no sirve como una intervención única para el control de los vectores de la malaria.

2. El equipo de trabajadores de la DETV que actualmente realizó las actividades de aplicación del Bti. está suficientamente preparado para poner en practica en las regiones más apropiadas para el uso del Bti.

3. Sería mejor desarrollar el programa del uso de Bti. primero en lugares donde hay buen reconocimiento de criaderos de larvas, por ejemplo Catacamas y Comayagua.

4. La DETV debe realizar el cronograma de actividades para la utilización del Bti. en el período Febrero - Octubre, 1991, según el cronograma de esto período de 1990, pero en pocos áreas que este cronograma presenta. La DETV debe empezar su tratamientos de criaderos en esta parte de su programa en Junio, cuando empiezan las lluvias, y no en Julio. También, la DETV debe considerar el control larvario en los meses de Enero - Mayo para reducir poblaciones de Anopheles antes de las lluvias. El

equipo actual tiene capacidad de aplicar solamente una parte de este cronograma. Entonces, la DETV tiene que capacitar más equipos en la aplicación de Bti. para realizar sus metas. Ahora, la DETV tiene aproximadamente 400 galones de líquido de Bti. para empezar sus actividades. Una vez que haya movimiento en el consumo del Bti., tendrá que comprar más para continuar en su programa para 1991 seqún la tabla adjunto a estas recomendaciones.

5. La DETV, con la oficina de salud de AID/Tegucigalpa, debe considerar la compra de vehículos especiales ("todo terreno") para este programa de la aplicación del Bti. Los trabajadores del campo al nivel local van a necesitar estos vehículos para sus reconocimientos y aplicaciones en terreno áspero, y otros vehículos como Toyota Land Cruiser generalmente no van a ser disponible. En este momento, la DETV podría utilizar cuatro de este tipo de vehículo con la estipulación que ellos serán utilizados para el programa de control larvario.

6. Las motomochilas de Solo no se convierten directamente para la aplicación del polvo ni granula. Ahora mismo, la DETV cuenta solamente con una motomochila (la de JACTO) que se convierta en esta manera. La DETV debe pedir a la compañia de Solo si hay una manera para adaptar las motomochilas para la aplicación del Bti. en granula. Si no, se puede utilizar estas motomochilas para otras aplicaciones como bruma de fenitritión de 40% lo cual dispone la DETV en este momento.

7. La DETV debe completar la "Guía del Uso del Bti." para su uso en la capacitación de los nuevos equipos del nivel local antes de empezar el programa para 1991.

USO POTENCIAL DEL B.T.I. SEGUN
EL CRONOGRAMA DE LA DETV, 1991

	FORMULACION	
MES	LIQUIDO	GRANULA
JUNIO	?	?
JULIO		25 GALONES
100 LIBRAS		
AGOSTO	100 GALONES	250 LIBRAS
SEPTIEMBRE	100 GALONES	250 LIBRAS
OCTUBRE	100 GALONES	250 LIBRAS
NOVIEMBRE	?	?

Appendix H. Spanish version of "A field guide to use of Bti."

INTRODUCCION

Bti. (abreviatura de Bacillus thuringiensis israelensis) es una larvicida biologico derivado de una bacteria. Es muy selectivo para larvas de sancudos y tambien tiene accion rapida. Las larvas tienen que comer Bti. para ser afectadas. Las pupas no comen, y por eso no son afectadas por Bti. No nace dano a otros insectos, peces, ni animales, y puede ser aplicado en agua usada por ganado, para lavar, y para banarse. Sin embargo, es mejor que no ponga Bti. en agua para tomar.

Bti. es fabricado pro companias en Europa y Norteamerica. Estas companias producen formulaciones de liquido, granulado, y liberacion sostenida. Las formulaciones de liquido y granulado pueden ser aplicados con equip regular.

El objetivo de esta guia es proveer informacion e instruccion fundamental en el uso de Bti. contra larvas de Anopheles en el programa de control de vectores de la malaria.

Agradecimiento

La preparacion de este documento habia asistida con fondos del Pryecto Biologia y Control de Vectores bajo el contracto (Numero DPE-5948-C-5044-00) con Medical Service Consultants, Inc., Arlington, Virginia, E.E.U.U. para la Agencia de Desarrollo Internacional, Oficina de Salud, Bureau de Ciencias y Technologia.

ALMACENAJE Y MANEJO

Bti. en liquido. Estos recipientes deben ser almacenados en bodegas seguras, en la sombra, lejos de fuentes de calor. No almacene en luz de sol directa. Compre volumenes de Bti. para uso en estacion lluviosa si el posible, y no reciba entregas mas de tres meses antes de la estacion de aplicacion. Si es posible, se le debe pedir al proveedor que envie Bti. que habia preparado recientemente. El ingrediente activo de Bti. se concentra en el fondo del recipiente; por lo tanto no compre recipientes de treinta galones proque es dificil mezclarlos a mano. Compre recipientes de cinco galones (Teknar HP-D) o de 2.5 galones (Vectobac 12AS). Es facil mezclar estos recipientes pequenos a mano.

Hay que agitar los recipientes de Bti. antes de mezclarlos y ponerlos en las bombas. Si mezcla con agua en el tangue de la bomba, uselo completamente y no almacene en la bomba los residuos pro la noche. Si no mezcla con agua (por ejemplo, en el tangue de la bomba ULV), se puede almacene en la bomba por la noche.

Bti. granulado. Se envia granulas en sacos de cincuenta libras o mas. Almacene como Bti. en liquido. Ponga los sacos encima de madera y cubra los sacos con plastico para protejerlos de agua. No compre mas d lo que pueda usar en esa estacion.

Bti. en briqueta. La formulacion de liberacion sostenida es una briqueta

como una dona en tamana y aspecta. Se envia en cajas de briquetas. Cada caja tiene hojas de papel y plastico con briquetas en cada hoja. Almacene y maneje como los sacos de granulado.

EQUIPO DE APLICACION

Bomba Hudson. Cada rociador debe saber el uso de la Bomba Hudson. Los puntos de preparacion para aplicar Bti. son los siguientes:

1. Quite tl tapa de la bomba.
2. Agite el recipiente de Bti. bien a mano, y abralo.
3. Deposite el Bti. en una probeta y mida 160 milimetros.
4. Deposite este cantidad de Bti. en el tanque de la bomba.
5. Utilise agua limpia para mezlar con este Bti.
6. Ponga un filtro en la boca del tanque, y llenelo con agua hasta completar ocho litros.
7. Cierra el tanque y agitelo.
8. De a la bomba una presion entre 25-55 libras de aire, con no mas que 55 golpes.
9. Apliquela.
10. Use todo del liquido, y limpie en tanque con aguae despues de la aplicacion.

Motomochila de bruma. Cada rociador debe saber el uso de la motomochila de bruma. Los puntos de preparacion para aplicar Bti. son los siguientes:

1. Mezcla combustible segun intrucciones, con aceite de dos tiempos y gasolina. Llene el tanque de combustible se no esta lleno.

2. Cierre la valvula de liquido en el brazo, y cambie la valvula debajo del tanque de insecticida.

3. No usemos mas que ocho litros en el tanque de insecticida porque pesa mucho.

4. Deposite cuatro litros de agua en el tanque de insecticida. Use aguq limpia se es posible, y utilise el filtro encima de este tanque.

5. Agite el recipiente de Bti. a mano, y mida 800 mililitros de Bti. en una probeta . Deposite esta cantidad de Bti. en el tanque.

6. Llene el tanque con agua a la marca de ocho litros.

7. Agite suavemente la motomochila a mano para mezclar el Bti. y el agua.

8. Arranque la motomochila. Si el motor esta frio, arranquela con "choke" cerrado y valvula reguladora a maximo. Si el motor esta caliente, arranquela con el "choke" abierto y valvula reguladora en posicion central.

9. Ponga la motomochila en la espalda del obrero, y ajuste las correas a posicion comoda. Ponga la valvula reguladora a maximo, y abra la valvula de liquido en el brazo de la motomochila para aplicar.

10. Use todo el liquido y limpie el tanque de insecticida con agua despues de la aplicacion.

Motomochila Hudson de ULV. Cada rociador debe saber el uso de la motomochila Hudson de ULV. Los puntos de preparacion para aplicar Bti. son los siguientes:

1. Mezcla combustible segun intrucciones, con aceite de dos tiempos y gasolina. Llene el tanque de combustible se no esta lleno.

2. Cierre la valvula que esta debajo del tanque de insecticida.

3. Agite el recipiente de Bti. a mano, y deposite Bti. sin agua en el tanque.

4. Arranque la motomochila segun instrucciones.

5. Aplique.

10. Use todo el liquido y limpie el tanque de insecticida con agua despues de la aplicacion.

CRITERIOS PARA APLICACION

Las larvas de Anopheles viven en criaderos variados, incluyendo lagunas, arroceras, podreros inundados, charcos, y zoneas de vegetacion en las orillas de rios y arroyos. Como siempre las larvas viven con vegetacion encima del agua, y por las orillas sin plantas. Se puede colectar larvas en estas zonas de criaderos con dippers. Si usted esta aprendiendo usar Bti., debe practicar encontrando y colectando larvas con dipper, para acostumbrarse a los criaderos y a las larvas.

Cuando se le debe aplicar Bti.? Si un criadero tiene larvas de Anopheles, debe aplicar Bti. para matarlas. Para determinar si hay larvas en un criadero, nosotros recomendamos que saque 10 cucharonadas en puntos diferentes del criadero donde haya larvas. Si encuentra sola una larva (un promedio de 0.1 larvas por cucharonada), entonces debe aplicar Bti. Si no encuentra larvas, no apliquesela.

Con que frecuencia debe ser aplicado Bti. a un criadero? Bti. tiene efecto

rapido, por lo tanto 24 horas despues de aplicacion satisfactoria no se encuentra larvas en el criadero. Bti. en liquido o granulado no tiene efecto residual y por lo tanto las larvas que se crian 24 horas o mas despues de aplicacion no moriran. Por consecuencia se pueden encontrar larvas en el criadero dos dias despues de la aplicacion. Sin embargo, estas larvas de la primer etapa requieren aproximadamente 7 dias o mas para desarrollar a la etapa de pupa. Por esta razon, no hay que aplicar Bti. hasta 7 dias despues de la primera aplicacion satisfactoria.

Que tipo de formulacion debe ser usado en un criadero? La seleccion del tipo de formulacion de Bti. se depende en el efecto deseado, y en los recursos aprovechables. Liquidos son muy poderosos en tazas de aplicacion bajas, y por eso no hay que usar mucho liquido en un area. Sin embargo, los liquidos no tienen efecto residual. Los granulas tambien son muy poderosas, pero hay que usar mas granulas para obtener efecto positivo, y los peces comen las granulas. Granulas penetran vegetacion bien. En general, la formulacion de granulas es el peor de toda porque las granulas pesa mucho, son abultados, y son caros.

Que tipo de equip debe ser usado en criaderos diferentes? La seleccion de tipo de equip depende en las condiciones del criadero. Es mas facil y sencillo aplicar con la bomba Hudson; cuando un criadero es pequeno y accesible, y tiene una corona de begetacion sobre al agua. Ejemplos de criaderos en los cuales el uso del la bomba Hudson es apropiado son: lagunas pequenas, charcos, zanjas, arroyos y canales pequenos. En

criaderos mas grandes y con mucha vegetacion, el uso de motomochilas es mas apropiado. Las motomochilas de bruma y de ULV pueden ser usadas en condiciones similar. En general, la motomochila de ULV cubre mas area y usa menos Bti. que la motomochila de bruma.

METODOS DE APLICACION

Cuando va a aplicar con la bomba Hudson, lleve la amarrade con correa en el hombro. Apriete la pistola para rociar. Apunte la boquilla al agua, y muevala de un lado a otro sobre el agua lentamente. Cubra bien las zonea de vegetacion y rocie a un metro mas alla de la orilla o corona de vegetacion. Si hay bastantes plantas densas, rocie en el agua alrededor de estas.

La velocidad y direccion del viento, y el tamano y tipo de criadero influyen aplicaciones de Bti. con motomochilas. Si es posible, aplique cuando hace poco viento. Si tiene que caminar alrededor del criadero, lleve el brazo al nivel de la cintura y apunte la boquilla hacia el agua bajandolo un poco cuando rocie contra el viento. Cuando rocie sin viento o en direccion del viento, mueva el brazo verticalmente desde la rodilla hacia el hombro. Camine lentamente. Cubre bien las zonas de vegetacion y el perimetro, rociando un metro mas alla de las orillas o coronas encima del agua. Para aplicar con liquido o granulado con motomochilas en arroceras u otros criaderos cubiertos enteramente de vegetacion, y en agua llana, camine lentamente atravezando el criadero hasta llegar al otro lado cuando aplicando.

A veces, una aplicacion no es satisfactoria. Esto puede occurrir si

hubieron problemas de equipo, de taza baja de aplicacion de Bti., la forma de mezcla, u otras razones. Es muy importante evaluar la aplicacion de Bti. en cada criadero un dia despues de aplicacion para determinar si habia una aplicacion satisfactoria. Si se encuentra una larva en 10 cucharonadas (o se sada mas de 10 cucharonadas, un promedio de 0.1 larvas por cucharonada), hay que aplicar otra vez.

ORGANIZACION DEL TRABAJO

Hay tres constrenimientos que afectan el uso de Bti. para el control de Anopheles en el programa de malaria: el area de la zona, la duracion del ciclo de aplicacion, y los recursos humanos para trabajar. Un guia para establecer el area del aplicacion en una comunidad es usar el cuadrado de la distancia que pueden volar adultos de Anopheles albimanus. Esta distancia, basada en estudios del comportamiento de este zancudo, es aproximadamente dos kilometros. Entonces, hay que medir distancies de cuatro kilometros afuera de la comunidad e incluyendo todos los criaderos en esta zona, en el programa de control de larvas.

A nivel local, la DETV debe reunir un equip de trabajadores para conducir pesquizas, aplicar Bti., yu evaluar las aplicaciones. Este equipo debe registrar sus datos de los resultados y comunicarlos a su jefe. Tambien, el equip tendra la responsibilidad de mantenimiento de las bombas y motomochilas. Este equip puede usar uno de dos metodos para la organizacion de las actividades de sus equipos. El primer metodo es permitir que el equip trabaje reconociendo y aplicando a todos los criaderos que pueden hacer en un dia. El segundo es establecer un horario estricto de

reconocimiento y aplicacion. El equip debe usar dos formularios para registrar sus datos: una formulario para pezquisas y la otra para aplicacion. El supervisor tiene la responsibilidad de transferir esta informacion a un cuaderno de tarjetas para cada criadero. Estas tarjetas tendran la historia de pezquisas y aplicaciones para cada criadero en la zona.

TABLAS ESPECIALES

Tabla 1. Guia para mezclar Bti. y agua en bombas y motomochilas. Nota: no mezcla Bti. con agua en la motomochila Hudson de ULV.

Bomba Hudson	Volumen de Agua y Bti en juntos	Volumen de Bti.
	1 litro	20 ml
	2 litros	40 ml
	3 litros	60 ml
	4 litros	80 ml
	5 litros	100 ml
	6 litros	120 ml
	7 litros	140 ml
	8 litros	160 ml
Motomochila de bruma		
	1 litro	100 ml
	2 litros	200 ml
	3 litros	300 ml
	4 litros	400 ml
	5 litros	500 ml
	6 litros	600 ml
	7 litros	700 ml
	8 litros	800 ml

Table 2. Tabla de tazas de aplicacion de volumen de Bti. por area de un criadero.

Formulacion	Metodo de aplicacion	Taza por area
Liquido	bomba Hudson	0.3 litros por hectarea
Liquido	motomochila de bruma	1.9 litros por hectarea
Liquido	motomochila de ULV	0.6 litros por hectarea
Granulado	motomochila or a mano	5.1 kilos por hectarea

Tabla 3. Equipo necesario de pezquisas y aplicaciones para trabajdores de DETV.

Equipo de pezquisas

1. Formularios, cuadernos, plumas.
2. Cucharones (dippers)
3. Botas de ule.
4. Capotes.
5. Croquis de la zona.

Equipo de aplicacion

1. Bomba Hudson.
2. Motomochila de bruma u ULV.
3. Recipientes de Bti.
4. Orejeras suaves.
5. Balde.
6. Filtro.
7. Probeta.
8. Bujia adicional.
9. Alambre para limpiar boquillas.
10. Llaves de tuercas y destornillador.
11. Recipiente de combustible.
12. Aceite de dos tiempos.
13. Manta.