



Escuela de Salud Pública de México
INSP Maestría en Salud Pública

Protocolo:

“Eficacia del control biológico del Dengue, con peces del genero *Poecilia reticulata* en un escenario experimental en la colonia “El Charco” del municipio de Tetecala Morelos.”

Alumno:

Carlos Eduardo Martínez Rangel
eduard2_mr@live.com.mx, carlos.martinez@espm.insp.mx

Programa:

**Maestría en Salud Pública con área de concentración en Epidemiología
Generación 2012-2014**

Comité asesor:

Director: **Dr. Ángel Francisco Betanzos Reyes, INSP**
Tutor: **Dr. Rogelio Danis Lozano, INSP**
Lector Externo: **Dr. Miguel Ángel Vaca Marín**

ÍNDICE

	Página
Portada	1
Índice	2
Introducción	5
Antecedentes	7
Marco teórico	8
El dengue como problema de salud, reseña histórica.	8
Distribución mundial del dengue	9
Dengue en América Latina	9
Dengue en México	10
Dengue en el Estado de Morelos	13
El virus	13
El vector	14
Fase acuática	17
Fase aérea	18
Ciclo de transmisión	19
Macrofactores (Ambientales, sociales y criaderos)	21
Microfactores	22
El huésped	22
La Enfermedad	23
Patogénesis	23
Aspectos clínicos	24
Procedimientos para la vigilancia epidemiológica	25

Medidas de prevención y control	26
Control vectorial integrado	26
Control físico, químico y biológico	26
Saneamiento ambiental	27
Vigilancia del vector	27
Muestreo de la población larvaria	28
Muestreo de la población adulta	28
Participación social y la comunicación	30
Estrategias de prevención y control	30
Estrategias de combate al mosquito <i>A. Aegypti</i>	30
Control biológico con peces	31
Planteamiento del problema	33
Justificación	34
Objetivo	36
Materiales y métodos	36
Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	36
Monitoreo	37
Materiales	37
Criterios de evaluación	39
Consideraciones éticas	40
Resultados	42
Condiciones ambientales	42
Recipientes colocados	42
Tanques domiciliarios	45
Sobrevida de los peces	47

Discusión	48
Conclusiones	49
Presentación de resultados	52
Limitaciones	53
Anexos	54
Hoja de registro semanal	54
Hoja de consentimiento informado	55
Formato de exploración entomológica	57
Bibliografía	58

Eficacia del control biológico del Dengue, con peces del genero *Poecilia reticulata* en un escenario experimental en la colonia “El Charco” del municipio de Tetecala Morelos.

INTRODUCCIÓN

En el continente americano el dengue se considera la enfermedad re-emergente más importante y por su trascendencia en la variada evolución de la presentación de formas graves (1), además por su aumento progresivo en el número de casos. Las altas tasas de morbilidad y mortalidad, propician situaciones críticas para los servicios de salud de cualquier región cuando se presentan brotes epidémicos por esta enfermedad (2). A pesar de los esfuerzos para su control, los casos de dengue continúan incrementando en diversas partes del mundo. A inicios del siglo XXI, se ha estimado como la enfermedad viral transmitida por vectores de más amplia distribución en el mundo; más de 100 países en las regiones tropicales y subtropicales se encuentran en riesgo de padecer esta enfermedad (3). En muchos países de la región de las Américas incluyendo México, desde hace mucho tiempo circulan los cuatro diferentes serotipos virales causantes de esta enfermedad; incluso circulando al mismo tiempo (Den-1, Den-2, Den-3 y Den-4) (4). Por otra lado, el principal vector es el mosquito *Aedes aegypti*, que se encuentra ampliamente distribuido en el continente. Esto ha ocasionado que la enfermedad sea endémica en la mayoría de los países (5).

La situación del dengue en el Continente Americano se ha agravado durante los últimos 20 años con el incremento considerable del número de casos y de países afectados, y una mayor frecuencia de las formas graves de la enfermedad. En las Américas, el dengue se ha establecido como la enfermedad transmitida por vector más importante y como una amenaza para la salud de millones de personas que viven en zonas urbanas, suburbanas y rurales de 25 países. Durante los años ochenta se reportaron 1,033,417 casos, con un promedio de 91,000 casos por año; en 2012 se reportaron cerca de medio millón de casos de

fiebre por dengue (FD) y casi 15000 casos de dengue grave (DG)(6). Debido a que no hay una vacuna disponible en la actualidad contra los cuatro serotipos causantes del dengue, su prevención se basa fundamentalmente en el control del *Aedes aegypti*, que es su vector transmisor, además de la vigilancia clínico epidemiológica activa con apoyo del laboratorio, la vigilancia entomológica y el diagnóstico y tratamiento oportuno en la atención hospitalaria. La crisis económica y las limitaciones de recursos humanos, obligan a que las estrategias de control del dengue sean integrales, con la participación de los servicios de salud, las autoridades locales y los miembros de la comunidad (7). Las acciones para el control de la enfermedad se basan en tres objetivos fundamentales: a) vigilancia de la planeación y respuesta, b) reducción de la morbilidad y mortalidad y c) lograr cambios en los comportamientos de la comunidad para su prevención (8).

La participación comunitaria en el control del vector es de suma importancia, no es posible dicho control si la comunidad no participa con un comportamiento basado en conocimiento, actitud y práctica para lograr este objetivo. Para lograr cambios en su comportamiento, se requiere del diseño e implementación de estrategias, dirigidas a considerar en primer lugar, las necesidades de la comunidad, y romper los paradigmas que limiten ese cambio cultural y/o social (9), de tal manera que la propia comunidad se convierta en auto-promotora de cambios en el comportamiento humano, mediante acciones relacionadas con estrategias de comunicación/educación para la promoción y prevención de riesgos en salud. Sin embargo, lograr la movilización de las comunidades y la sostenibilidad en los cambios conductuales en la prevención del riesgo asociado a la reproducción del mosquito *Aedes* continua siendo un reto para el programa nacional (10). Actualmente se ha reportado un incremento de la resistencia del vector a los insecticidas organofosforados (fention, temefos y clorpirifos) (11), los cuales que se han continuado utilizando de forma habitual para erradicar los distintos estadios del vector. Debido a esto se buscan otras alternativas de solución, entre los que se encuentra la de control Biológico con peces larvípagos en depósitos de agua, esto se conoce desde hace muchos años, sin embargo, el

empleo de peces como biocontrolador comenzó a principios del siglo XX, resultando el guppy (*Poeciliareticulata*, Peters 1859), una de las especies más prometedoras por ser un eficaz consumidor de larvas de mosquitos (12), Este tipo de control constituye un método económico para controlar estadios acuáticos de *Aedes aegypti* y de gran aceptación popular (13). Los peces *Poecilia reticulata* “guppy,” como habitualmente se denomina a este pez, no solo es efectivo en el control de las larvas y pupas, sino que en ausencia de ellas resiste largos períodos de inanición y se alimenta de microorganismos o microalga (14), Su gran poder de adaptación ha permitido al *P. reticulata* pueda habitar en cuerpos de agua con alto contenido en residuos, lugares de intensa contaminación y de vegetación abundante, hábitats en los que también son comunes diferentes especies de mosquitos (15).

Con el objetivo de conocer su efectividad bioreguladora sobre larvas de mosquitos en condiciones domiciliarias similares en depósitos de agua y en tanques según tamaño de cada domicilio. Se propone el siguiente proyecto de control biológico con peces del genero *Poecilia reticulata* en la colonia “El Charco” del municipio de Tetecala Morelos.

ANTECEDENTES

Como parte del programa de maestría en Salud Pública del INSP, los alumnos realizamos un diagnóstico integral de salud poblacional, este diagnostico es una herramienta de salud pública que a través de una investigación operativa nos permitió identificar determinantes sociales de salud que prevalecen en la población objetivo; además de que tiene una utilidad para la población, ya que permite definir cuáles son sus necesidades y demandas; y para los servicios de salud permite planificar la respuesta a través de políticas, programas, servicios y recursos que intenten satisfacer las necesidades y demandas de la población.

El diagnóstico integral de salud poblacional llevó a cabo en la localidad “El Charco” en el Municipio de Tetecala de la Reforma en el Estado de Morelos, México; fue realizado en el periodo comprendido de Febrero - Agosto de 2013. Se identificó la situación de salud a través de la evaluación de las condiciones de vida, riesgos, daños y se evaluó la respuesta social organizada a través de servicios, programas y recursos para la salud en la localidad.

Este fue el primer acercamiento que se tuvo con la comunidad, del cual se obtuvo la información necesaria para poder realizar el proyecto de este documento.

La escritura correcta de Tetecala es: Tetekalla, cuya etimología viene de tete, para formar el plural te-tli, "piedra"; Kal-li, "casa", y la contracción de tlan, "lugar abundancial", y quiere decir "En donde hay casas de piedra". De acuerdo a los datos registrados en el XII Censo General de Población y Vivienda del año 2010, Tetecala cuenta con una Superficie de 53.25 km², una población de 6,917 y una densidad poblacional de 130 habitantes por Km² (16).

El municipio de Tetecala en el 2012, ocupó el primer lugar de casos de dengue en el estado de Morelos en el año 2012 (17). Los factores de riesgo que favorecen la proliferación del mosquito; es su clima cálido subhúmedo, el cual se caracteriza por ser el más húmedo del estado de Morelos, con lluvias en verano y un porcentaje de lluvia invernal menor a los 5 mm., la precipitación media anual fluctúa entre los 800 y 1000 mm; la temperatura más alta se presenta en mayo y es de 26 a 27° C, la más baja se presenta en los meses de enero y diciembre, ambos con un rango que va de 20 a 21 ° C. La Precipitación pluvial promedio en el municipio de Tetecala es de 754.6 mm de lluvia anual, la precipitación máxima se presenta en el mes de septiembre con lluvias que oscilan entre 190 y 200 mm, la mínima se registra en los meses de febrero, marzo y diciembre con un valor menor de 5 mm., Mientras que los determinantes sociales que favorecen la presencia de la enfermedad en el municipio se encuentra el irregular abastecimiento del agua potable, la población en general cuenta con el servicio de agua potable en un 98.04%, pero solo el 27.72% del agua potable se encuentra dentro de la vivienda, el 65.68 % de las viviendas cuentan con el servicio de agua potable fuera de la

vivienda y el 6.60 % de la población se abastecen de hidrantes públicos (16), por lo que los pobladores del municipio se ve en la necesidad de almacenar agua en cisternas, tinacos, tanques o piletas, bidones y otros recipientes que para almacenar agua; Otro factor que influye es la proliferación de mosquitos en las casas abandonadas con tanques que almacenan agua que se convierten en riesgo para la población por la presencia en criaderos no controlados.

MARCO TEÓRICO

El dengue como problema de salud, reseña histórica.

La fiebre de dengue fue reportada por primera vez en China en el año 992 DC. con el nombre de *Dynga*. Los siguientes brotes de los que se tiene conocimiento son en el siglo XVIII en la India en 1635 y posteriormente en el año 1699 en Panamá. Como fiebre quebrantahuesos por Benjamín Rush, en Filadelfia, en 1780. Carlos J. Finlay en 1881 descubre que la Fiebre amarilla es transmitida por mosquitos, a la cual también le atribuye la transmisión del dengue (18). Los primeros reportes de epidemias ocurridas durante 1779 y 1780 fueron en Asia y se refieren a las que se presentaron en Indonesia y la India, mientras que en África ocurrían en Egipto, Arabia y Persia. Fue hasta los trabajos de Graham en 1903, Bancroft y Cleland en 1906, que se publicaron las primeras evidencias que el *A. aegypti* era el vector del dengue (19). Los primeros reportes de dengue en América se remontan al año 1635, cuando los colonizadores franceses en las Indias occidentales reportaron una extraña dolencia que llamaron *Coupe de barre*. Se cree que el mosquito *Aedes aegypti* arribó de África a América después de la llegada de Colón (18). En México Se estima que anualmente en el mundo, entre 2.500 a 3.000 millones de personas viven en áreas de riesgo de transmisión del dengue, de los cuales 975 millones viven ahora en estas áreas urbanas; esto quiere decir que casi un cuarto de la población mundial estimada está en riesgo de padecer infección por virus del dengue (20). Se estima que en el mundo afecta a más de 100 países que se encuentran en regiones tropicales y subtropicales. Anualmente ocurren alrededor de 50 millones de infecciones, incluyendo 500.000

casos de dengue hemorrágico y 21.000 muertes. Por décadas, el número de casos de fiebre por dengue y los casos severos de dengue (fiebre hemorrágica y síndrome de choque por dengue), reportados a la Organización Mundial de la Salud (OMS), sugieren un crecimiento exponencial de los reportes, lejos de una disminución o cifras que reflejen un control de la enfermedad (20).

Dengue en América Latina

Los relatos sobre esta enfermedad datan de hace más de 200 años. En el siglo pasado ocurrieron grandes epidemias, coincidiendo con la intensificación del transporte comercial entre los puertos de la región del Caribe y el Sur de los Estados Unidos con el resto del mundo. En el siglo XX la primera epidemia de Dengue Clásico en América, comprobada por laboratorio, ocurrió en la región del Caribe y en Venezuela en 1963-64 asociándose al Serotipo Den-3. En 1953-1954 en Trinidad se aisló por primera vez el agente causal de tipo 2 a partir de casos no epidémicos. En 1977 el Serotipo Den-1 fue introducido en América a través de Jamaica, el cual se diseminó por la mayoría de las islas del Caribe causando epidemias. El Serotipo Den-4 fue introducido en 1981 y desde entonces los tipos 1,2 y 4 han sido transmitidos simultáneamente en muchos países donde *Aedes aegypti* está presente. Desde 1977, en las Américas se ha observado la introducción o la circulación sucesiva de los cuatro serotipos de virus en zonas tropicales y subtropicales.

Dengue en México

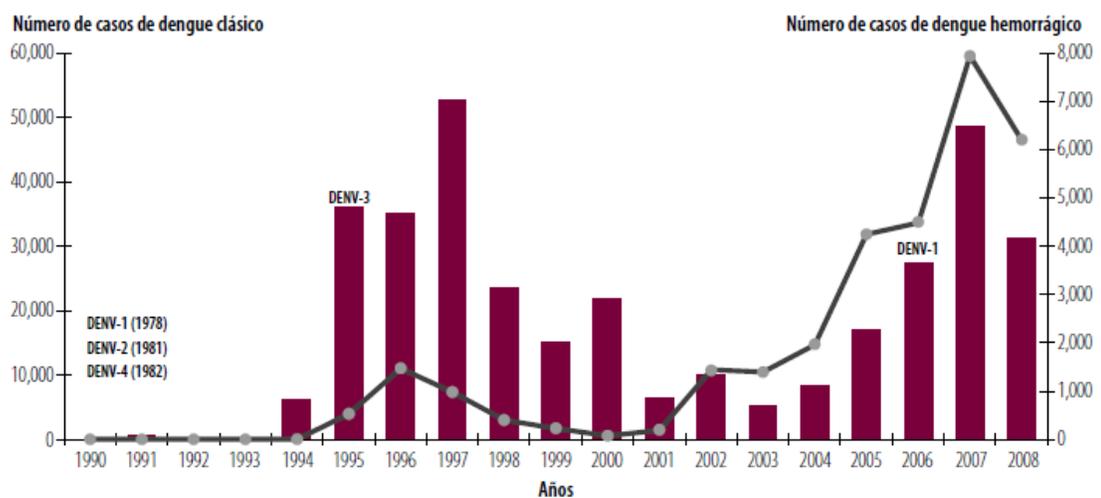
Los registros de la transmisión del dengue en México datan del año 1941, cuando se notificaron 6, 995 casos y una tasa de 34.4 por cada 100, 000 habitantes (SSA, 1998). Fue hasta el año 1977 que se introdujo el serotipo DEN 1, por la región del Caribe, Sur y Centro América, invadió México en 1978, llegó al sur del estado de Texas en 1980, se notificaron 1,006,702 casos de dengue en Las Américas de 1980 a 1990, el 30 por ciento corresponde al área de América del Sur, el 4.8 % a Centroamérica, el 43 % al área del Caribe y el 22 % a México (Gómez-Dantés H., 1991), seguida de una infección progresiva. En el sur de México, fue donde se

reportaron los primeros casos de dengue asociados con DEN-1 en 1978, los cuales inicialmente se confundieron con un brote de rubeola. Las epidemias se extendieron por todo el territorio asociados al mismo serotipo hasta el aislamiento de DEN-2 en 1981 y del DEN-4 en 1982.

Los primeros casos de Fiebre Hemorrágica por Dengue se reportaron en 1984. Mientras que el DEN-3 empezó a circular en 1995 en el país. Desde entonces, la transmisión involucra una combinación de serotipos con diferentes efectos en la severidad de la enfermedad. Todos los serotipos pueden circular de forma simultánea en el país y desde 1982 se han reportado brotes con más de un serotipo circulante. Entre 1990 y 1993 se observó un decremento importante en la incidencia de fiebre por dengue, dando la apariencia de un control de la enfermedad. En 1999, se notificaron 14,667 casos en 21 entidades federativas y se identificó la circulación por el territorio nacional de los cuatro serotipos del dengue; Se muestra en la gráfica 1, la circulación de los serotipos por año así como los casos de fiebre por dengue y fiebre hemorrágica por dengue en números de casos de 1990 al 2008.

Grafica 1

Número de casos de dengue clásico y dengue hemorrágico, y detección de serotipos reportados en México, 1990-2008



Fuente: Number of Reported Cases of Dengue & Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), Region of the Americas (by country and subregion), PAHO 1995-2008; <http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/dengue.htm> (Agosto 3, 2009).

En México, la transmisión de los cuatro serotipos se detectó por primera vez en 1994, actualmente 26 estados presentan transmisión activa de dengue (629 municipios y aproximadamente 43 millones de habitantes en riesgo). Se presenta un incremento en los casos de dengue año con año, en 2013 se reportaron 62,330 casos confirmados de FD y FHD con una incidencia de 56.35 por 100,000 hab. (21), 11, 962 casos más que los reportados en 2012 donde la incidencia fue de 48.89 por 100,000 habitantes (22). Al comparar el comportamiento de los casos con lo ocurrido en el año anterior se observa un incremento del 40% en casos probables y un incremento del 24 % en los casos confirmados. Si se compara 2013 y 2005 donde se reportaron 17,487 casos con una incidencia de 16.43 por 100,000 hab. (23), se observa un aumento mayor a 350 %. Aunque los casos de FHD aumentaron de 17,706 casos en el año 2012 hasta 18,667 en 2013 (aumento de 5.4%) (Figura 1), el número de defunciones disminuyó de 170 a 104 en el mismo periodo, la letalidad se ha mantenido por debajo del 1% y mostró una disminución en el año 2013 (0.56%) respecto al año anterior (0.96%)(21,22).

La tendencia a la alta en el número de casos a nivel nacional se puede explicar por: 1) Mayor precisión diagnóstica, 2) aumento en la transmisión que se traduce en aumento en la positividad (en 2011 uno de cada cinco casos era confirmado y actualmente es uno de cada tres y 3) que un 16.4 % de los casos son confirmados por

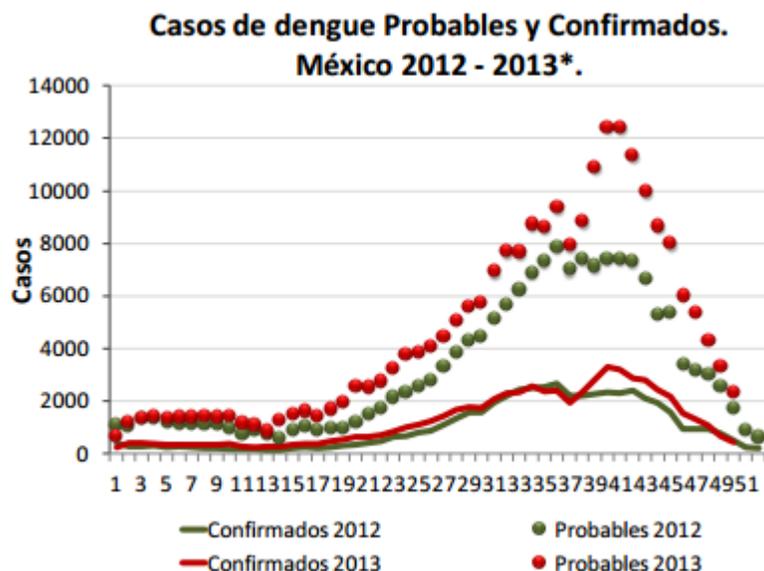


Figura 1 SINAVE/DGE/SALUD Sistema de Vigilancia Epidemiológica en Dengue

prueba de igG, la cual indica casos que se re-infectan por diferente serotipo; así mismo, la disminución en el número de defunciones y letalidad podría explicarse por un pronto diagnóstico y mejoría en la calidad de atención médica. Cabe resaltar que México es uno de los pocos países del continente que reporta solo casos confirmados por laboratorio tanto en el boletín de epidemiología semanal como a la OMS/OPS.

Dengue en el estado de Morelos

En el caso de Morelos, la morbilidad ha representado 17.9 casos por 10.000 habitantes respecto a la morbilidad nacional, la cual fue de 26.9 por 100.000 habitantes y una letalidad del 0.5 por dengue hemorrágico (24).

En cuanto a grupos de edad, el más afectado por dengue clásico en el periodo 2000-2006 de 25 a 44 (30%), de 10 a 14 (18%) y de 15 a 19 (12%). El restante 40% corresponde a los otros grupos etáreos. Respecto a dengue hemorrágico el grupo más afectado es el de 10 a 14 (36.3%), de 15 a 19 (34.2%) y de 25 a 44 (33.3%)(24).

En el periodo de 2000 al 2006, y de acuerdo al reporte por institución del Sistema Nacional de Salud, la Secretaría de Salud fue la que notificó más casos de dengue clásico (68%), seguido por el IMSS (25%). El mismo comportamiento se da en las formas hemorrágicas, en donde la Secretaría de Salud reportó 46% y el IMSS 35% de los casos, el ISSSTE reporta menos del 15% de los casos(25),.

El virus

Es un arbovirus del género Flavivirus y forma parte conjuntamente con otros 60 virus de la familia Flaviviridae, con los cuatro serotipos reconocidos: Dengue-1, Dengue-2, Dengue-3 y Dengue-4. Se trata de virus envueltos, de 40-50 nm de diámetro, con cápside icosaédrica y genoma de RNA monocatenario, no segmentado, de polaridad positiva (opera como RNA mensajero), codifica para 3 proteínas estructurales: C, PrM/M, E y siete proteínas no estructurales: NSI, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 (26, 27).

El virus del dengue se replica en el citoplasma celular, después de un período de latencia de 12 a 16 horas (células de vertebrados) (28). Todos los flavivirus poseen un determinante antigénico específico común y de acuerdo a la clasificación de Casals (inhibición de la hemaglutinación), el virus dengue fue incluido en el grupo B conjuntamente con los virus de la encefalitis de San Luis, del virus de la encefalitis B japonesa y el virus de la Fiebre Amarilla (29).

Cada serotipo puede ser clasificado por la secuencia de ácido nucleico en dos o más genotipos. El significado clínico de esta variación genética no ha sido determinada, aunque algunos genotipos han sido asociados con grandes brotes de FHD. No obstante el estudio de estos genotipos ha sido útil para el entendimiento de la epidemiología de los virus del dengue (26).

El vector

En la actualidad se tiene claro que la transmisión del dengue, involucra la participación de los mosquitos *Aedes* quienes se infectan luego que la hembra del mosquito pica a individuos Infectados (virémicos) y después de un corto periodo, que varía de 2 a 15 días, adquieren la capacidad de transmitir el virus durante toda su vida, la cual puede durar hasta 2 meses, a través de la picada a otros individuos susceptibles (30). Existen muchas especies del género *Aedes*, sin embargo, el vector más importante del dengue en las Américas (figura 2) es el *Aedes aegypti* (31).

Figura 2. *Aedes aegypti*



Fuente: Fotos (IPK) René Gato, Cuba 2012.

Existen otras especies de *Aedes* que han sido involucradas en la transmisión del dengue, como el *Aedes albopictus*, considerado como un vector secundario en la zona Asia y el Pacífico, pero no se ha implicado en la transmisión del dengue en el continente Americano. *Aedes aegypti*, es una especie del subgénero *Stegomyia*, probablemente originada en África. Se cree que fue transportado del viejo al nuevo mundo en barriles de agua que transportaban los barcos durante las primeras exploraciones y colonizaciones. El *A. aegypties* un mosquito oscuro con bandas blancas en las bases de los segmentos tarsales y un característico diseño en forma de lira en el mesonoto (32).

El *A. aegypti* es principalmente una especie doméstica, cuyas hembras se alimentan principalmente de sangre humana o de animales domésticos. Infesta recipientes naturales o artificiales que se encuentran en casas o cerca del peridomicilio. Su rango de vuelo se encuentra aproximadamente de 100 metros, aunque se han reportado excepciones; debido a esta estrecha relación con el hombre, el *A. aegypti* es esencialmente un mosquito urbano. Sin embargo, en Brasil, México y Colombia se han reportado significativas infestaciones rurales, en algunas localidades a muchos kilómetros del centro urbano y cerca de una ruta carretera, donde los vehículos son la vía de transporte del mosquito.

El *A. aegypti* aparentemente invade áreas rurales en estadio de huevo o larva, a través de recipientes domésticos pueden ser transportados a lugares habitados de zonas rurales en depósitos de agua. El *Aedes aegypti* es un mosquito que se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales de la tierra, generalmente dentro de los límites de 35° de latitud sur, que corresponde más o menos a una temperatura promedio de 20° C. La capacidad del mosquito a infectarse está asociada a la picadura y su capacidad genética tiene una gran importancia epidemiológica para explicar algunas diferencias en los patrones de distribución geográfica (33) Al estudiarse el *A. Aegypti* (34) y compararse con la descripción que se hace del mismo en el manual de la OPS, se encuentran diferencias:

a) Períodos de desarrollo más cortos.

- b) Marcada antropofilia y
- c) No existe selectividad exclusiva de recipientes para la ovipostura.

Esto explicaría en parte la alta capacidad de transmisión del *A. aegypti*, en localidades de bajos niveles de infestación. Este mosquito es pequeño, con patas rayadas color blanco y negro, con hábitos diurnos, altamente urbano y doméstico; prefiere poner sus huevos en contenedores artificiales comúnmente localizados dentro y en los alrededores de las casas. La hembra *A. Aegypti* necesita alimentarse de sangre antes de poner sus huevos, puede picar a varias personas en un mismo día. Si está infectada, puede transmitir el virus del Dengue a múltiples personas en un corto período de tiempo. Las hembras de *A. aegypti*, una vez infectadas, son portadoras del virus para el resto de su vida, con la posibilidad de transmitir la infección cada vez que pique a un nuevo ser humano. Algunos estudios han demostrado la posibilidad de transmisión transovárica, este hecho explica posiblemente la persistencia de los virus del Dengue durante estaciones secas (35).

Este vector tiene dos etapas bien diferenciadas en su ciclo de vida: fase acuática o de estadios inmaduros, de la cual existen tres formas evolutivas: huevo, larva y pupa; y la fase aérea o de adulto que corresponde al mosquito o imago como se puede apreciar en la figura 3.

Figura 3. Ciclo de vida *Aedes aegypti*



Fuente: Sin autor de internet

Fase acuática (Figura 4)

- La fase acuática dura aproximadamente siete días, aunque puede variar dependiendo de la temperatura entre 3 y 12 días.
- El periodo de larva comprende 4 fases (primera, segunda, tercera y cuarta), cada una de ellas dura aproximadamente 2 días.
- El estado de pupa es la última etapa de la fase acuática después eclosiona y emerge el mosquito que corresponde a la fase aérea.

Figura 4. Fase acuática del vector



Fuente: sin autor de Internet

La fase acuática está representada por las formas evolutivas de huevo, larva y pupa. Las hembras de los mosquitos necesitan alimentarse de sangre para lograr la maduración de sus huevecillos. Los huevecillos del *A. aegypti* son depositados por la hembra uno por uno en partes húmedas de cuerpos de agua. Son resistentes a la desecación por varios meses, por lo que las formas larvarias y adultas pueden desaparecer cuando los criaderos se secan y aparecer nuevamente en cuanto se mojan. Después de una alimentación con sangre, una hembra puede producir entre 50 y 100 huevecillos en cada ovipostura (Figura 5).

Figura 5. Ovipostura



Fuente: Foto sin autor de internet

Los huevecillos miden no más de un milímetro de longitud. El tiempo promedio de maduración es de uno a tres días siempre y cuando estén húmedos y a temperaturas entre 25 y 30°C. La fase larvaria tiene lugar en recipientes de agua, que sirven de criaderos. En total, el periodo acuático tiene una duración promedio de siete a diez días, pero puede prolongarse a más del doble de tiempo, cuando la temperatura disminuye o los alimentos son escasos, o bien reducirse hasta cinco días cuando hay alimento y la temperatura oscila entre los 25 y 34 °C.

La fase aérea

La fase aérea del *A. aegypti* inicia cuando éste emerge de la última fase acuática. Su taxonomía es relativamente fácil de conocer debido a los colores y manchas que lo caracterizan: mosquito negro con manchas de color plateado en diversas partes del cuerpo; las más características son las de la región dorsal del tórax (mesonoto). También en la cabeza presenta mechones de escamas plateadas, en los ápices de los palpos, sobre todo en la superficie del clípeo; pueden observarse tres franjas, una mediana y un par de laterales a lo largo del occipucio y del vértice. Este mosquito presenta las escamas plateadas en las bases de las patas, que forman anillos en cada uno de los tarsómeros y cubren la totalidad del tarsómero distal del tercer par de patas. Las hembras del *A. aegypti* presentan antenas con pelos cortos y escasos; en cambio, en los machos las antenas son plumosas con pelos largos y abundantes.

El alimento natural del *A. aegypti* hembra es la sangre de mamíferos, roedores y aves (hematófago), así como néctares de las plantas que se encuentran en el hábitat doméstico; prefiere realizar sus actividades alrededor del hombre (antropofílico) y alimentarse de su sangre (antropófago). Los machos se alimentan de néctares de plantas que se encuentran a su alrededor, frecuentemente se posan sobre los animales de los que se alimentan las hembras, en espera de éstas para realizar el apareamiento.

Una vez que los mosquitos han emergido, la primera alimentación la hacen entre las 20 y las 72 horas posteriores. Las alimentaciones subsecuentes se efectúan aproximadamente cada tres días, con el objeto de completar su ciclo gonotrófico; antes de alimentarse busca el sitio donde hará la oviposición.

Entre cada ciclo gonotrófico, se ha observado que, a diferencia de otros géneros de mosquitos, el *A. aegypti* pica o se alimenta varias veces de uno o varios huéspedes, hasta satisfacer sus necesidades alimenticias, esto es un factor de importancia en su capacidad como transmisor de enfermedades.

El *A. aegypti* en condiciones naturales sobrevive un promedio de entre 15 y 30 días, alimentándose aproximadamente cada tres. La variación de temperatura y humedad, así como la latitud pueden hacer variar estos rangos del ciclo de vida de las cepas de mosquitos.

La presencia o ausencia de la enfermedad depende de la existencia del mosquito transmisor, el virus y población susceptible en el mismo lugar, esto nos puede dar una idea de la distribución a nivel mundial de la enfermedad ya que es casi seguro que donde coexisten estos tres elementos hay Dengue.

Ciclo de transmisión

El ciclo de transmisión más importante desde el punto de vista de salud pública, es el ciclo endémico/epidémico en lugares rurales y urbanos. Los virus son mantenidos en un ciclo *A.aegypti*–humano–*A.aegypti* con períodos epidémicos y frecuentemente circulan varios serotipos virales en la misma localidad (hiperendemicidad). La transmisión es indirecta, a través de la picadura del mosquito hembra *Ae. Aegypti* infectado. Tiene un período de incubación en el

humano de 3 a 14 días (media, 4 a 7 días), después de esto, la persona puede experimentar una fiebre aguda con signos y síntomas inespecíficos. Si un mosquito pica a una persona durante este período febril agudo, puede infectarse; una vez que el virus se introduce con la alimentación en el vector, este atraviesa el intestino medio del mosquito, para infectar otros tejidos, el virus se multiplica en el epitelio intestinal del mosquito hembra infectado, atraviesa el intestino hacia la circulación en el hemocele y llega a ganglios nerviosos, cuerpo graso y glándulas salivales, el mosquito que permanece infectado y asintomático toda su vida, que puede ser de semanas o meses en condiciones de hibernación. Luego de 7 a 14 días ("tiempo de incubación extrínseco") puede infectar al hombre mediante una picadura en personas susceptibles, transmitiéndoles el virus del Dengue mediante la inyección del fluido salival (28).

El tiempo intrínseco de transmisibilidad corresponde al de la viremia de la persona infectada. Comienza un día antes del inicio de la fiebre y puede extenderse hasta los ocho días de la enfermedad. La intensidad de la *transmisión* se relaciona con la abundancia de mosquitos hembras *A. Aegypti* infectados, la presencia de los virus del Dengue en portadores humanos y el tipo de virus.

La transmisión está constituida por el ciclo mosquito-hombre-mosquito. Estudios de campo han evidenciado un ciclo de transmisión enzoótico primitivo donde participan mosquitos *Aedes* de las copas de los árboles y primates inferiores en los bosques lluviosos de Asia y África, la información actual sugiere que los virus no se mueven regularmente fuera del bosque hacia las áreas urbanas. Un ciclo de transmisión epidémica puede ocurrir en comunidades rurales o islas, donde la población humana es pequeña y el virus introducido rápidamente infecta la mayoría de individuos susceptibles en estas áreas. La dinámica de transmisión depende de las interacciones entre el ambiente, el agente, la población de huéspedes y del vector en un hábitat específico. La OPS ha dividido los factores de riesgo de transmisión del Dengue en macro y micro factores (36).

Macrofactores. En los que se encuentran:

Los ambientales (*latitud* de 35° norte a 35° sur; *altitud* menor de 2200 m, *temperatura* de 15°C a 40°C; *humedad relativa* de moderada a alta), y la precipitación pluvial.

Los sociales; en áreas endémicas, sus sitios de cría se han favorecido por una pobre infraestructura urbana, que se caracteriza por abastecimiento de agua poco confiable o ausente, lo cual obliga a los residentes a almacenar el preciado líquido; o por una ausencia o irregular servicio de recolección de desechos sólidos, lo cual da como resultado la acumulación de recipientes adecuados como hábitats larvales para la reproducción del mosquito transmisor de la fiebre de dengue (37). La alta densidad poblacional, patrones de asentamiento, urbanización no planificada; así como el nivel socioeconómico, creencias y conocimientos sobre el Dengue que tiene la población. De tal forma que, tanto la determinación de los más abundantes y productivos sitios de cría como el significado psicosocial que tiene el almacenamiento de agua en determinados contextos, debe ser investigado a nivel local con el fin de seleccionar el método apropiado para la eliminación o modificación de los criaderos (38).

Los criaderos

El tamaño de los criaderos varía desde la tapa de un envase de refresco hasta una cisterna; pueden ser artificiales (plástico, metal, madera y cemento) o naturales (árboles, plantas o pequeños encharcamientos). Pueden convertirse en criaderos los almacenes de agua de uso doméstico (tinacos, piletas, tanques, tambos, bebederos de animales o floreros), almacenes temporales, tales como llantas de vehículos y demás recipientes sujetos a llenarse de agua de manera premeditada, accidental o natural por efecto de la lluvia. Además, estos criaderos pueden estar dentro o alrededor de las casas. Por lo regular, la hembra del *A. aegypti* deposita huevecillos alrededor de las partes húmedas de los cuerpos de agua. Hay preferencia a ciertos tipos de criaderos, dependiendo de su oxigenación, temperatura, humedad, disponibilidad de alimento, capacidad y

estabilidad del agua, color y olor, entre otros, aunque esto no es limitante para encontrar ocasionalmente una gran diversidad de criaderos.

La rapidez con que se desarrollan las larvas y pupas depende en gran medida de las características del microambiente. Durante la época de lluvias, el número de mosquitos se incrementan como consecuencia de la disponibilidad de un número mayor de criaderos, además otro problema que propicia la reproducción de este vector es el almacenamiento de agua, sea por circunstancias culturales, por deficiencias en la red del suministro de agua o porque se carece de ésta.

Microfactores

Se encuentran factores propios del huésped (sexo, edad, inmunidad, ocupación, condiciones específicas de salud), factores del agente (nivel de viremia), y factores de los vectores (abundancia de criaderos de mosquitos, densidad de hembras adultas, frecuencia de alimentación, susceptibilidad innata a la infección, entre otros).

El huésped

Existen solamente tres huéspedes naturales para el virus del dengue: El hombre, algunos primates y los mosquitos *Aedes*. Sin embargo, los seres humanos son los únicos capaces de expresar clínicamente la infección del virus dengue. En el organismo humano luego de una infección por cualquiera de los serotipos del dengue aparece una inmunidad que dura toda la vida. Podemos encontrar anticuerpos, que impiden la aparición de un nuevo cuadro clínico al mismo serotipo que produjo la infección, por lo cual se le llama anticuerpo neutralizante, estos anticuerpos se comportan como homólogos si existe una posterior infección a un serotipo igual al de la infección anterior y se comportan como heterólogos con respecto a los otros serotipos del dengue (33).

El comportamiento de la inmunidad es diferente según sean anticuerpos homólogos o heterólogos en una segunda infección. A diferencia de los anticuerpos homólogos, los anticuerpos heterólogos protegen contra una segunda

infección pero por un tiempo corto. Como consecuencia de esto una infección entre los 2 y 9 meses producidos por un serotipo distinto origina una forma modificada, más benigna y de corta duración de la enfermedad. Sin embargo, esta misma circunstancia, es decir, una segunda infección por otro serotipo, más allá de los nueve meses, produce nuevamente la enfermedad por el nuevo serotipo.

Existen dos patrones de respuesta sérica a la infección aguda por dengue: primaria y secundaria. La respuesta primaria se ve en individuos que no son inmunes a los flavivirus, es decir, que nunca han sido infectados o que nunca han sido vacunados contra la fiebre amarilla por ejemplo. En este tipo de infección los títulos de anticuerpos se elevan lentamente hasta un nivel no muy alto. En cambio en la respuesta de patrón secundario, que sucede en individuos que tienen una infección previa a flavivirus, y tienen una infección aguda de dengue, los títulos de anticuerpos se elevan rápidamente hasta altos niveles (39). Los anticuerpos IgM contra el virus dengue son producidos transitoriamente tanto en la infección primaria como en la secundaria y su detección indica una infección activa o reciente. Los anticuerpos IgG contra el dengue también se producen tanto en la infección primaria como la secundaria, pero la cantidad producida en la secundaria es mucho mayor que en la primaria.

La enfermedad

Patogénesis

La fisiopatología de la Fiebre hemorrágica por dengue (FHD), es un fenómeno de inmuno amplificación, los mecanismos inmunopatológicos del FHD y de su forma más severa, el síndrome de shock por dengue (SSD) son todavía objeto de controversia; sin embargo, existen 2 teorías que no se excluyen mutuamente, las que tratan de explicar los cambios patogénicos que ocurren en estas dos entidades. La más aceptada es conocida como la teoría de la infección secundaria o hipótesis de inmunidad amplificada propuesta por Halstead (40). Según esta teoría los anticuerpos que genera la infección por un serotipo dado serían capaces de prevenir la reinfección con esta cepa particular, y otros serotipos podrían no ser bloqueados; no obstante los anticuerpos inducidos por una infección previa con el

virus dengue podrían facilitar la captación por las células fagocíticas del virus con serotipo diferente. La infección secundaria con diferentes serotipos en la presencia de anticuerpos no neutralizantes se ha asociado fuertemente con DH / SSD, particularmente la infección secundaria con serotipo 2 y 3. Aunque la presencia de casos de DH/SSD también han sido documentados en pacientes con infección primaria (41, 42). Otra teoría asume que el virus dengue varía genéticamente como resultado de la presión de selección luego de sus múltiples replicaciones en humanos y mosquitos, existiendo asimismo cepas que tienen gran potencial para generar epidemias (27, 43).

Aspectos clínicos

El espectro clínico de infección por virus dengue varía desde una infección asintomática a una enfermedad severa y fatal, dependiendo del ambiente epidemiológico en el cual un virus específico circula en un vector adecuado y en una población susceptible (44, 45). El período de incubación varía de 3 a 14 días, pero en la mayoría de los casos es de 4 a 6 días (27). En niños, la infección primaria por dengue se presenta a menudo como un síndrome febril indiferenciado. La infección por virus dengue se clasifica en 3 grupos:

- Las infecciones asintomáticas
- Fiebre del dengue, subdividido en fiebre indiferenciada y fiebre por dengue.
- Fiebre hemorrágica del dengue y síndrome de shock por dengue.

Existen cuadros menos frecuentes como hepatitis y compromiso del sistema nervioso central (41). La enfermedad causada por el virus dengue suele ser de evolución benigna, manifestándose en forma variable en severidad e intensidad en los diferentes grupos etéreos. Los lactantes y niños en edad escolar pueden desarrollar fiebre no diferenciada con erupción maculopapular (42), de tipo morbiliforme y distribución centrifuga; en el grupo de escolares y adultos generalmente el cuadro clínico se presenta como un síndrome febril inespecífico o

pueden presentar los signos y síntomas de la enfermedad clásica incapacitante (46, 47).

Procedimientos para la vigilancia epidemiológica

La fiebre por dengue y la fiebre hemorrágica por dengue, están considerados como dos de los principales problemas de salud pública el país, la eficacia de su prevención y control dependen de una mejor vigilancia. La experiencia de los diferentes países que han presentado el problema de brotes de FD y FHD, ha llevado al planteamiento de un cambio de estrategia en la forma de la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad: la vigilancia epidemiológica activa. Sin embargo desde el punto de vista operativo no es posible implementar este tipo de vigilancia en todo el territorio nacional, pues las diferentes áreas de transmisión tienen características epidemiológicas muy particulares, por tal razón la SSA, plantea una estrategia diferenciada dependiendo del escenario epidemiológico en el cual se implementa la vigilancia. Esta vigilancia contempla los tres componentes involucrados en la transmisión, es decir el vector transmisor a través de la vigilancia entomológica; el hombre infectado a través de la vigilancia clínica y serológica; y el virus a través de la vigilancia virológica.

La Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2010, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vector. Tiene las siguientes definiciones para el diagnóstico de la enfermedad.

Definición de Caso Sospechoso de Dengue: Fiebre, más 2 de los siguientes: 1) Anorexia y náuseas, 2) Exantema (rash), 3) Malestar general y dolor (cefalea, dolor retro ocular, mialgias, artralgias), 4) Prueba de torniquete positiva ó sangrado espontáneo, 5) Leucopenia menor de 5,000 mm³, 6) Cualquier signo de alarma y/o 7) Vivir o haber viajado a áreas endémicas de dengue.

Sospecha de Dengue Grave: Fiebre más presencia de uno o mas signos de alarma: 1) dolor abdominal intenso o moderado, 2) vómitos persistentes, 3) acumulación de líquidos por clínica, 4) sangrado de mucosas 5) Letargia o

inquietud, astenia, aumento del hígado > de 2 cm., 7) aumento de hematocrito y/o 8) disminución concomitante de plaquetas dentro de un periodo de 24 horas.

Caso confirmado: Toda persona que cumpla con la definición de caso sospechoso mas prueba de IgM para dengue positiva o aislamiento del virus en suero o tejido o demostración del antígeno del virus en suero

Medidas de prevención y control

Control vectorial integrado

La estrategia utilizada está en relación con los recursos económicos, humanos y políticas de salud establecidas; habiéndose adoptado en nuestro país el control del vector basado fundamentalmente en la participación de la comunidad y autoridades locales. El control vectorial integrado consiste en la combinación lógica de los métodos de control con criterios de racionalidad, seguridad, eficacia, adaptabilidad y aceptabilidad; pudiendo serlos métodos dirigidos contra las formas larvianas y adultas; comprende tres tipos de métodos:

• Control físico

1. Contra las larvas: lava, tapa, voltea, tira y perfora los depósitos inservibles. Los depósitos útiles de almacenamiento de agua deben estar cubiertos con tapas o mallas protectoras ajustadas.
2. Contra los adultos: Mosquiteros, pabellones y mosquiteros en puertas y ventanas. Trampas de luz.

• Control químico

1. Contra las larvas: Temefhos al 1%(Abate), insecticida aplicado a los recipientes.
2. Contra los adultos: Rociado espacial. Mosquiteros impregnados. Tratamiento perifocal. Jabones y lociones repelentes.

• **Control biológico**

1. Contra larvas: como lo es la Bacterias (*Bacillusthuriensis*H14 variedad *israeliensis*); otra opción son los peces (*Poeciliareticulata*) y finalmente con copépodos.

2. Control los adultos: Selección de especies, mediante el método de esterilización. Los métodos tradicionales como la aplicación de insecticidas para el control de *A. aegypti*son: el tratamiento focal, el tratamiento perifocal y la aplicación espacial.

• **Saneamiento Ambiental**

Las acciones de saneamiento ambiental se dirigen principalmente a la eliminación de criaderos, aspecto crítico en el control del dengue; los tipos de criaderos varían de acuerdo a cada zona, pero son recipientes naturales o artificiales que facilitan el desarrollo y proliferación del mosquito *A. aegypti*. Estos criaderos son los envases para almacenamiento de agua (tanques o piletas, tambos, cisternas, tinacos o cubetas); las llantas constituyen el hábitat predilecto para el *A. aegypti*; así mismo, los recipientes tales como latas, botellas, floreros y bebederos para animales son criaderos frecuentes. Existen recipientes naturales como los huecos en los árboles de los jardines cerca de las viviendas y las oquedades o huecos en las rocas.

Vigilancia entomológica del vector.

El Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE) define como riesgo entomológico a presencia y abundancia de los insectos vectores de alguna enfermedad. Vigilancia entomológica, al monitoreo de presencia y abundancia de los insectos vectores de alguna enfermedad en un lugar determinado y a los indicadores entomológicos como la estimación indirecta de infestación de imagos hembras de *Aedes aegypti* o *Ae. albopictus* previa a la aplicación de medidas de control, así como el impacto de las mismas.

La vigilancia entomológica se emplea para determinar los cambios en la distribución geográfica del vector, para obtener mediciones relativas de la población de vectores a lo largo del tiempo y para facilitar las decisiones apropiadas y oportunas en lo referente a intervenciones. Puede servir para identificar las zonas de alta densidad de infestación o los períodos de aumento de poblaciones. En las zonas donde el vector no está aún presente o ya no está presente, la vigilancia entomológica es crucial para detectar rápidamente nuevas introducciones antes de que se generalicen y sean difíciles de eliminar. La vigilancia de la susceptibilidad de la población de vectores a los insecticidas también debe ser parte integral de cualquier programa que utilice estos productos. En nuestro país se viene proponiendo una vigilancia entomológica según tres escenarios epidemiológicos

Muestreo de la población larvaria

Por lo regular se emplean los procedimientos de muestreo larval para los levantamientos de los índices aélicos, de acuerdo a la norma oficial mexicana (tabla 2). La unidad básica de muestreo es la casa, que se inspecciona sistemáticamente para encontrar depósitos o recipientes que contengan agua, en busca de larvas y pupas de mosquitos. Para confirmarla especie suele ser necesario un estudio de laboratorio.

Muestreo de la población adulta (Mosquitos)

Los procedimientos de muestreo de adultos pueden proporcionar datos valiosos para estudios específicos, como las tendencias estacionales de la población, la dinámica de transmisión o la evaluación de las intervenciones para el control del mosquito adulto. Sin embargo, los resultados son menos reproducibles que los obtenidos mediante el muestreo de las etapas inmaduras del insecto. Los métodos de recolección también tienden a requerir mucho personal y dependen en gran medida de la destreza y habilidad del recolector.

Tabla 1: Existen 4 indicadores entomológicos para registrar los niveles de infestación por *A. aegypti*(48) .

INDICADOR	FÓRMULA
Índice de Casas Positivas I.C.P. El ICP estima que por cada 100 viviendas existentes en el universo de estudio, en un "X" número de viviendas se encuentra la presencia de larvas del vector.	$\frac{\text{Casas con recipientes positivos}}{\text{Casas exploradas}} \times 100$
Índice de Recipientes Positivos I.R.P. El IRP estima el número de recipientes positivos a larvas del vector por cada 100 recipientes con agua que puedan encontrarse en el universo de trabajo.	$\frac{\text{Recipientes positivos}}{\text{Recipientes con agua explorados}} \times 100$
Índice de Breteau I.B. El IB estima el número de recipientes positivos a larvas del vector que se encuentran por cada 100 viviendas exploradas en el universo de trabajo.	$\frac{\text{Recipientes positivos}}{\text{Casas Exploradas}} \times 100$
Índice Poblacional de Pupas. Este indicador estima la cantidad de pupas por cada 100 viviendas	$\frac{\text{Número de Pupas}}{\text{Casas Exploradas}} \times 100$
Índice de Casa Positiva a Pupas I.C.P.P. El ICPP estima el número de casas positivas a pupas por cada 100 viviendas	$\frac{\text{Casas positivas a pupas}}{\text{Casas Exploradas}} \times 100$

Fuente: CENAPRECE y NOM

Tabla 2. Criterios operativos de control

La Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2002⁵, para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de enfermedades transmitidas por vector establece los siguientes niveles de control operativo con base en los índices larvarios:

Criterios Operativos de Control

Nivel de Control Operativo	Índice de Casas Positivas	Índice de Recipientes Positivos	Índice de Breteau
Optimo	< 1	< 0.5	1 - 4
Bueno	1 - 4	0.5 - 1.9	5 - 9
Alarma	5 - 9	2 - 4	10 - 14
Emergencia	10 o más	5 o más	15 o más

Fuente: CENAPRECE

Participación social y la comunicación

Se entiende que la participación social es un componente de los programas de combate al *A. aegypti* que está integrada con todos los demás componentes, sobre todo con las actividades de saneamiento ambiental y control químico.

La participación de la comunidad no es una actividad aislada y específica sino un proceso continuo y permanente que se puede usar para desarrollar un programa integrado. La participación social no solo abarca la participación tanto de grupos comunitarios organizados (patronato, comité del barrio) sino también de instituciones y organizaciones como clubes cívicos, iglesias, escuelas, organizaciones no gubernamentales y la participación individual de cada miembro de la comunidad.

La comunicación y educación en salud utiliza varios medios de comunicación como los impresos en dípticos, trípticos, folletos, carteles así como los medios masivos como la televisión, la radio y perifoneo entre otros, para apoyar el mejoramiento de servicios básicos y promover cambios en el comportamiento(36). Asimismo se han desarrollado periódicamente exitosas campañas de recolección de cacharros con la participación multisectorial y comunitaria.

Estrategias de prevención y control.

Actualmente no existe un abordaje sostenible para la prevención del Dengue en México, por otro lado se ha avanzado en el desarrollo de vacunas, pero aún no están disponibles. El control químico de *A. aegypti* no provee efectos duraderos y el control biológico no logra cobertura general en programas nacionales. Finalmente, los proyectos comunitarios ocurren a pequeña escala y requieren para su efectividad apoyo gubernamental y supervisión, lo que los hace difíciles de introducir en los programas nacionales.

Estrategias de combate al mosquito *Ae. Aegypti*.

En 1997 fue elaborado el Plan Continental para las Américas (49). Sólo Brasil y Cuba optaron oficialmente por la erradicación (cobertura universal de todos los

criaderos de mosquito en todas las áreas infestadas) con respaldo gubernamental con los métodos ya mencionados y utilizados en esta estrategia;

- 1) El saneamiento ambiental dirigido a la eliminación de sitios de cría del vector a través de la mejora del abasto y almacenamiento de agua, el tratamiento de residuos sólidos y la modificación de terrenos. La educación sanitaria y actividades de participación social.
- 2) El control biológico, que se trata de la aplicación de organismos vivos que eliminen o parasiten al *Ae. aegypti*, tales como peces larvívoros, copépodos y *Bacillus thuringiensis o israeliensis*.
- 3) El control químico, basado en el uso de larvicidas en depósitos con agua no destruyibles y en la fumigación.

La combinación armónica de estos métodos se denomina control integrado. Éste es aplicado en los programas de Singapur y Cuba reconocidos entre los más exitosos en el mundo(50). Resulta similar en ellos: la inspección sistemática a las viviendas por personal técnico, el uso de productos químicos en el control de focos, la educación sanitaria y estimulación a la población para que participe en la eliminación de criaderos, la utilización de medios masivos de comunicación e incorporación de escolares en las actividades educativas y de control, la mejora de las condiciones de vida, la aplicación de multas a infractores reiterativos (especialmente empresas públicas) y el apoyo de las autoridades de gobierno en todas las instancias (28). No obstante a los éxitos, quedan problemas por resolver relacionados con los altos costos, la sostenibilidad de las acciones, la deficiencia de los indicadores de monitoreo y evaluación y la falta de estudios que demuestren la efectividad.

Control biológico con peces

Debido a esto se buscan otras alternativas de solución, entre las que se encuentra la de control Biológico con peces larvívoros en depósitos permanentes de agua, sin embargo, el empleo de peces como biocontrolador comenzó a principios del siglo XX, resultando el guppy (*Poecilia reticulata*, Peters 1859), una de las

especies más prometedoras por ser un eficaz consumidor de larvas de mosquitos (12), Este tipo de control constituye un método económico para controlar estadios acuáticos de *Aedes aegypti* y de gran aceptación popular (13).

Poecilia reticulata tiene una capacidad de alimentarse en promedio de 300 larvas por día, que resiste las variaciones en los diferentes solutos del agua, como son las concentraciones de sal y cloro del agua doméstica, su reproducción es relativamente fácil con una cantidad de 100 hembras y 50 machos se pueden reproducir de 500 a 700 peces en periodos cíclicos de 1 mes, su vida media en cautiverio es de 3-4 años, durante su periodo de alevinaje (primera etapa de desarrollo del pez) se alimenta del saco vitelino y durante la adolescencia y madurez su alimentación principalmente es a base de algas, en su reproducción artificial, durante en el alevinaje se alimenta a base de alimento pulverizado y en las etapas subsecuentes con alimento comercial en micropellet. Tiene una mortalidad muy baja (menos del 1%) en condiciones de reproducción artificial, el costo final en estas condiciones de reproducción es de aproximadamente 5 centavos de dólar.

Hasta la fecha, no se han publicado trabajos utilizando peces del género *Poecilia reticulata* como alternativa al control del Dengue en territorio mexicano, hay trabajos publicados en Cuba, donde de forma experimental los resultados son muy prometedores (51).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El municipio de Tetecala en el 2012, ocupó el primer lugar de casos de dengue en el estado de Morelos (17). Los factores de riesgo que favorecen la proliferación del mosquito; es su clima cálido subhúmedo, el cual se caracteriza por ser el más húmedo del estado de Morelos, con lluvias en verano y un porcentaje de lluvia invernal menor a los 5 mm., la precipitación media anual fluctúa entre los 800 y 1000 mm; la temperatura más alta se presenta en mayo y es de 26 a 41° C, la más baja se presenta en los meses de enero y diciembre, ambos con un rango que va de 20 a 25 ° C. La Precipitación pluvial promedio en el municipio de Tetecala es de 754.6 mm de lluvia anual, la precipitación máxima se presenta en el mes de septiembre con lluvias que oscilan entre 190 y 200 mm, la mínima se registra en los meses de febrero, marzo y diciembre con un valor menor de 5 mm., Mientras que los determinantes sociales que favorecen la presencia de la enfermedad en el municipio se encuentra el irregular abastecimiento del agua potable, la población en general cuenta con el servicio de agua potable en un 98.04%, pero solo el 27.72% del agua potable se encuentra dentro de la vivienda, el 65.68 % de las viviendas cuentan con el servicio de agua potable fuera de la vivienda y el 6.60 % de la población se abastecen de hidrantes públicos (16), por lo que los pobladores del municipio se ven en la necesidad de almacenar agua en cisternas, tinacos, tanques o piletas, bidones y otros recipientes; Otro factor que influye es la proliferación de mosquitos en las casas abandonadas con tanques que almacenan agua que se convierten en riesgo para la población por la presencia en criaderos no controlados.

JUSTIFICACIÓN.

El municipio de Tetecala ubicado en la zona sur del estado de Morelos es endémico a casos de fiebre por dengue. En el Diagnóstico Integral de Salud Poblacional realizado por los alumnos de maestría en salud pública del Instituto Nacional de Salud pública (INSP) en la Colonia “El Charco”(52), el principal problema de salud identificado por la comunidad y las autoridades fue la enfermedad del dengue esto se obtuvo mediante priorización social por el método de Hanlon Modificado, se realizó conjuntamente con la participación de la comunidad (8 mujeres del grupo de oportunidades del centro de salud), líderes comunitarios (Ayudante y ex ayudante municipal) así como autoridades del ayuntamiento (Regidora de bienestar social, presidenta del DIF municipal y oficial mayor). Se les expusieron a los participantes los principales problemas de la comunidad obtenidos del diagnóstico y se les pidió que los jerarquizaran con base en los siguientes criterios: frecuencia con que se presentaba el problema, importancia del problema para la calidad de vida de la población, número de población que se encuentra comprometida en este problema, la percepción que tienen ellos del problema y por último la posibilidad de resolución de ese problema. Posterior a esto se realizó un consenso entre los participantes tomando como base los criterios mencionados anteriormente, hasta que se llegó a una homogenización de criterios por parte de los participantes y se obtuvo la priorización de los problemas de su comunidad. Los participantes determinaron que el problema que se debe abordar prioritariamente es el dengue (tabla 3), ya que esta enfermedad es muy frecuente en su comunidad; que en términos generales todos conocen mínimo a una persona que la haya presentado; y que a pesar de las medidas de prevención del dengue que se llevan a cabo, año con año sigue siendo una de las principales causas de morbilidad en la comunidad (52). Resulta importante mencionar que la comunidad no identifica cual es la causa de que la incidencia de esta patología no disminuya a pesar de los programas de prevención del dengue que se llevan a cabo en su comunidad (52).

Tabla 3: Resultados de la priorización social de la comunidad “El Charco”, Tetecala, Morelos.

Orden de Prioridad	Problema de la Comunidad
1º	Dengue
2º	Diabetes Mellitus
3º	Basura
4º	Enfermedades diarreicas agudas
5º	Alcoholismo
6º	Drogadicción
7º	Falta de personal médico
8º	Accidentes vehiculares
9º	Pediculosis
10º	Falta de Agua

Fuente: Diagnóstico Integral de Salud Poblacional(52)

De acuerdo al diagnóstico comunitario y con apoyo del programa de control, se encontró el 45% de casas positivas a larvas y/o pupas de *Aedes*. En ellas, la frecuencia de recipientes positivos fue del 19.8%. Encontrando además, tanques destapados y positivos a *Aedes* (27.3%).

El inadecuado suministro de agua potable obliga a la población a recolectar y acumular el agua en grandes recipientes a cielo abierto, los que se convierten en criaderos potenciales para la reproducción del mosquito vector del dengue (*Aedes aegypti*). El uso de peces como control biológico ha sido demostrado en otros países endémicos a dengue, como una alternativa al control químico del vector. Esta propuesta de PT busca determinar la eficacia de peces del género *Poecilia reticulata* para reducir las poblaciones vectoriales de *Aedes aegypti* en la colonia “El Charco”.

Por lo anterior, se encontraron condiciones factibles para la implementación del estudio de campo experimental expresando el 90% de las casas revisadas su interés en participar en el estudio sobre una alternativa sostenible para reducir las condiciones de riesgo entomológico del dengue en la comunidad.

OBJETIVO

Determinar la eficacia de peces del genero *Poecilia reticulata* para control de larvas y pupas de *Aedes aegypti*, en depósitos de agua en viviendas de la colonia “El Charco” del municipio de Tetecala Morelos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la comunidad del Charco municipio de Tetecala, se realizó un ensayo experimental de campo, se recorrió la colonia y visitaron las viviendas en busca de las viviendas elegibles, previo consentimiento informado se realizó la evaluación entomológica de la vivienda conforme a la “Guía Metodológica de Estudios Entomológicos para Fase Larvaria y Pupal” del CENAPRECE(48), donde el objetivo será evaluar las condiciones del patio de la vivienda, verificando el porcentaje de sombra de forma visual, midiendo el porcentaje de humedad y temperatura ambiental, se recorrerá el patio verificando la cantidad, tipo y condición de recipientes que pueden acumular o acumulen agua así como inspeccionando cada uno en busca de larvas o pupas de *Aedes aegypti*.

Los criterios de inclusión:

- Viviendas con patio abierto pertenecientes a la colonia “El Charco” municipio de Tetecala Morelos.
- Viviendas que permitan colocar los recipientes a evaluar en el patio.
- Viviendas con recipientes positivos a larvas y/o pupas de *Aedes aegypti*.
- Viviendas que permitan realizar evaluaciones entomológicas seriadas.

Criterios de exclusión:

- Viviendas sin patio y/o no pertenecientes a la colonia “El Charco”.
- Viviendas negativas a larvas y/o pupas de *Aedes aegypti*.
- Viviendas que no quieran participar en el ensayo.

Criterios de eliminación:

- Viviendas que se encuentren cerradas en 2 ocasiones de forma consecutiva durante las evaluaciones entomológicas.
- Viviendas que no deseen continuar en el ensayo.

Del total de viviendas elegibles, se seleccionarán aleatoriamente 25 casas a intervenir durante 8 semanas comprendidas entre el periodo Enero-Marzo 2014, en estas viviendas se colocarán, en los sitios que corresponden al patio (centro, lateral izquierdo y lateral derecha de la entrada de cada vivienda) 3 recipientes iguales de plástico, color negro de 15 litros de capacidad siguiendo las recomendaciones de colocación de las ovitrampas de la “Guía Metodológica para la Vigilancia Entomológica con Ovitrampas” del CENAPRECE (48). Los recipientes se llenarán con agua corriente, sin larvicida y sin cloro. En uno de los recipientes, seleccionado aleatoriamente, se colocará 1 pez del genero *Poecilia reticulata*, en el siguiente recipiente se colocarán 1.5 gramos de larvicida (Abate®) a razón de 1 g. por 10 litros de agua (1 ppm dosis recomendada por la Secretaría de Salud), el último recipiente será de control conteniendo únicamente agua. De manera adicional, se colocará en el tanque o pileta peces o larvicida de acuerdo al volumen del tanque y también se verificarán semanalmente sólo en busca de desarrollo de larvas o pupas.

Monitoreo: Se realizarán verificaciones semanalmente (hoja de registro, anexo 1) durante 8 semanas de forma continua, visitando cada vivienda 1 vez por semana en un horario comprendido entre las 9:00 a.m. y las 3:00 p.m., inspeccionando y registrando el estado de cada uno de los recipientes en busca de larvas y/o pupas, al momento de la verificación se medirá la humedad y temperatura ambiental en el sitio y se tomará la temperatura del agua de cada recipiente, se verificará ovoposición, si existe desarrollo larvario o pupal en alguno de los recipientes, previa identificación y registro estas se eliminarán para evitar el desarrollo de mosquitos adultos. Se procederá a verificar el nivel de agua de los recipientes y a rellenar al nivel deseado. Si no se encontrara la persona, se volverá a visitar al día siguiente.

Hoja de registro

No. De vivienda: Coordenadas:		Dirección:		Fecha:	Hora de verificación:
				Semana:	
T. ambiental:	Recipiente Pez	Recipiente Larvívica	Recipiente control	Tanque/Pileta	
Humedad:				Pez / abate	
Estado del recipiente					
Temperatura del agua					
Litros de agua					
Huevecillos	() #	() #	() #		
Larvas	() #	() #	() #	()	
Pupas	() #	() #	() #	()	

A las personas se les invitará a participar en el estudio, en la carta de consentimiento informado (anexo 2) se les explicará de forma detallada las actividades a realizar al momento de la visita solicitándoles permiso para el acceso al patio de su vivienda, si su vivienda cumple con los criterios de inclusión, se le hará la invitación a participar de forma voluntaria, si desean participar se procederá a la colocación de los recipientes, si la vivienda no puede proporcionar el agua requerida, ésta se proporcionará. Se explicará que estos recipientes no representan algún riesgo para los miembros de la familia y que tampoco afectan a animales domésticos en caso de haberlos, que pueden abandonar el estudio en el momento que ellos deseen, lo único que se les pedirá será que no retiren agua, el pez o el abate de los recipientes.

Las evaluaciones entomológicas de la vivienda se realizarán conforme a la “Guía Metodológica de Estudios Entomológicos para Fase Larvaria y Pupal” del CENAPRECE (48), la tipología de los recipientes se hará de acuerdo a esta guía.

Para medir la temperatura y la humedad ambiental, se utilizará un hidrómetro-termómetro tipo pluma marca Higo Thermo, modelo pocket WS-HT12. La temperatura del agua se medirá con un termómetro infrarrojo sin contacto tipo láser marca Nubee modelo NUB8380.

Los recipientes de estudio serán de plástico, color negro, cilíndricos de 15 litros de capacidad. El larvicida (Abate®) será proporcionado por la Jurisdicción sanitaria No. 1 del estado de Morelos. Los peces del genero *Poecilia reticulata* (Guppy) serán proporcionados de un centro de reproducción ecológico, se ocuparán peces juveniles de 3-4 cm de longitud.

Criterios de evaluación

Para lograr el control integral es importante evitar la presencia del vector, uno de los indicadores que se deben evaluar los índices entomológicos antes y después de implementar las medidas de intervención, tomando como criterios de evaluación:

- 1) La norma oficial mexicana: NOM-032-SSA2-2012, en la prevención y control de vectores.
- 2) Manuales de campo; en la verificación y en evaluación, así como los indices entomológicos (Índice de casa positiva, Índice de recipiente positivo, índice de Breteau e índice de casa positiva a pupas).
- 3) Guía Metodológica de Estudios Entomológicos para Fase Larvaria y Pupal” del CENAPRECE.
- 4) Guía para la Participación Comunitaria en la Prevención y Control del Dengue.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo y la carta de consentimiento informado se presentó al comité de práctica comunitaria y al subcomité de ética del INSP en Diciembre de 2013, obteniendo la Versión Aprobada y sellada en: Febrero 10, 2014, con número de Folio Identificador: D-93

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL PROYECTO: Eficacia del control biológico del Dengue, con peces del genero *Poecilia reticulata* en un escenario experimental en la colonia “El Charco” del municipio de Tetecala Morelos.

Estimado (a) Señor(a):

Buenos días (tardes), Carlos Eduardo Martínez Rangel, alumno de la Maestría en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud Pública, realizará un proyecto para determinar la eficacia de peces del genero *Poecilia reticulata* para el control de larvas y pupas de *Aedes aegypti*, en depósitos de agua en viviendas de la colonia “El Charco” del municipio de Tetecala Morelos, durante los meses de Febrero - Abril de 2014.

A usted se le está invitando a participar en este estudio; antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender lo siguiente:

Si usted está de acuerdo en participar, le pediremos nos permita pasar al patio de su casa para realizar una evaluación sobre las condiciones en las que se encuentra, como son: el porcentaje de sombra, humedad, cantidad, tipo y condición de recipientes que puedan acumular o acumulen agua y que pueden ser posibles criaderos del mosquito *Aedes aegypti* que transmite la enfermedad del Dengue. Si su patio se encuentra en las condiciones necesarias y si lo desea usted, se colocarán 3 recipientes plásticos de 15 litros de capacidad cada uno, conteniendo agua corriente, si usted no nos puede proporcionar el agua, nosotros la proporcionaremos. En uno de los recipientes se colocara 1 pez, en el siguiente recipiente se colocarán 1.5 gramos de larvicida (Abate®) y el ultimo recipiente será de control o prueba testigo conteniendo únicamente agua, estos recipientes no representan ningún peligro para usted o algún miembro de su familia, tampoco afectan a animales domésticos en caso de haberlos. De manera adicional, se colocará en su tanque o pileta peces o larvicida de acuerdo al volumen del tanque.

Para cumplir este fin, acudiremos a su casa una vez a la semana durante 8 semanas seguidas en un horario entre las 9:00 a.m. y las 3:00 p.m. usted puede sugerir el horario que más le convenga, en cada visita se inspeccionará y registrará el estado de cada uno de los recipientes, nuestra labor dentro de su patio será la de revisar los recipientes en busca de huevos, larvas o pupas de mosquito, si existen alguno de estos, los eliminaremos para que no impliquen algún riesgo, así mismo se tomará la temperatura del agua y medirá la humedad del sitio donde esté colocado el recipiente; Lo único que se le pide es que no retire agua, el pez o el abate de los recipientes. Si no se encuentra durante el día de la visita, volveremos al día siguiente para realizar la actividad.

Como se comento anteriormente, no hay riesgos potenciales para usted y su familia derivados de este estudio. Si no desea participar o continuar, tiene el derecho de abandonar su participación en cualquier momento. Usted no recibirá un beneficio directo o pago por participar en el estudio sin embargo está contribuyendo para buscar una alternativa en su colonia al control del mosquito que transmite la enfermedad del Dengue. Esta actividad tampoco implicará algún costo.

Toda la información que usted nos proporcione para el estudio será de carácter confidencial y será utilizada únicamente por los investigadores del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted quedará identificado(a) con un número de vivienda y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificada. Se realizara la toma de fotografías con previo permiso personal, en caso de que usted esté completamente de acuerdo.

Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación respecto al proyecto le vamos a dejar una tarjeta con la información del investigador responsable del estudio, todas las dudas que tenga acerca del proyecto serán respondidas. Asimismo, si tiene preguntas generales relacionadas con sus derechos como participante en un estudio de investigación, le dejamos los datos de la Presidente del comité de Ética del Instituto Nacional de Salud Pública.

Datos de contacto:

Si tiene usted dudas sobre el estudio se puede comunicar con el Director del proyecto: Dr. Ángel Francisco Betanzos Reyes, al teléfono: (777) 3 29 3000 ext. 3225 en un horario entre las 8:00 a.m. y las 4:00 p.m. o si gusta puede escribirle al correo electrónico:
abetanzos@insp.mx

Si tiene usted dudas acerca de sus derechos como participante de un estudio, se puede comunicar con la M.C. Angelica Ángeles Llerenas, presidente del Comité de Ética en investigación del INSP, al teléfono: (777) 3 29 30 00, ext. 7424, en un horario entre las 8:00 a.m. y las 4:00 p.m. o si gusta puede escribirle a la siguiente dirección de correo:
etica@insp.mx

RESULTADOS.

Al inicio del estudio se incluyeron un total de 30 casas, de las cuales 5 se excluyeron ya que no cumplieron los criterios de exclusión a lo largo del proyecto.

De los 90 recipientes colocados de forma inicial, se excluyeron 15 y se analizaron 75, se realizaron 8 evaluaciones por cada recipiente (1 por semana), obteniendo un total de 200 evaluaciones por grupo de recipientes y 600 en total (Tabla 4).

Tabla 4. Recipientes colocados.

Tipo de recipiente	Colocados	Viables	Evaluaciones
Pez	30	25	200
Abate	30	25	200
Control	30	25	200
Total:	90	75	600

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Las observaciones se realizaban por la mañana entre las 8:30 y 11:30 hrs. Las mediciones de la temperatura y humedad mostraron un ligero descenso de la temperatura y un aumento de la humedad ambiental que coincidió con el inicio de la temporada de lluvias (Tabla 5).

Tabla 5. Condiciones ambientales durante las observaciones.

Semanas.

	1	2	3	4	5	6	7	8
Humedad (%)	31.88	23.25	28.04	33.61	33.93	44.71	46.8	45.4
Temperatura (°C)	30.39	28.78	31.36	32.69	31.65	27.59	26.44	26.78

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Recipientes colocados

Para analizar los resultados de las observaciones, se definió como recipiente positivo todo aquel recipiente que presentara por lo menos una larva o pupa. De las 200 observaciones por cada grupo de recipientes se obtuvo:

Tabla 6. Análisis de positividad en los recipientes colocados. (observaciones totales)

Pez - Abate - Control

Estado del recipiente	Pez	%	Abate	%	Control	%	Ji-cuadrado	gl	P
Positivo	23	11.50%	38	19.00%	66	33%	28.4986	2	0.0000
Negativo	177	88.50%	162	81.00%	134	67%	27.6560	2	0.0000
Total	200	100%	200	100%	200	100%			

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Al aplicar la prueba de Ji-cuadrado, las diferencias de proporciones en cuanto a positividad son estadísticamente significativas entre los 3 grupos ($p < 0.000$), (que explica diferencias entre los grupos con respecto a pez, de igual forma al hacer la comparación Pez-abate, Pez-control se obtienen diferencias significativas (Tabla 7 y 8).

Tabla 7. Análisis de positividad grupos Pez-Control

Estado del recipiente	Pez	%	Control	%	95% CI	Odds Ratio	Razón de prevalencias	P
Positivo	23	11.50%	66	33.00%	0.156 - 0.446	0.264	0.348	0.0000

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Tabla 8. Análisis de positividad grupos Pez-Abate.

Estado del recipiente	Pez	%	Abate	%	95% CI	Odds Ratio	Razón de prevalencias	P
Positivo	23	11.50%	38	19.00%	0.316 - 0.969	0.554	0.605	0.037

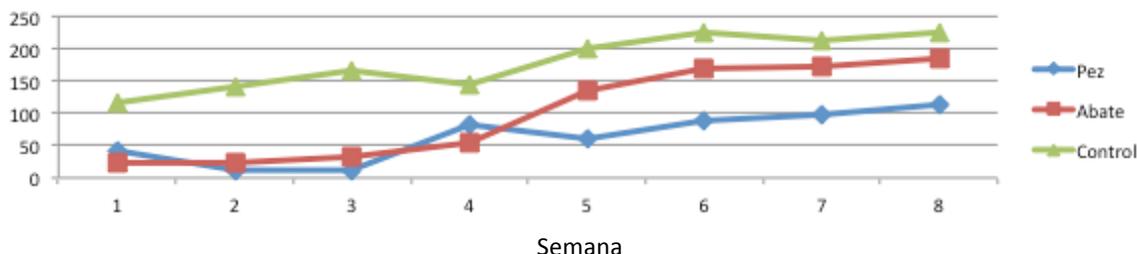
Fuente: Datos recabados en el proyecto.

La positividad de los recipientes que contenían peces fue menor comparado con el grupo de Abate y el grupo control, las diferencias son estadísticamente significativas en ambas comparaciones (Pez-control $p < 0.0000$ y Pez-Abate $p < 0.05$) de forma general, el grupo de Pez mostró mejor control larvario. La posibilidad de positividad en el grupo Control es 3.79 veces mayor que en el grupo con peces, y de 1.81 si se compara Abate-Pez, se puede concluir que el tener control con peces en los recipientes es un factor protector para presentar infestación vectorial.

Larvas totales.

Todos los grupos de recipientes mostraron un incremento gradual en el número de organismos recolectados, el grupo control siempre fue el que mayor número de organismos registró, se observa un mayor incremento a partir de la quinta semana (gráfica 2), que coincide con el inicio de la temporada de lluvias, lo cual es un fenómeno esperado en las poblaciones vectoriales.

Gráfica 2. Larvas totales durante las observaciones.

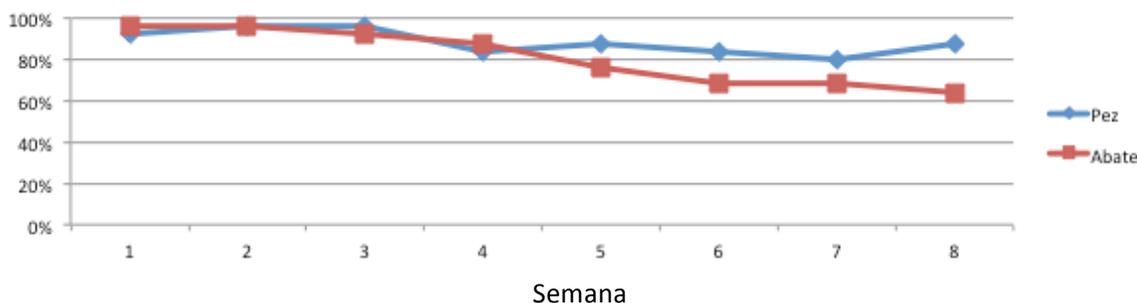


Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Efectividad de control en Recipientes colocados

La efectividad de control en los recipientes se evaluó como el porcentaje de recipientes libres de larvas y/o pupas, la efectividad en los recipientes con peces fue mayor que en el grupo de recipientes colocados con abate, en ambos grupos se aprecia una disminución en la efectividad a partir de la 5ta semana, esperado por la sobre-infestación vectorial (Gráfica 3), esta disminución es menor en el grupo de peces y no es sostenida, la disminución en el grupo de Abate muestra una tendencia sostenida en la disminución de la efectividad de control, lo que puede deberse a la disminución en la residualidad del efecto larvicida.

Gráfica 3. Porcentaje de efectividad de control por grupos



Fuente: Datos recabados en el proyecto.

La positividad de recipientes al final de la evaluación fue de 48% en el grupo control, 36% en el grupo Abate y 12% en el grupo de Peces.

Tanques domiciliarios.

De las 30 casas, se analizaron los tanques de almacenamiento a cielo abierto de 24, 12 tanques se trataron con abate y 12 tanques con peces, la selección del tipo de control fue al azar.

El volumen de los tanques fue muy variado, desde los 645 a los 3,600 lts. De capacidad con un promedio de 1240 lts. En todos los tanques se colocaron 2 peces, a excepción del de mayor tamaño (3,600 lts.) en el cual se colocaron 3 por el gran volumen. El abate se colocó a razón de 1 ppm (dosis recomendada por la Secretaría de Salud) sobre una tela de malla y suspendido por medio de un flotador (botella de plástico PET).

De los 24 tanques evaluados, se realizaron 8 evaluaciones por cada tanque (1 por semana), obteniendo un total de 96 evaluaciones por grupo y 96 en total (Tabla 9).

Tabla 9. Tanques domiciliarios.

Tipo de Control	Viabiles	Evaluaciones
Pez	12	96
Abate	12	96
Total:	75	192

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Se definió como recipiente positivo todo aquel Tanque que presentara por lo menos una larva o pupa, no se contabilizaron organismos por la dificultad de conteo al ser recipientes de grandes dimensiones. De las 96 observaciones por cada grupo de contenedores se obtuvo:

Tabla 10. Análisis de positividad en los tanques domiciliarios.

Estado del recipiente	Abate	%	Pez	%	95% CI	Odds Ratio	Razón de prevalencias	P
Positivo	14	14.58%	5	5.21%	1.072 - 9.003	3.107	2.8	0.0296
Negativo	82	85.42%	91	94.79%	0.111 - 9.003	0.322	0.901	0.0296
Total	96	100%	96	100%				

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Al analizar las diferencias de positividad entre los dos tipos de control, se observa una marcada diferencia en positividad durante las observaciones realizadas entre controlar los tanques con abate y controlarlos con peces (14.58% vs 5.521% $P < 0.03$). De forma general, el grupo de Pez mostró mejor control larvario. La posibilidad de positividad en el grupo Control es 3.11 veces mayor que en el grupo con peces, se puede inferir que el tener control con peces en los tanques de almacenamiento es un factor protector para presentar infestación vectorial.

Efectividad de control en Tanques.

La efectividad fue mayor en el grupo de Tanques controlados con peces, en la primera verificación se observó menor efectividad en ambos grupos que se puede explicar por el gran número de larvas y pupas presentes en los tanques al iniciar el control. La efectividad del abate disminuye de forma gradual a partir de la 5-6ta semana.

Se analizaron las diferencias de positividad entre los dos tipos de control. Se observa una marcada diferencia en positividad durante las observaciones realizadas entre controlar los tanques con abate y controlarlos con peces (14.58% vs 5.521% $P < 0.03$) (Tabla 11).

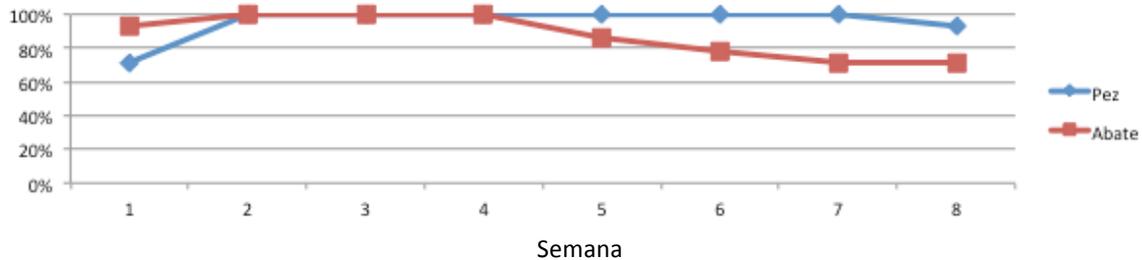
Tabla 11. Análisis en los tanques domiciliarios.

Estado del recipiente	Abate	%	Pez	%	95% CI	Odds Ratio	Razón de prevalencias	P
Positivo	14	14.58%	5	5.21%	1.072 - 9.003	3.107	2.8	0.0296
Negativo	82	85.42%	91	94.79%	0.111 - 9.003	0.322	0.901	0.0296
Total	96	100%	96	100%				

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Sólo un tanque resulto positivo al final en el grupo intervenido con peces debido a que en el domicilio un niño sacó los peces del tanque. Este incidente no se registro en el grupo intervenido con abate (Gráfica 4).

Gráfica 4. Efectividad de control en Tanques.



Fuente: Datos recabados en el proyecto.

Sobrevida de peces.

Se encontraron diferencias en la sobrevida entre los peces colocados en los tanques y los peces colocados en los recipientes.

La sobrevida es mayor en los tanques, esto se podría explicar por que las variaciones en la temperatura son menores en espacios mas grandes, el pez tiene mas espacio para nadar y evitar depredadores, es menos accesible para los niños pequeños y menos susceptible a cambios en parámetros químicos del agua.

Tabla 12. Sobrevida de los peces en Tanques y recipientes colocados.

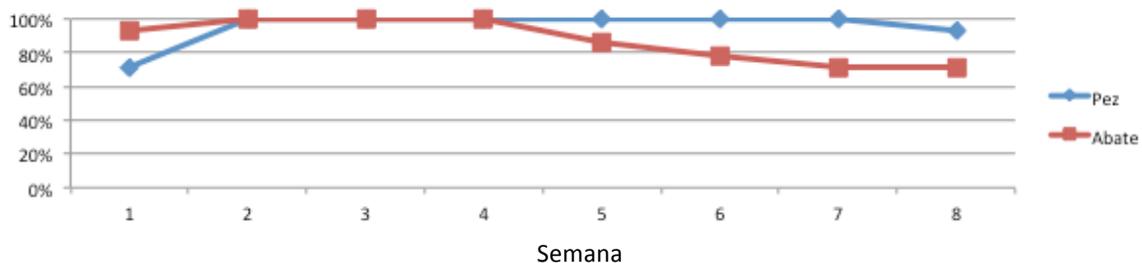
Estado del Pez	Tanque	%	Recipientes	%	Odds Ratio	Prevalence ratio	P
Sobrevivientes	22	88.00%	6	24.00%	23.222	3.666	0.0000
No sobrevivientes	3	12.00%	19	76.00%	0.043	0.173	0.0000
Total	25	100%	25	100%			

Fuente: Datos recabados en el proyecto.

DISCUSIÓN

La efectividad de control fue mayor tanto en los recipientes colocados como en los tanques de almacenamiento domiciliarios, en ambos casos las diferencias en eficacia de control es mayor en los grupos controlados con peces. Se obtuvieron mejores resultados en los Tanques de almacenamiento que son los recipientes aplicables del control biológico (gráfica 5). El efecto larvicida pierde efectividad de control, se aprecia mayor sostenibilidad de control por parte de los peces.

Gráfica 5. Efectividad de control en Tanques.



Fuente: Datos recabados en el proyecto.

El control con Abate es más efectivo al inicio del control, su acción larvicida tiene mayor eficacia al inicio, elimina de forma eficaz todos los organismos presentes en el contenedor durante la primera semana, al pez le toma aproximadamente 1 semana para poder controlar todos los contenedores y negativizarlos.

Al analizar de forma continua la eficacia en el control, los peces presentan mayor eficacia de control, el efecto residual del larvicida va disminuyendo de forma continua a partir de la 6ta semana, a las 8 semanas la eficacia de control fue del 71% de esta forma se necesita recolocar abate en los depósitos cada 8 semanas para mantener un adecuado control vectorial. La sobrevivencia y eficacia del pez fue del 88% a 8 semanas, todos los tanques que en la última verificación tenían pez estaban negativos, si se analiza de esta forma, la eficacia del control biológico con *P. Reticulata* es del 100% a 8 semanas.

CONCLUSIONES:

Al inicio del estudio se incluyeron un total de 30 casas, de las cuales 5 se excluyeron de acuerdo a los criterios de exclusión a lo largo del proyecto. Las casas que continuaron mostraron gran interés durante todo el estudio. Al ser una necesidad sentida por parte de la comunidad el problema del Dengue, les resultó interesante el buscar una nueva estrategia de control en su comunidad.

El experimento con los recipientes colocados se realizó para poder tener recipientes iguales y poder controlar las condiciones ambientales para que fueran comparables, sin embargo por el tamaño al final resultó tener algunos inconvenientes al analizar esta eficacia ya que eran más susceptibles a cambios en las características del agua y otros incidentes. Sin embargo, en este grupo de recipientes estandarizados y comparables, los resultados fueron favorables para poder comparar la eficacia de control entre el larvicida y los peces teniendo un grupo control. La eficacia fue comprobada para ambos grupos, siendo mayor para el grupo de los peces sobre el grupo de Abate teniendo como referencia el grupo control.

Al comparar los Tanques intervenidos, estos recipientes comparten características similares, todos fueron extra-domiciliarios, se encontraban en el patio de la casa, la mayoría tenía cierto porcentaje de sombra y contenían agua limpia sólo para uso doméstico pero no son todos iguales ya que están ubicados en diferente lugar, presentan diferentes dimensiones, volúmenes y características del agua. A pesar de que no son recipientes con iguales características, estos son los recipientes donde se debe realizar el control, ya que son parte de los principales criaderos potenciales. Los resultados del análisis de estos contenedores, mostraron un eficaz control por parte de los peces con una diferencia estadísticamente significativa al compararlo con el Abate. Por los resultados, este tipo de control biológico se podría aplicar en los domicilios como alternativa al control tradicional con Abate, al intervenir estos tanques con peces se puede disminuir el uso de larvicidas organofosforados.

Entre las ventajas de usar peces como control esta la mayor aceptación por parte de las personas de la casa, ya que durante el ensayo se observó que adoptaban de cierta forma el pez, en especial los niños que lo veían como una mascota, mostró ser resistente a las concentraciones habituales de cloro en el agua potable y es de fácil adaptación a nuevos ambientes. El uso de peces como alternativa de control podría disminuir el costo al usarlos en los tanques de almacenamiento en lugar del uso de larvicidas. Al ser poecilidos, son de fácil reproducción y adaptación, son accesibles y baratos, el costo de cada es pez de 0.5 a 1 peso aproximadamente, si bien sólo se hizo el seguimiento por 8 semanas, muestra ser una alternativa costo-efectiva, se necesitaría hacer un seguimiento mayor para poder tener una mejor estimación acerca del costo-efectividad ya que la vida promedio de este pez es de 3 años en promedio.

El uso de peces como controladores está ampliamente reportado, sin embargo no hay reportes en nuestro país de su uso habitual, se han reportado varias especies de peces que se pueden utilizar como biocontroladores, en este estudio se utilizó una variedad de ornato, pero de igual manera se puede utilizar otra variedad de este género, incluso aquellas nativas como *Poecilia maylandi*, que es una variedad de la misma especie que se utilizó y es nativa del estado de Morelos, además de que su población silvestre está disminuyendo, estas variedades nativas se pueden reproducir y aplicarlas como control, creando alternativas ecológicas.

El control de los criaderos potenciales domiciliarios debe ser integral, no se puede sólo usar peces para el control de recipientes, ya que en recipientes menores de 200 lts. Como tambos y bidones no se recomienda el uso de peces, así como otros recipientes de menor tamaño y capacidad por lo que se puede usar un conjunto de control físico, químico y biológico para controlar todos los recipientes junto con la participación comunitaria. La participación comunitaria en el control del vector es de suma importancia, no es posible dicho control si la comunidad no contribuye a alcanzar este objetivo modificando sus acciones. La participación comunitaria pretende generar una conciencia colectiva en las poblaciones que modifique el conocimiento y las practicas hacia la enfermedad, logrando que las

propias acciones ciudadanas eliminen las condiciones de propagación de la enfermedad. Independientemente de las acciones de control rutinarias, el dengue tiene una transmisión constante. Es necesario que las autoridades Municipales y de Salud, tomen en cuenta las siguientes recomendaciones: contar con un adecuado suministro y almacenamiento de agua, buscar nuevas alternativas de control, fomentar la adecuada disposición de recipientes y objetos que son criaderos potenciales, contar con la información del comportamiento del vector y de la enfermedad del dengue en las escuelas y en la comunidad con la finalidad de que ayuden en la prevención.

En este estudio podemos concluir de manera general:

1.- La positividad de los recipientes colocados que contenían peces fue menor comparado con el grupo de Abate y el grupo control, las diferencias son estadísticamente significativas en ambas comparaciones (Pez-control $p < 0.0000$ y Pez-Abate $p < 0.03$)

2.- La intervención en el control de larvas con medidas biológicas con peces larvifagos, mostró mejor control larvario. La razón de momios de positividad en el grupo Control es 3.79 veces mayor que en el grupo con peces, y de 1.81 si se compara Abate-Pez.

3.- En los tanques domiciliarios, las diferencias de positividad entre los dos tipos de control, se observa una marcada diferencia en positividad durante las observaciones realizadas entre controlar los tanques con abate y controlarlos con peces (14.58% vs 5.521% $P = < 0.03$).

4.- Los resultados de ambos análisis mostraron un control eficaz por parte de los peces con una diferencia estadísticamente significativa al compararlo con el control químico (Abate).

5.- Se logró elaborar, documentar y evaluar una nueva estrategia de control biológico en el estado de Morelos.

6.- Se sustenta evidencia de ventajas en el control residual y costos operativos de medidas de control biológico sobre las medidas tradicionales de control químico.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Se convocó a las autoridades municipales, al ayudante municipal de la colonia, líderes comunitarios y a la comunidad en general de la colonia “El Charco” para dar a conocer los resultados de trabajo, se dio una plática sobre la enfermedad del dengue, prevención y sus alternativas de control. Actualmente se está analizando la posibilidad de aplicar este tipo de alternativa de control utilizando una especie nativa para evitar que la posibilidad de generar un impacto ambiental negativo al introducir una especie exótica.

Se está trabajando en el borrador de un primer artículo con el Dr. Víctor Cárdenas del departamento de Epidemiología de la Escuela de Salud Pública en la universidad de Arkansas, sobre el control de los tanques domiciliarios haciendo la comparación de costo-efectividad del control tradicional con Abate y el control con peces.

LIMITACIONES

El experimento con los recipientes colocados se realizó para poder tener recipientes iguales y poder controlar las condiciones ambientales para que fueran comparables, sin embargo por el tamaño al final resultó tener algunos inconvenientes al analizar esta eficacia ya que eran más susceptibles a cambios en las características del agua y otros incidentes.

En algunos de los domicilios reportaron que el pez colocado en los recipientes era depredado por pájaros, en los otros domicilios donde llegó a faltar el pez durante la verificación tenían en común que había niños, que puedan haberlo retirado para tenerlo como mascota.

Es necesario hacer un seguimiento mayor para poder tener una mejor estimación acerca del costo-efectividad ya que la vida promedio de este pez es de 3 años en promedio.

ANEXOS

Anexo 1. Hoja de registro semanal

No. De vivienda:		Dirección:		Fecha:	Hora de verificación:
Coordenadas:				Semana:	
T. ambiental:	Recipiente Pez	Recipiente Larvicida	Recipiente control	Tanque/Pileta	
Humedad:				Pez / abate	
Estado del recipiente					
Temperatura del agua					
Litros de agua					
Huevecillos	() #	() #	() #		
Larvas	() #	() #	() #	()	
Pupas	() #	() #	() #	()	

Anexo 2. Carta de consentimiento informado



Escuela de Salud Pública de México
INSP Maestría en Salud Pública

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL PROYECTO: Eficacia del control biológico del Dengue, con peces del genero *Poecilia reticulata* en un escenario experimental en la colonia "El Charco" del municipio de Tetecala Morelos.

Estimado (a) Señor(a):

Buenos días (tardes), Carlos Eduardo Martínez Rangel, alumno de la Maestría en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud Pública, realizará un proyecto para determinar la eficacia de peces del genero *Poecilia reticulata* para el control de larvas y pupas de *Aedes aegypti*, en depósitos de agua en viviendas de la colonia "El Charco" del municipio de Tetecala Morelos, durante los meses de Enero a Marzo de 2014.

A usted se le está invitando a participar en este estudio; antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender lo siguiente:

Si usted está de acuerdo en participar, le pediremos nos permita pasar al patio de su casa para realizar una evaluación sobre las condiciones en las que se encuentra, como son: el porcentaje de sombra, humedad, cantidad, tipo y condición de recipientes que puedan acumular o acumulen agua y que pueden ser posibles criaderos del mosquito *Aedes aegypti* que transmite la enfermedad del Dengue. Si su patio se encuentra en las condiciones necesarias y si lo desea usted, se colocarán 3 recipientes plásticos de 15 litros de capacidad cada uno, conteniendo agua corriente, si usted no nos puede proporcionar el agua, nosotros la proporcionaremos. En uno de los recipientes se colocara 1 pez, en el siguiente recipiente se colocarán 1.5 gramos de larvicida (Abate®) y el ultimo recipiente será de control o prueba testigo conteniendo únicamente agua, estos recipientes no representan ningún peligro para usted o algún miembro de su familia, tampoco afectan a animales domésticos en caso de haberlos. De manera adicional, se colocará en su tanque o pileta peces o larvicida de acuerdo al volumen del tanque.

Para cumplir este fin, acudiremos a su casa una vez a la semana durante 8 semanas seguidas en un horario entre las 9:00 a.m. y las 3:00 p.m. usted puede sugerir el horario que más le convenga, en cada visita se inspeccionará y registrará el estado de cada uno de los recipientes, nuestra labor dentro de su patio será la de revisar los recipientes en busca de huevos, larvas o pupas de mosquito, si existen alguno de estos, los eliminaremos para que no impliquen algún riesgo, así mismo se tomará la temperatura del agua y medirá la humedad del sitio donde esté colocado el recipiente; Lo único que se le pide es que no retire agua, el pez o el abate de los recipientes. Si no se encuentra durante el día de la visita, volveremos al día siguiente para realizar la actividad.

Como se comentó anteriormente, no hay riesgos potenciales para usted y su familia derivados de este estudio. Si no desea participar o continuar, tiene el derecho de abandonar su participación en cualquier momento. Usted no recibirá un beneficio directo o pago por participar en el estudio sin embargo está contribuyendo para buscar una alternativa en su colonia al control del mosquito que transmite la enfermedad del Dengue. Esta actividad tampoco implicará algún costo.

Toda la información que se recabe sobre su hogar será confidencial y será utilizada únicamente por los investigadores del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted



Escuela de Salud Pública de México
INSP Maestría en Salud Pública

quedará identificado(a) con un número de vivienda y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificada. Se realizará la toma de fotografías únicamente del interior de los recipientes colocados en caso de contener larvas o pupas previo permiso personal, en caso de que usted esté completamente de acuerdo.

Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación respecto al proyecto en la parte de abajo puede encontrar la información del investigador responsable del estudio, todas las dudas que tenga acerca del proyecto serán respondidas. Asimismo, si tiene preguntas generales relacionadas con sus derechos como participante en un estudio de investigación, le dejamos los datos de la Presidente del comité de Ética del Instituto Nacional de Salud Pública.

Yo _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria; he sido informado y entiendo que los datos obtenidos en la investigación pueden ser publicados con fines científicos. **ACEPTO** en participar en este estudio.

¡Muchas Gracias por su participación!

Tetecala, Morelos a ____ de _____ del 2014

Firma/Nombre

Estudiante

Testigo



Datos de contacto:

Si tiene usted dudas sobre el estudio se puede comunicar con el Director del proyecto: Dr. Ángel Francisco Betanzos Reyes, al teléfono: (777) 3 29 3000 ext. 3225 en un horario entre las 8:00 a.m. y las 4:00 p.m. o si gusta puede escribirle al correo electrónico: abetanzos@insp.mx

Si tiene usted dudas acerca de sus derechos como participante de un estudio, se puede comunicar con la M.C. Angélica Ángeles Llerenas, presidente del Comité de Ética en investigación del INSP, al teléfono: (777) 3 29 30 00, ext. 7424, en un horario entre las 8:00 a.m. y las 4:00 p.m. o si gusta puede escribirle a la siguiente dirección de correo: etica@insp.mx

BIBLIOGRAFÍA

1. Fajardo-Dolci G, Meljem-Moctezuma J, Vicente-González E, Venegas-Páez FV, Mazón-González B, Aguirre-Gas HG. El dengue en México. Conocer para mejorar la calidad de la atención. *Revista Médica del instituto Mexicano del Seguro Social*. 2012;50(6):631-9.
2. salud Sdpyddl. Programa de acción específico 2007-2012 Dengue. In: Salud Sd, editor. 1 ed. Lieja 7, Col. Juárez 06696 México,D.F.: Grupo Editorial Raf, S.A. de C.V.; 2008.
3. Valdés LS. Proceso y resultados de la prevención comunitaria del dengue. Ciudad de la Habana: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”; 2006.
4. Chungue E, Cassar O, Drouet MT, Guzman MG, Laille M, Rosen L, et al. Molecular epidemiology of dengue-1 and dengue-4 viruses *Journal of General Virology*. 1995;76:1877-188.
5. Guzmán MG. Dengue: an update. *The Lancet Infectious Diseases*. 2002;2(1).
6. PDVi TWa. Dengue diagnostics: proceedings of an international workshop. Geneva, Switzerland 2012.
7. Clark GG. Situación epidemiológica del dengue en América. Desafíos para su vigilancia y control. *Salud Pública de México*. 1995;37(1):5-11.
8. Parks W, Lloyd L. Planificación de la movilización y comunicación social para la prevención y el control del dengue. WMC CMplrdv, editor. 1053 Les Berges du Lac, Tunis, Tunisia: OMS; 2004.
9. Trujillo MC, Fernández MdCM, Cáceres AV, Montano JLMdO. Dinámica estacional y temporal de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en el municipio Cienfuegos. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2010;62(2):98-106.
10. Baly A, Toledo ME, Vanlerberghe V, Ceballos E, Reyes A, Sanchez I, et al. Cost-effectiveness of a community-based approach intertwined with a vertical *Aedes* control program. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2009;81(1):88-93.
11. Rodríguez MM, Ricardo JABY, Pérez O, Montada D, Figueredo D, Fuentes I. Resistencia a insecticidas organofosforados en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Santiago de Cuba, 1997-2009. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2010;62(3):217-23.
12. Valero N, Meleán E, Maldonado M, Montiel M, Larreal Y, Espina LM. Capacidad Larvívora del Gold Fish (*Carassius auratus auratus*) y del Guppy Salvaje (*Poecilia reticulata*) Sobre Larvas de *Aedes aegypti* en Condiciones de Laboratorio. *Revista Científica FCV-LUZ*. 2006;16(4):414-9.
13. Fernández LD, Pineda CC, Francois LA. *Aedes* (St.) *aegypti*: relevancia entomoepidemiológica y estrategias para su control. *Revista Archivo Médico de Camagüey*. 2011;15(3).
14. Hernández EH, Pina MM. Control de larvas de *Aedes aegypti* (L) con *Poecilia reticulata* Peter, 1895: una experiencia comunitaria en el municipio Taguasco, Sancti Spíritus, Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2006;58(2):112-6.
15. Jesús GF, Raúl GB, Liudmila K. Capacidad depredadora de *Poecilia* (Lebistes) *Reticulata* Peters, 1895 (Cyprinodontiformes: Poecillidae) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* say, 1823 y *Aedes Aegypti* Linneo, 1762 (Díptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio en Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 1988;40(1):54-60.
16. Reforma HAdTdl. Plan Municipal de Desarrollo 2013 – 2015 In: Municipales P, editor. Tetecala de la Reforma Morelos: H. Ayuntamiento de Tetecala de la Reforma; 3013.
17. Epidemiológica SNdV. Boletín Epidemiológico 2012. In: Epidemiología DGd, editor. DGE2012.
18. Gubler DJ, Clark GG. Community involvement in the control of *Aedes aegypti*. *Acta Tropica*. 1996;61(6):169-79.
19. Halstead S. Etiologies of the experimental dengues of Siler and Simmons. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1974;23(5):974-82.

20. TDR/WHO. Handbook for Clinical Management of dengue. Geneva, Switzerland: TDR; 2012. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/76887/1/9789241504713_eng.pdf.
21. SINAVE/DGE/Salud. Sistema Especial de Vigilancia Epidemiológica de Dengue BOLETIN SEMANA EPIDEMIOLOGICA No. 52. 2013 In: Epidemiológica SEdV, editor. Sistema Especial de Vigilancia Epidemiológica de Dengue 2013.
22. SINAVE/DGE/Salud. BOLETIN SEMANA EPIDEMIOLOGICA No. 52 2012. In: Epidemiológica SEdV, editor.: DGE; 2012.
23. SINAVE/DGE/Salud. BOLETIN SEMANA EPIDEMIOLOGICA No. 52. 2005. In: Dengue SEdVed, editor. Dirección General de Epidemiología 2005.
24. Epidemiológica SNdV. BOLETIN SEMANA EPIDEMIOLOGICA No. 52. In: Epidemiología DGd, editor. DGE 2007.
25. Epidemiológica SNdV. Panorama Epidemiológico del Dengue, México 2000-2006. In: Epidemiología DGd, editor. DGE 2007.
26. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Salas R, Chacon IVd, Ramos C, et al. Dengue Virus Structural Differences That Correlate with Pathogenesis. *Journal of Virology*. 1999;73(6):4738-47.
27. Gubler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Microbiology Reviews*. 1998;11(3):480-93.
28. Torres EM. Dengue y dengue hemorrágico: aspectos clínicos. *Salud Pública de México*. 2004;37(1):29-44.
29. Casals J, Brown LV. Hemagglutination with arthropodborne viruses. *J Exp Med*. 1954;99(1):429-49.
30. Renkranz N, Hoeprich N. Tratado de Enfermedades Infecciosas. Ed Científico Técnicas 1985;56: 723-6.
31. Gubler DJ, Clark GG. Dengue/dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem. *Emerging Infectious Diseases*. 1995;1(2):55-7.
32. Nelson MJ. *Aedes aegypti*: Biología y Ecología. Organización Panamericana de la Salud Washington. 1980;65:4-29.
33. Guzmán MaG, Kourí G, Martínez E, Bravo J, Corteguera RIRn, Soler M, et al. Fiebre hemorrágica del dengue con síndrome de choque en niños cubanos. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. 1988;104(3):235-43.
34. Bueno C, Vela F, Llontop A, Carranza J. Dengue en San Martín: seis años de experiencia. *Pública SHAdS*, editor. San Martín: MINSa; 1998.
35. Chye J, Lim C, Lim J, George R, Lam S. Vertical transmission of dengue. *Clinical Infectious Diseases*. 1997;25(6):1374-7.
36. OPS/OMS. Promoción de la salud: Una antología. In: *Salud OPdI*, editor. Washington DC: OPS/OMS; 1996. p. 25-36.
37. Kay B, Vu S. New strategy against *Aedes aegypti* in Vietnam. *The Lancet*. 2005;365(9459):613-7.
38. Menon P, Rajagopalan P. Relative importance of different types of breeding habitats in contributing to the population of *Culex pipiens fatigans* in Pondicherry. *The Indian journal of medical research*. 1980;71(1):725-33.
39. Kuno G, DJ DG, Ortiz S, Casta-Vélez A, Sather G, Gómez I, et al. The 1986 dengue and dengue hemorrhagic fever epidemic in Puerto Rico: epidemiologic and clinical observations. *Puerto Rico Health Sciences Journal*. 1996;15(3):201-10.
40. Halstead SB, Udomsakdi S, Simasthien P, Singharaj P, Sukhavachana P, Nisalak A. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. I. Experience with classification of dengue viruses. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 1970;42(5):261-75.

41. Tadeu L, Figueiredo M, Fonseca B. Dengue. Doenças Infecciosas e Parasitárias do Veronesi. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 1991;33(4):1082-7.
42. Ennis FA, Green S, Vaughn DW, Kalayanarooj S, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Early Immune Activation in Acute Dengue Illness Is Related to Development of Plasma Leakage and Disease Severity. The Journal of Infectious Diseases. 1999;179(4):755-62.
43. Guzmán M, Flores GK, González JB. Emergence of dengue hemorrhagic fever in the Americas. Reemergence of dengue. Revista Cubana de Medicina Tropical. 1999;51(1):5-13.
44. Hammon W. Dengue hemorrhagic fever, do we know its cause? The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1973;22(1):82-91.
45. Deparis, Murgue, Roche, Cassar, Chungue. Changing clinical and biological manifestations of dengue during the dengue-2 epidemic in French Polynesia in 1996/97 – description and analysis in a prospective study. Tropical Medicine & International Health. 1998;3(11):859-65.
46. Richards AL, Bagus R, Baso SM, Follows GA, Tan R, Graham RR, et al. The First Reported Outbreak of Dengue Hemorrhagic Fever in Irian Jaya, Indonesia. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1997;57(1):49-55.
47. Kuberski T, Rosen L, Reed D, JMataika. Clinical and laboratory observations on patients with primary and secondary dengue type 1 infections with hemorrhagic manifestations in Fiji. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1977;26(4):775-83.
48. CENAPRECE. Guía Metodológica de Estudios Entomológicos para Fase Larvaria y Pupal In: Salud SdPyPdl, editor. México, D. F: Dirección del Programa de Enfermedades Transmitidas por Vectores; 2012.
49. Cruz RR. Estrategias para el control del dengue y del Aedes aegypti en las Américas. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2002;54(3):189-201.
50. Arias J. El dengue en Cuba. Revista Panamericana de Salud Pública. 2002;11(4).
51. Fonseca G, González J, Raúl B. Capacidad depredadora de Poecilia (Lebistes) Reticulata Peters, 1895 (Cyprinodontiformes: Poecillidae) sobre larvas de Culex Quinquefasciatus say, 1823 y Aedes Aegypti Linneo, 1762 (Díptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio en Cuba. Revista Cubana de Medicina Tropical. 1988;40(1):54-60.
52. INSP AM. Diagnóstico Integral de Salud Poblacional Tetecala (DISP) Cuernavaca Morelos: Instituto Nacional de Salud Pública; 2013.