

ARTÍCULO ORIGINAL

Productividad de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) en viviendas y espacios públicos en una ciudad endémica para dengue en Colombia

Lucas Alcalá^{1,2}, Juliana Quintero¹, Catalina González-Uribe¹, Helena Brochero³

¹ Centro de Estudios e Investigación en Salud, CEIS, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

² Maestría en Infecciones y Salud en el Trópico, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

³ Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. *Aedes aegypti* es el vector del dengue en Colombia y su presencia se puede estimar mediante el conteo de pupas.

Objetivo. Determinar la productividad de *Ae. aegypti* en viviendas y espacios públicos de Girardot (Colombia), en época de lluvias y de sequía.

Materiales y métodos. Se evaluó la productividad de pupas de *Ae. aegypti* en 20 conglomerados seleccionados aleatoriamente en Girardot, cada uno compuesto de 100 viviendas y sus espacios públicos. Se hizo una inspección en época de lluvias (febrero a mayo de 2011) y, otra, en época de sequía (agosto a septiembre de 2011). Se estimaron los índices de pupas en viviendas y en recipientes, así como el índice de Breteau, y los índices por persona y por hectárea.

Resultados. En época de lluvias, las viviendas aportaron el 94 % de las pupas (n=7.098) y, los espacios públicos, el 6 % (n=482), y en época de sequía, el 98 % (n=9.138) y el 2 % (n=223), respectivamente. Las albercas y tanques bajos (>20 litros) aportaron más del 87 % de las pupas en viviendas; los tarros, llantas y sumideros en espacios públicos fueron más productivos (≤20 litros). No se encontraron diferencias significativas en el índice de pupas por persona (lluvias=1,0; sequía=1,3), ni por hectárea (lluvias=0,96, sequía=0,45) (p>0,05). Los espacios públicos con más pupas en época de lluvias, fueron las zonas verdes y los lotes abandonados, y en época de sequía, los colegios y las calles.

Conclusiones. La productividad de pupas de *Ae. aegypti* en las albercas y tanques bajos de las viviendas fue elevada tanto en la época de sequía como en la de lluvias, en tanto que los espacios públicos contribuyeron con más sitios de cría durante la época de lluvias. Las estrategias de control vectorial focalizadas en las pupas, permitirían un uso más racional y eficaz de los recursos.

Palabras clave: *Aedes aegypti*, dengue, virus Chikungunya/prevención y control, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v35i2.2567>

Estimation of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) productivity in households and public spaces in a dengue endemic city in Colombia

Introduction: *Aedes aegypti* is a vector for the dengue virus in Colombia. Its productivity can be estimated using pupal counts.

Objective: To determine *Ae. aegypti* productivity in households and public spaces in Girardot (Colombia) during both wet and dry seasons.

Materials and methods: The amount of *Ae. aegypti* pupae was evaluated in 20 randomly selected clusters in Girardot, each consisting of 100 households and public spaces. Inspections were performed during the rainy (February-May, 2011), and dry (August-September, 2011) seasons. House, container, Breteau, person and hectare pupae indices were estimated.

Results: During the rainy season households contributed 94% to the total number of pupae (n=7,098) while only 6% (n=482) were found in public spaces. In the dry season, 98% (n=9,138) of pupae were found in households and 2% (n=223), in public spaces. Low water-storage tanks and tanks for washing purposes provided >87% of pupae in households, whereas jars, tires and sinks contained most pupae in public spaces. High pupal densities were observed in public spaces during

Contribución de los autores:

Lucas Alcalá: recolección de la información en campo

Juliana Quintero: investigadora principal y diseño del estudio

Catalina González-Uribe, Helena Brochero: diseño del estudio

Todos los autores analizaron los datos y contribuyeron en la elaboración del manuscrito final

the rainy season and in streets and schools in the dry season. There were no significant differences in the index per person (rainy season=1.0; dry season=1.3) or per hectare (rainy season=0.96, dry season=0.45) between seasons.

Conclusions: High *Ae. aegypti* pupal densities were found inside households in low water-storage tanks and tanks for washing purposes during both the dry and rainy seasons. Public spaces provided more aquatic habitats during the rainy season. Vector control strategies targeting these containers could allow a more rational use of resources and increase efficiency.

Key words: *Aedes aegypti*, dengue, Chikungunya virus/prevention & control, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v35i2.2567>

El principal transmisor de dengue en Colombia es *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) (1), mosquito antropofílico asociado a conglomerados humanos (2), cuyos principales sitios de cría son los depósitos de agua para uso doméstico (3). Recientemente, este vector ha ganado mayor protagonismo debido a la aparición de los primeros casos de fiebre chikungunya en el país. Esta enfermedad es transmitida por el mismo insecto y, ante la introducción del virus en el país, se activó un plan nacional de respuesta (4). La vigilancia entomológica del vector se lleva a cabo principalmente en las viviendas, donde se han identificado los sitios de cría más productivos para su desarrollo (5,6). Aunque en los espacios públicos (7) la productividad está muy asociada a los períodos de lluvia y de sequía (8), estos representan sitios de refugio para los mosquitos, particularmente ante la fuerte presión que el control ejerce en las viviendas (9).

En Colombia, la vigilancia entomológica del vector consiste en la determinación de los índices de infestación de *Ae. aegypti* a partir de la presencia o ausencia de larvas y pupas en los sitios de cría aptos para el mosquito; se determina el índice de recipientes, el de viviendas y el de Breteau (6). Esto quiere decir que con una única larva o pupa que se encuentre en los recipientes inspeccionados en una vivienda, esta se considera infestada por el vector, lo que constituye la base para la toma de decisiones relativas al control por parte de las autoridades de salud.

La productividad de pupas por recipiente debe considerarse porque estas constituyen el estadio inmediatamente anterior al adulto (10) y presentan baja mortalidad, por lo que se relacionan directamente con la densidad de mosquitos responsables

de la transmisión de los virus del dengue (11). La contribución relativa de las poblaciones naturales de *Ae. aegypti*, puede determinarse mediante el conteo de pupas en los sitios de cría, los cuales se agrupan en categorías de acuerdo con sus características, pudiéndose, así, estimar la productividad específica de cada criadero (12). Esta aproximación permite establecer el índice de pupas por persona, es decir, la cantidad de pupas en las viviendas con respecto a su número de habitantes, y el índice de pupas por hectárea, con el que se determina la densidad del insecto en el área de un espacio público (10); con estos índices se pueden establecer las zonas con mayor riesgo potencial de transmisión del dengue (13). La estratificación espacio-temporal de la productividad del vector del dengue, permite focalizar y evaluar estrategias de prevención y control para conseguir un uso más eficiente de los recursos (14).

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la contribución relativa de pupas de *Ae. aegypti* en viviendas y espacios públicos en Girardot, Colombia, donde el dengue presenta un patrón de transmisión hiperendémico (1), e identificar las zonas con mayor producción de pupas del insecto.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El municipio de Girardot (4°18' N, 74°48' O), ubicado a 134 km de Bogotá, tiene una extensión de 29 km², una altitud de 289 msnm, una temperatura media anual de 33,3 °C, una humedad relativa media anual de 66,38 % y <un régimen de lluvias bimodal (marzo a mayo y octubre a noviembre), con una precipitación media anual de 1.220 mm. Con 104.476 habitantes (15), Girardot se considera un área hiperendémica para dengue y es el municipio que aporta el 30,9 % de los casos en Cundinamarca (1). Para el año de estudio (2011), se registraron 212 casos de dengue, de los cuales 10 correspondieron a dengue grave (16).

Correspondencia:

Lucas Alcalá, Carrera 7B N° 123-90, piso 3, Bogotá, D.C., Colombia

Telefax: (571) 603 0303, extensión 5705
lucasandres20@yahoo.com

Recibido: 15/10/14; aceptado: 04/03/15

Diseño del estudio y tamaño y selección de la muestra

Se hizo un estudio de corte transversal analítico, en el que se adelantaron dos inspecciones entomológicas. Se estableció un tamaño de muestra de 2.000 viviendas, distribuidas en 20 conglomerados (cada uno compuesto por 100 viviendas), tamaño igual al utilizado en estudios similares (17).

Para la selección de los 20 conglomerados, se siguió la siguiente metodología: sobre un mapa actualizado de Girardot se colocó una cuadrícula con 200 celdas numeradas, cada una correspondiente a un área de 25 hectáreas, de las cuales se seleccionaron aleatoriamente 20, utilizando el programa estadístico Epi-Info, versión 6.04. En campo, se localizó la esquina inferior izquierda de cada celda con la ayuda del sistema de posicionamiento global (GPS) y, a partir del agrupamiento de viviendas más cercano (manzana), se seleccionaron 100 predios (casas, apartamentos y negocios comerciales) y su espacio público circundante, los cuales conformaron un conglomerado (18).

Instrumentos de recolección de datos

Se elaboró un cuestionario que permitió determinar el porcentaje de servicios básicos de agua, luz y recolección de basura, el desarrollo de calles y vías de acceso, así como las características hidrográficas y de vegetación del área de estudio. Los datos ambientales de temperatura y humedad relativa se obtuvieron usando cinco registradores de datos ubicados a 1,5 m de altura desde el suelo en puntos del norte, sur, oriente, occidente y centro de la ciudad. Los datos de precipitación se obtuvieron de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, CAR.

Inspecciones entomológicas

Se hicieron dos inspecciones entomológicas, la primera entre febrero y mayo de 2011 (época de lluvias) y la segunda entre agosto y septiembre de 2011 (época de sequía). Se siguieron los procedimientos operativos estándar establecidos por el Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia (6) y los sugeridos por Focks (19). En cada vivienda se inspeccionaron todos los depósitos con agua, en tanto que en los espacios públicos, como parques o zonas verdes, y en colegios, iglesias, cementerios, hospitales y centros de salud, estaciones de transporte, calles y lotes abandonados, entre otros, se recorrieron las 25

hectáreas en busca de sitios de cría del mosquito. En los cementerios se tomó una muestra de 100 tumbas consecutivas, tanto en la bóveda como en el suelo.

Las inspecciones entomológicas fueron hechas por diez personas en época de lluvias y por seis personas en época de sequía, de las cuales ocho y cuatro, respectivamente, hacían parte del personal técnico del programa del control de vectores de Girardot previamente capacitadas en todos los procedimientos del estudio y supervisadas por un biólogo de la Fundación Santa Fe de Bogotá y un asistente. En todos los recipientes con capacidad de 20 litros o menos, se contaron las pupas, en tanto que, en los recipientes con capacidad superior a 20 litros, se estimó indirectamente el número total de pupas con la metodología propuesta por Romero-Vivas (20).

Descripción de los sitios de cría

Los recipientes inspeccionados se agruparon en 11 categorías: 1) tanques bajos; 2) tanques elevados; 3) albercas de tipo 1; 4) albercas de tipo 2 (las albercas son depósitos artificiales de almacenamiento de agua empleados principalmente en el lavado de ropa y el aseo del hogar; las de tipo 1 tienen el fregadero sobre el depósito de agua y las de tipo 2 lo tienen a un costado); 5) tarros, vasijas, platones; 6) baldes y canecas pequeñas; 7) floreros; 8) llantas; 9) sumideros; 10) latas, botellas y recipientes inservibles; 11) criaderos naturales. El 10 % del total de larvas y pupas recolectadas se mantuvieron en condiciones de 'semicampo' hasta que emergieron los mosquitos y, después, se determinaron su sexo y su taxonomía con base en los caracteres morfológicos (21).

Análisis de la información

Se calcularon los índices entomológicos en viviendas, en recipientes, de Breteau y por persona, y en los espacios públicos y se calcularon los índices en recipientes y por hectárea. Para verificar la normalidad de los índices por persona y por hectárea, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilks teniendo en cuenta la cantidad de muestras ($n=20$) (22) y su comparación entre temporadas se hizo mediante el test de Wilcoxon para pruebas pareadas o relacionadas. La comparación entre conglomerados y temporadas de estos índices, se hizo con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para grupos independientes (22). La categorización del cambio del índice por persona, se hizo en términos de cuartiles (1) y los valores atípicos

se establecieron según la distancia en el rango intercuartílico, mediante la siguiente ecuación:

$$CIPP_i = |IPP_{lluvia-i} - IPP_{sequia-i}|,$$

donde $CIPP_i$ corresponde al cambio del índice por persona del conglomerado; i ; $IPP_{lluvia-i}$ corresponde al índice por persona del conglomerado i en la temporada de lluvias, e $IPP_{sequia-i}$ corresponde al índice por persona del conglomerado i en la temporada de sequía.

Con el fin de determinar las asociaciones entre las características de los recipientes de las viviendas en cuanto a las pupas de *Ae. aegypti*, se analizó la correspondencia múltiple mediante escalamiento óptimo de las contribuciones y el plano factorial de las características del criadero (23). Para medir la validez del análisis, se consideró la inercia que reflejaba el 74 % de la variabilidad de los datos, explicada por las dos dimensiones escogidas en este estudio. Este análisis no se llevó a cabo en espacios públicos, debido a la baja productividad de *Ae. aegypti* en los recipientes que se encontraron en ellos. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS, versión 20.0, luego de una exploración en busca de inconsistencias, datos faltantes y extremos.

Aspectos éticos

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Revisión Ética de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Ginebra, Suiza, así como por el Comité Corporativo de Ética en Investigación de la Fundación Santa Fe de Bogotá, Colombia, según consta en el comunicado CCEI-600-1-2010. Se solicitó la firma de un consentimiento informado a una persona adulta que habitara de forma permanente cada vivienda inspeccionada, después de explicarle el objeto, los riesgos y los beneficios del estudio.

Resultados

Ecossistema de estudio

Todos los conglomerados pertenecían a zonas urbanas con 95 % de sus calles pavimentadas y suministro completo (100 %) de servicios públicos (acueducto, alcantarillado, energía eléctrica y recolección de basuras). Dos de los conglomerados se ubicaron en la zona centro de la ciudad, la cual es de carácter principalmente comercial e institucional y tiene escasa vegetación, en tanto que los conglomerados ubicados en el perímetro, cercanos a los ríos Bogotá y Magdalena, se caracterizaron por presentar abundante vegetación.

Durante el año de estudio, la precipitación fue mayor en febrero, con 177,6 mm, y en marzo, con 158,9 mm, en tanto que los valores más bajos se registraron en agosto y septiembre, con 17,6 mm y 54 mm, respectivamente. La temperatura media ambiental más baja se presentó en la época de lluvias (abril) con 27,9 °C, y la más alta en agosto, con 30,4 °C, en tanto que la humedad relativa mostró su pico más alto en abril, con 70 %, y el más bajo en agosto, con 55 %.

Inspecciones entomológicas

En las dos temporadas se recolectaron 7.074 pupas de *Ae. aegypti*, con una relación macho:hembra de 1:1. No obstante, la estimación total mediante los factores de calibración utilizados para los recipientes mayores de 20 litros, arrojó un total de 7.580 pupas en temporada de lluvias y 9.361 pupas en la temporada de sequía.

Dado que los habitantes de algunos hogares decidieron retirarse de la investigación después de haber confirmado su participación y que otros cambiaron de vivienda, en la época de lluvias se inspeccionaron finalmente 1.923 viviendas que aportaron el 94 % de las pupas ($n=7.098$) y en la época de sequía se inspeccionaron 1.916 viviendas que aportaron el 98 % ($n=9.138$), en tanto que los porcentajes restantes correspondieron a recipientes ubicados en los espacios públicos (482 y 223 pupas, respectivamente).

Los recipientes más productivos en las viviendas fueron las albercas de tipo 1, seguidas por las de tipo 2 y los tanques bajos; en espacios públicos fueron los tarros, las vasijas y las llantas en la época de lluvias, y en la época de sequía, los tanques bajos, las albercas de tipo 2 y los sumideros (cuadro 1). Las pupas encontradas en las viviendas alcanzaron los siguientes porcentajes en época de lluvias y época de sequía, respectivamente: índice de vivienda, 30 y 27 %; índice de recipientes, 16 y 22 %, e índice de Breteau, 39 y 30 %. En los espacios públicos el índice de recipientes fue de 12 % en época de lluvias y de 22 % en época de sequía.

Características de los recipientes con pupas

En la figura 1 se muestran las características de los recipientes encontrados con pupas y sin ellas, y su relación con la productividad en las viviendas. Los recipientes con pupas registraron una abundancia entre alta y media de larvas (75 %, con un dato estadístico de prueba de 2.771 y un valor de $p<0,05$); los recipientes estaban hechos

Cuadro 1. Productividad de pupas de *Aedes aegypti* por categoría de recipiente durante las temporadas de lluvia y de sequía en viviendas y espacios públicos de Girardot, 2011

		Categorías de recipientes ^a											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Total
Porcentaje de recipientes por categoría													
Viviendas	L (n=4.522)	7	1	23	11	15	22	10	2	1	7	0	100
	S (n=2.577)	8	0	49	12	10	12	8	1	0	0	0	100
Espacios públicos	L (n=1.085)	5	1	1	1	11	4	23	4	15	32	3	100
	S (n=290)	15	2	3	1	46	3	9	3	12	2	4	100
Recipientes con agua lluvia													
Viviendas	L	37	2	14	8	302	368	24	89	37	301	16	1.198 (26 %)
	S	32	0	6	0	39	75	1	12	1	1	0	167 (6 %)
Espacios públicos	L	21	2	0	1	96	32	104	46	96	348	28	774 (71 %)
	S	7	2	0	0	19	6	0	9	33	6	10	92 (32 %)
Recipientes con pupas													
Viviendas	L	29	0	124	65	32	28	33	17	2	3	0	333
	S	27	0	123	41	9	9	7	3	2	0	0	221
Espacios públicos	L	1	0	0	0	8	3	2	15	8	0	1	38
	S	2	0	1	1	6	0	0	0	8	3	1	19
Porcentaje de pupas por categoría (contribución relativa)													
Viviendas	L	9	0	48	30	3	4	3	2	0	0	0	100
	S	22	0	49	25	3	0	0	1	0	0	0	100
Espacios públicos	L	1	0	0	0	28	4	1	53	11	0	3	100
	S	19	0	3	19	4	0	0	0	35	11	9	100

L: lluvia; S: sequía

^a1) Tanques bajos; 2) tanques elevados; 3) albercas de tipo 1; 4) albercas de tipo 2; 5) tarros, vasijas, platones; 6) baldes, canecas pequeñas; 7) floreros; 8) llantas; 9) sumideros de agua; 10) latas, botellas, inservibles; 11) criaderos naturales

generalmente de cemento o enchapado (67 %); tenían sedimentos (92 % con un dato estadístico de prueba de 261 y un valor de $p < 0,05$); eran albercas localizadas en el interior de las viviendas (44 %) o en el exterior (19 %), su capacidad era mayor de 20 litros (74 %) y el agua depositada en ellos no se cambiaba antes de siete días (88 %).

Por el contrario, los recipientes sin pupas se caracterizaron por no presentar larvas (87 %); por no haber sido intervenidos (84 %); por ser recipientes pequeños de máximo 20 litros de capacidad (50 %); por ser baldes (19 %), tarros (13 %) o floreros (9 %); por no tener recambio de agua antes de siete días (59 %); por no presentar sedimentos (44 %) y por ser generalmente de plástico (36 %). El volumen de agua (3/3 de agua) en los recipientes agrupados en las categorías 1, 3 y 4, se incrementaba durante la época de sequía, pasando de 41 a 56 %.

Recipientes productivos e índices de pupas por conglomerado

Las albercas de las viviendas registraron porcentajes altos de pupas de forma constante y en todos los conglomerados; no obstante, otros recipientes registraron niveles altos de productividad de pupas

de *Ae. aegypti*: los tanques bajos en los conglomerados 5 (75 %) y 9 (41 %) durante la época de lluvias, y en los conglomerados 5 (51 %) y 18 (70 %) durante la época de sequía; las llantas en el conglomerado 20 (49 %) y los baldes en el conglomerado 15 (29 %) en la época de lluvias, y en el 7 (40 %) en la época de sequía. Los espacios públicos de los sectores 1, 5, 13, 14, 16, 17 y 19 no generaron pupas de *Ae. aegypti* ni en la época de sequía ni en la de lluvias; en los sectores 3, 4, 15 y 18 se encontraron recipientes que constituían sitios de cría aptos para la especie según la estacionalidad, en tanto que en los restantes se encontraron sitios de cría del vector de manera constante.

No se encontraron diferencias significativas en los valores del índice por persona entre temporadas en los conglomerados objeto de estudio ($p = 0,526$), como tampoco entre los conglomerados en época de lluvias ($p = 0,354$) o en época de sequía ($p = 0,457$); la categorización del cambio según los cuartiles definidos, se presenta en el cuadro 2. Aunque no hubo diferencias significativas entre los conglomerados al comparar los valores del índice por hectárea (en época de lluvias y en época de sequía, $p = 0,457$), ni entre temporadas ($p = 0,442$),

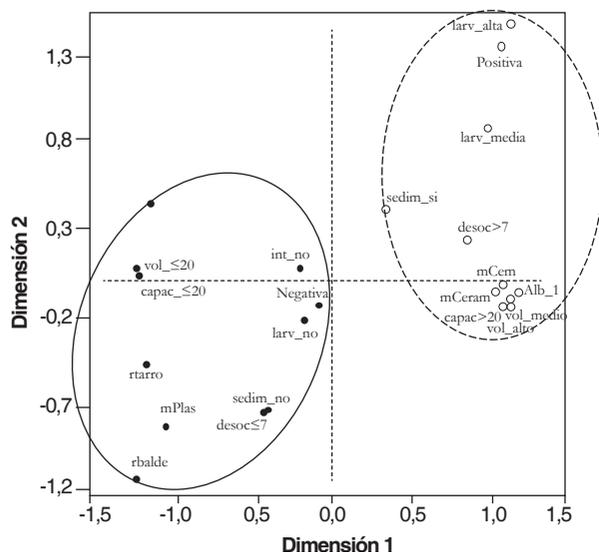


Figura 1. Agrupación de las características de los recipientes con pupas y sin pupas en viviendas de Girardot, 2011

Negativa (círculo continuo): sin pupas; larv_no: sin larvas; rtarro: recipientes de categoría 5; rbalde: recipientes de categoría 6; rlore: recipientes de categoría 7; capac_≤20: recipiente menor o igual a 20 L; vol_≤20: volumen de agua menos que bajo; int_no: sin ningún método de intervención; mPlas: material plástico; sedim_no: sin sedimento; desoc≤7: recipiente desocupado durante 7 días o menos. Positiva (círculo punteado): con pupas; larv_alta: gran abundancia de larvas; larv_media: abundancia media de larvas; Alb_1: recipientes de categoría 3; capac>20: recipientes mayores de 20 L; vol_medio: volumen medio de agua; vol_alto: volumen alto de agua; mCem: material, cemento; mCeram: material, cerámica o enchape; sedim_si: con sedimento; desoc>7: recipiente desocupado durante más de 7 días

se observó que los índices por hectárea tuvieron variación: por ejemplo, los conglomerados 3 y 18 registraron valores de 4,2 y 6,1 en época de lluvias, mientras que en la época de sequía sus valores correspondieron a 0,0.

El 75 % de los conglomerados (n=15) presentaron niveles medios o bajos en el índice por persona, lo que demuestra que en algunos casos los valores del índice se mantuvieron por encima de la media (conglomerados 1, 5, 17, 10 y 18). Estos cambios temporales y su distribución en los 20 conglomerados, se muestran en la figura 2, en la cual el tamaño del círculo evidencia el índice por persona acumulado en las dos temporadas.

Tipos de espacios públicos

El registro de datos dependió de la presencia de recipientes con agua, por lo tanto, fue en la época lluviosa cuando se encontraron más espacios públicos y recipientes con agua para inspeccionar, en tanto que durante la época de sequía estos disminuyeron (cuadro 3). Los parques y lotes

abandonados en temporada de lluvias y las calles en la temporada de sequía, fueron los espacios que más aportaron pupas del vector.

Discusión

La productividad de *Ae. aegypti* medida mediante los índices de pupas y la contribución relativa de recipientes específicos, es una herramienta útil para priorizar y concentrar los esfuerzos de control del vector del dengue en Girardot. La inclusión tanto de predios como y de espacios públicos durante las rutinas de vigilancia entomológica, resultó ser una estrategia oportuna, ya que se demostró la presencia del vector en estos ambientes, los cuales tienen condiciones aptas para su proliferación, por lo que pueden ser de importancia epidemiológica.

En Colombia hay pocos estudios sobre la productividad de *Ae. aegypti* en regiones endémicas (12,24) y solo en 2011 comenzaron a tenerse en cuenta las pupas como parte de la vigilancia entomológica rutinaria (6); además, los estudios en espacios públicos son escasos (25), pues la conocida antropofilia de este vector (2) y la idea generalizada de que los recipientes que se encuentran en estos espacios son poco relevantes para la toma de decisiones concernientes al control del insecto, hacen que la vigilancia entomológica se concentre en las viviendas. La productividad de las viviendas y los espacios públicos demostrada aquí, evidencia la afinidad del vector por los conglomerados humanos con condiciones suficientes para su proliferación. En las condiciones de hiperendemia de algunas ciudades, debe mantenerse el control en todos los lugares posibles de cría de los vectores del dengue, particularmente en áreas turísticas donde los espacios públicos concentran población humana vulnerable, que puede infectarse y contribuir a la dispersión de los serotipos virales del dengue a otras regiones del país.

Los valores del índice por persona encontrados en esta investigación, se encuentran dentro del rango de los hallados en otras zonas endémicas, entre ellas Colombia, que pueden fluctuar entre 0,02 y 7,63 (19), y se diferencian según la temporada, ya que en Girardot estos valores fueron mayores en la época de sequía.

Aunque algunos estudios han revelado que la presencia de nuevos criaderos productivos para el vector está asociada con el incremento en la precipitación (8,26), también es cierto que la precipitación alta puede desbordar los criaderos y eliminar los ejemplares inmaduros.

Cuadro 2. Índices de pupa por persona (IPP) y de pupa por hectárea (IPH) en cada conglomerado de la ciudad de Girardot, 2011

Conglomerado	Época de lluvias					Época de sequía					Cambio del IPP entre temporadas	Categorización del cambio del IPP ^a
	Viviendas		Espacio público			Viviendas		Espacio público				
	Personas	Pupas	IPP	Pupas	IPH	Personas	Pupas	IPP	Pupas	IPH		
1	479	787	1,6	0	0	447	715	1,6	0	0	0,04	bajo
2	340	95	0,3	7	0,3	343	114	0,3	75	3	0,05	bajo
3	409	596	1,5	106	4,2	384	190	0,5	0	0	0,97	medio
4	407	334	0,8	0	0	422	421	1,0	7	0,3	0,18	medio
5	373	628	1,7	0	0	381	583	1,5	0	0	0,15	bajo
6	372	153	0,4	10	0,4	364	391	1,1	4	0,2	0,66	medio
7	223	265	1,2	3	0,1	259	10	0	35	1,4	1,15	alto
8	396	287	0,7	10	0,4	383	609	1,6	15	0,6	0,87	medio
9	380	117	0,3	40	1,6	326	89	0,3	10	0,4	0,04	bajo
10	333	347	1,0	7	0,3	353	956	2,7	22	0,9	1,67	alto
11	374	240	0,6	29	1,2	375	35	0,1	13	0,5	0,55	medio
12	382	257	0,7	26	1	370	326	0,9	3	0,1	0,21	medio
13	434	742	1,7	0	0	397	146	0,4	0	0	1,34	alto
14	343	308	0,9	0	0	326	172	0,5	0	0	0,37	medio
15	354	126	0,4	75	3	318	441	1,4	0	0	1,03	medio
16	385	307	0,8	0	0	389	734	1,9	0	0	1,09	alto
17	360	517	1,4	0	0	363	417	1,2	0	0	0,29	medio
18	401	488	1,2	153	6,1	381	2.008	5,3	0	0	4,05	muy alto (atípico)
19	372	285	0,8	0	0	357	589	1,7	0	0	0,88	medio
20	333	219	0,7	16	0,6	339	192	0,6	39	1,6	0,09	bajo
Total	7.450	7.098	1	482	0,96	7.277	9.138	1,3	223	0,45		

IPP: índices de pupa por persona; IPH: índice de pupa por hectárea

^a Rangos del cambio del IPP: muy alto (atípico): >2,35 (, donde el cuartil Q_3 equivale al percentil 75 y el rango intercuartil $RI = Q_3 - Q_1$); alto: de 2,35 a 1,045 (, donde el cuartil Q_2 equivale al percentil 50); medio: de 1,045 a 0,1725 (, donde el cuartil Q_1 equivale al percentil 25); bajo: < 0,1725 (

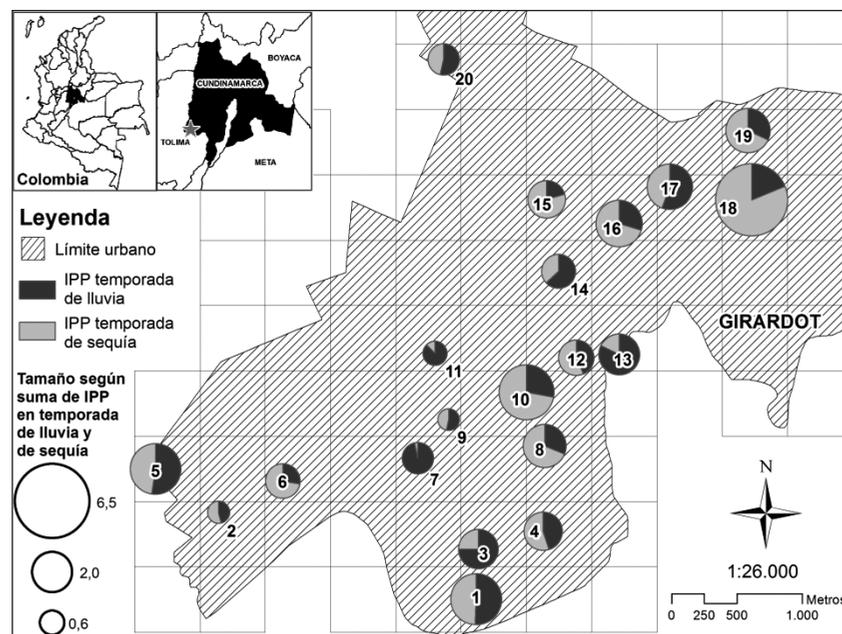


Figura 2. Representación de los índices de pupa persona (IPP) para *Aedes aegypti* en época de sequía y de lluvias en Girardot, 2011. Los valores de origen se encuentran en la cuadro 2. El tamaño del círculo indica la suma de los índices de pupa por persona en la temporada de lluvia (oscuro) y en la temporada de sequía (claro) para cada conglomerado. La magnitud de los círculos evidencia la importancia de estos índices en las dos épocas climáticas; la proporción igual de las tonalidades indica la constancia en la producción de pupas.

Cuadro 3. Información entomológica según el tipo de espacio público inspeccionado en Girardot, 2011

Tipo de espacio público	Cantidad de espacios públicos		Recipientes con agua		Recipientes con pupas (%) ^a		Pupas (%)	
	Lluvia	Sequía	Lluvia	Sequía	Lluvia	Sequía	Lluvia	Sequía
Parque, zona verde	30	20	191	62	6 (3)	3 (5)	135 (28)	12 (5)
Colegio	20	14	137	24	6 (4)	4 (17)	24 (5)	64 (29)
Iglesia	1	1	1	1	0	0	0	0
Cementerio	1	1	201	105	0	1 (1)	0	1 (0)
Hospital	2	1	27	1	4 (15)	1 (100) ^b	10 (2)	15 (7)
Centro de Salud	3	1	1	0	0	0	0	0
Estación de transporte	2	2	32	18	2 (6)	0	16 (3)	0
Calle	37	22	143	44	7 (5)	6 (14)	44 (9)	68 (30)
Lote abandonado	8	3	146	8	4 (3)	1 (13)	134 (28)	7 (3)
Varios ^c	18	9	206	27	9 (4)	3 (11)	119 (25)	56 (25)
Total	122	74	1.085	290	38 (4)	19 (7)	482 (100)	223 (100)

^a Estos porcentajes se calcularon tomando como denominador los recipientes con agua de cada tipo de espacio público.

^b Es necesario tener en cuenta que en esta categoría solo se inspeccionó un recipiente.

^c Edificios gubernamentales (alcaldía, policía nacional, tránsito y transporte)

En las viviendas se observó un aumento de pupas en la época de sequía, lo cual puede atribuirse a la modificación en las prácticas de almacenamiento de agua y al escaso recambio de agua en las albercas y tanques bajos, cuya productividad fue la mayor. En estos recipientes, que reciben agua del acueducto local y no se llenan con agua lluvia por estar permanentemente bajo techo, se registró un incremento en los niveles de agua proveniente del acueducto local, lo que resulta en la disminución del número de recipientes utilizados para almacenar agua lluvia, como los agrupados en las categorías 5 y 6, y evidencia la relación entre las dinámicas sociales y ambientales y la variación en la productividad del vector en áreas endémicas (27,28). En la temporada de lluvias se observó en las viviendas un aumento considerable en el uso de los recipientes agrupados en las categorías 5, 6 y 10, las cuales no se asocian con la productividad de la especie, por lo que los esfuerzos destinados a reducir la abundancia relativa y la densidad del vector en zonas de riesgo de transmisión del dengue en Girardot deberían centrarse en los recipientes agrupados en las categorías 1, 3 y 4, y no necesariamente en los denominados “inservibles”.

En otros países, los estudios de productividad de *Ae. aegypti* según sus sitios de cría y los cambios en las condiciones ecológicas que determinan las épocas de sequía y de lluvias en un área geográfica determinada, han permitido impulsar estrategias focalizadas en la intervención vectorial (29,30), demostrando los beneficios que representan para las ciudades con transmisión de dengue.

En este sentido, y puesto que existe una gran correlación entre el conteo de pupas y los adultos emergidos que actúan como vectores (31), los valores de los índices por persona pueden indicar los umbrales de transmisión requeridos para alcanzar un incremento de 10 % o mayor en la seroprevalencia de los anticuerpos contra el dengue en el curso de un año (denominado año epidémico), teniendo en cuenta factores como la temperatura ambiente y la seroprevalencia de anticuerpos en la población humana (32). Según los datos de temperatura (27,9 °C en la época de lluvias y 30,4 °C en la época de sequía), y asumiendo una seroprevalencia de 67 % dada la condición endémica de la ciudad, los umbrales de transmisión serían de 1,38 y 0,35, respectivamente (10,32). De este modo, la transmisión del dengue en Girardot durante la época de lluvias permanecería baja, aunque no nula, con un índice por persona igual a 1, en tanto que en la época de sequía sería mayor, es decir, de 1,3. Los índices por hectárea, por su parte, no pueden asociarse con el riesgo de transmisión, ya que esta depende de la población expuesta, parámetro que no se tiene en cuenta al calcular este índice, que, sin embargo, brinda una idea de la presencia del vector en espacios comúnmente ignorados y complementa la información relativa a las viviendas.

En Girardot se encontraron áreas geográficas con sitios de cría de alta productividad de *Ae. aegypti* durante todo el año (conglomerados 1, 5, 10, 17 y 18) y otras con cambios importantes en la producción de mosquitos adultos asociados con la estacionalidad. No obstante, la información

sobre los índices por persona y por hectárea, junto con los datos sobre la contribución relativa de recipientes específicos (en viviendas de Girardot: albercas y tanques bajos; en el espacio público: tarros, vasijas, llantas y sumideros), respalda la implementación de estrategias que permitan una apropiada evaluación de su impacto, sin detrimento de la vigilancia entomológica que debe hacerse en otros recipientes, sobre todo en espacios públicos, con menor productividad del insecto que, debido a la presión del control, pueden volverse más productivos (14). Además, debe reconocerse que en cada conglomerado pueden expresarse aspectos sociales que determinan la fluctuación de los sitios de cría más aptos para el vector del dengue. En Girardot se observó que en los estratos socioeconómicos altos se presentan menos sitios de cría de *Ae. aegypti* debido a que hay más lavadoras y, por lo tanto, la necesidad de almacenamiento de agua en albercas es menor (28).

Llama la atención la gran variedad de sitios de cría aptos para la especie, hallados en los espacios públicos de Girardot. Las albercas, por ejemplo, que son recipientes estrechamente asociados a las viviendas y se cuentan entre los que más contribuyen a la gran productividad de las poblaciones naturales del vector, se encontraron en varios colegios. Los programas de prevención, vigilancia y control deben tener en cuenta esta información, ya que ante la fuerte presión de selección derivada de las intervenciones de control focalizadas en las viviendas, la población del vector encontraría refugio ideal en estos espacios en donde hay gran concentración de población infantil. Además, debe intensificarse la vigilancia entomológica en los sumideros de agua lluvia de la ciudad, pues estos contribuyeron significativamente a la producción de pupas, tal como se ha descrito en otras ciudades en el Valle del Cauca, donde dichos recipientes presentaron gran productividad para *Ae. aegypti* (25) (Morales CA, Cuadros ME, Orobio E, Vargas H. Programa de control del dengue en Cali, 1998-2010, logros y retos. Biomédica. 2011;3:23-205. Memorias, XX Congreso Latinoamericano de Parasitología y XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical). También, vale la pena resaltar que aunque en Girardot los cementerios no registraron pupas del vector, debe mantenerse su vigilancia debido a que en otros estudios se ha demostrado su importancia en la productividad de *Ae. aegypti*, como los lugares más infestados por vectores (7,33).

Cuando hay sectores en el espacio público en los que no se encuentran pupas, se plantea la necesidad de analizar los hogares cercanos, pues en ellos se albergaría la población de *Ae. aegypti*. Aquellos lugares que concentran la producción de vectores en espacios públicos, como parques, zonas verdes y lotes abandonados (56 % de las pupas en época de lluvias), y colegios y calles (59 % de las pupas en época de sequía), requieren intervenciones interinstitucionales, ya que hay entidades que ejercen algún control en ellos, por ejemplo, el Ministerio de Educación en los colegios y las empresas públicas de aseo en los parques y zonas verdes.

Los conglomerados de Girardot objeto del presente estudio, se caracterizan por contar con acueducto, alcantarillado y servicio de recolección de basuras en forma regular. Sin embargo, existe la costumbre de almacenar agua durante todo el año por temor al desabastecimiento debido al incremento de la población humana durante los fines de semana y los eventos turísticos (27). En este contexto, aunque la frecuencia en el recambio de agua de los recipientes constituye un factor importante para la productividad de *Ae. aegypti*, las estrategias educativas sobre el lavado semanal de albercas y tanques bajos tendrían poca repercusión en Girardot.

En los pocos tanques elevados inspeccionados no se encontraron pupas del insecto porque la gran mayoría estaban tapados, lo que impedía la oviposición del vector; este proceder se repite en otras áreas del país, como lo reportan Padmanabha, *et al.* (24). En los criaderos en sumideros de agua se encontró *Ae. aegypti*, particularmente en la época lluviosa, lo cual implica un riesgo considerable de colonización por parte del insecto, dado que las estrategias de control se centran en los tanques bajos y albercas, como se ha observado en otras ciudades donde el mosquito es de importancia en salud pública (González R, Suárez MF. Sewers: The principal *Aedes aegypti* breeding sites in Cali, Colombia. American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) Annual Meeting 44th. Texas, USA, November 17-21, 1995:217).

Con base en los resultados obtenidos, se sugiere focalizar las intervenciones de control de *Ae. aegypti* en Girardot en tanques bajos y albercas de los domicilios humanos durante todo el año, manteniendo la vigilancia entomológica de los sumideros de agua, baldes, vasijas, floreros y llantas. Estas acciones deben plantearse en un

contexto de coordinación entre diversos sectores, así como de participación y acción comunitaria y colaboración entre las disciplinas que confluyen en torno al problema, para que desde sus diferentes perspectivas complementen las estrategias seleccionadas y profundicen los esfuerzos para combatir el dengue y dar respuesta a otras necesidades de las comunidades. De esta forma, los procesos y sus beneficios serían sostenibles y se ampliarían con el tiempo, generando un mayor efecto en los problemas de salud pública de la ciudad.

Una limitación detectada en este estudio fue la curva de aprendizaje de las personas encargadas de la recolección de pupas. Debido a la costumbre de registrar la presencia o ausencia de larvas y al tiempo que se toma contar las pupas, fue necesario capacitar al personal antes del trabajo de campo para demostrar las ventajas metodológicas y los alcances del proceso, con lo que se logró un mayor compromiso de todos y la certeza de estar haciendo un aporte a la salud pública de su ciudad.

Agradecimientos

Al equipo de técnicos en enfermedades transmitidas por vectores de la Secretaría de Salud de Girardot, Raúl Barrantes (q.e.p.d), Diógenes Tique, Álvaro Rodríguez, Leonardo Herrera, Álvaro Gómez, Jorge Urquijo, Jorge Caicedo, Orlando Portela, Juan Gaitán, Mario Latorre, Onofre Serrano (q.e.p.d), Luis A. Betancourth y Roger Páez, y a los investigadores de la Universidad Nacional de Colombia y del Centro de Estudios e Investigación en Salud de la Fundación Santa Fe de Bogotá, Mauricio Fuentes, por la elaboración de los mapas, y Diana García, Diana Higuera, Tatiana García y Martha Macana. A Mónica Salinas, por el apoyo en los análisis estadísticos y a Sandra Marta, por su coordinación y apoyo durante el trabajo de campo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Financiación

El presente estudio se realizó con financiación del Programa Especial para la Investigación y Entrenamiento en Enfermedades Tropicales (TDR) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en colaboración con el Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (IDRC), en el marco del estudio "Investigación ecobiosocial del dengue y la enfermedad de Chagas en Latinoamérica y el Caribe" (A90296).

Referencias

1. **Padilla J, Rojas D, Sáenz R.** Dengue en Colombia: epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia. Bogotá: Guías de Impresión; 2012. p. 248.
2. **De Benedictis J, Chow-Shaffer E, Costero A, Clark GG, Edman JD, Scott TW.** Identification of the people from whom engorged *Aedes aegypti* took blood meals in Florida, Puerto Rico, using polymerase chain reaction-based DNA profiling. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;68:437-46.
3. **Powell JR, Tabachnick WJ.** History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108:11-7. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-0276130395>
4. **Ministerio de la Protección Social.** Plan nacional de respuesta frente a la introducción del virus Chikungunya en Colombia. Fecha de consulta: 7 de septiembre del 2014. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/PLAN%20NACIONAL%20DE%20RESPUESTA%20CHIKUNGUNYA%20COLOMBIA%202014.pdf>.
5. **Quintero J, Brochero H, Manrique-Saide P, Barrera-Pérez M, Basso C, Romero S, et al.** Ecological, biological and social dimensions of dengue vector breeding in five urban settings of Latin America: A multi-country study. *BMC Infect Dis.* 2014;14:38. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-38>
6. **Ministerio de la Protección Social.** Gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión del dengue. Colombia. Fecha de consulta: 7 de enero 7 de 2014. Disponible en: http://www.google.com.co/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CCAQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fcol%2Findex.php%3Foption%3Dcom_docman%26task%3Ddoc_download%26gid%3D1215%26Itemid%3D&ei=zgZlVJfQM4ykgwTYp0KgBA&usq=AFQjCNEroiURht0ppq3ersxKutCS55lwOQ&bv m=bv.79189006,d.eXY.
7. **Abe M, McCall PJ, Lenhart A, Villegas E, Kroeger A.** The Buen Pastor cemetery in Trujillo, Venezuela: Measuring dengue vector output from a public area. *Trop Med Int Health.* 2005;10:597-603. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2005.01428.x>
8. **Wee LK, Weng SN, Raduan N, Wah SK, Ming WH, Shi CH, et al.** Relationship between rainfall and *Aedes* larval population at two insular sites in Pulau Ketam, Selangor, Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2013;44:157-66.
9. **Quiroz-Martínez H, Garza-Rodríguez MI, Trujillo-González MI, Zepeda-Cavazos IG, Siller-Aguillón I, Martínez-Perales JF, et al.** Selection of oviposition sites by female *Aedes aegypti* exposed to two larvicides. *J Am Mosq Control Assoc.* 2012;28:47-9.
10. **Focks D.** A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors. WHO/TDR/IDE/Den/2003.1. Geneva: WHO; 2003. p. 38.
11. **Maciel-de-Freitas R, Lourenco-de-Oliveira R.** Does targeting key-containers effectively reduce *Aedes aegypti* population density? *Trop Med Int Health.* 2011;16:965-73. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2011.02797.x>
12. **Romero-Vivas CM, Arango-Padilla P, Falconar AK.** Pupal-productivity surveys to identify the key container habitats of *Aedes aegypti* (L.) in Barranquilla, the principal seaport of

- Colombia. *Ann Trop Med Parasitol*. 2006;100(Suppl.1):S87-95. <http://dx.doi.org/10.1179/136485906X105543>
13. **Seng CM, Setha T, Nealon J, Socheat D.** Pupal sampling for *Aedes aegypti* (L.) surveillance and potential stratification of dengue high-risk areas in Cambodia. *Trop Med Int Health*. 2009;14:1233-40. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2009.02368.x>
 14. **Tun-Lin W, Lenhart A, Nam VS, Rebollar-Téllez E, Morrison AC, Barbazan P, et al.** Reducing costs and operational constraints of dengue vector control by targeting productive breeding places: A multi-country non-inferiority cluster randomized trial. *Trop Med Int Health*. 2009;14:1143-53. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2009.02341.x>
 15. **Departamento Administrativo Nacional de Estadística.** Proyecciones de población 2005-2020. Fecha de consulta: 8 de julio de 2014. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/proyepobla06_20/7Proyecciones_poblacion.pdf.
 16. **Secretaría de Salud de Girardot.** Sistema de Vigilancia Epidemiológica. Girardot: Unidad de Epidemiología; 2013.
 17. **Arunachalam N, Tana S, Espino F, Kittayapong P, Abeyewickreme W, Wai KT, et al.** Eco-bio-social determinants of dengue vector breeding: A multicountry study in urban and periurban Asia. *Bull World Health Organ*. 2010;88:173-84. <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.09.067892>
 18. **Troyo A, Fuller DO, Calderón-Arguedas O, Beier JC.** A geographical sampling method for surveys of mosquito larvae in an urban area using high-resolution satellite imagery. *J Vector Ecol*. 2008;33:1-7.
 19. **Focks D, Villegas E, Romero-Vivas CM, Midega J, Bisset J, Morrison A, et al.** Multicountry study of *Aedes aegypti* pupal productivity survey methodology- Findings and recommendations. WHO/TDR/IDE/Den/2006.1. Geneva: WHO; 2006. p.48.
 20. **Romero-Vivas CM, Llinás H, Falconar AK.** Three calibration factors, applied to a rapid sweeping method, can accurately estimate *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) pupal numbers in large water-storage containers at all temperatures at which dengue virus transmission occurs. *J Med Entomol*. 2007;44:930-7.
 21. **Rueda LM.** Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with dengue virus transmission. *Zootaxa*. 2004;589:1-60.
 22. **Berlanga V, Rubio MJ.** Clasificación de pruebas no paramétricas, cómo aplicarlas en SPSS. REIRE, Revista d'Innovació i Recerca en Educació. 2012;5:101-13.
 23. **Fuentes S.** Análisis de correspondencias simples y múltiples. Fecha de consulta: 11 de marzo de 2014. Disponible en: <http://www.fuenterrebollo.com/Economicas/ECONOMETRIA/REDUCIR-DIMENSION/CORRESPONDENCIAS/correspondencias.pdf>.
 24. **Padmanabha H, Soto E, Mosquera M, Lord CC, Lounibos LP.** Ecological links between water storage behaviors and *Aedes aegypti* production: Implications for dengue vector control in variable climates. *Ecohealth*. 2010;7:78-90. <http://dx.doi.org/10.1007/s10393-010-0301-6>
 25. **González R, Gamboa F, Perafán O, Suárez MF, Montoya J.** Experiencia de un análisis entomológico de criaderos de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* en Cali, Colombia. *Rev Colomb Entomol*. 2007;33:148-56.
 26. **Vezzani D, Velázquez SM, Schweigmann N.** Seasonal pattern of abundance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires City, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99:351-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762004000400002>
 27. **Quintero J, Carrasquilla G, Suárez R, González C, Olano VA.** An ecosystemic approach to evaluating ecological, socioeconomic and group dynamics affecting the prevalence of *Aedes aegypti* in two Colombian towns. *Cad Saúde Pública*. 2009;25(Suppl.1):S93-103. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2009001300009>
 28. **Suárez R, González C, Carrasquilla G, Quintero J.** An ecosystem perspective in the socio-cultural evaluation of dengue in two Colombian towns. *Cad Saúde Pública*. 2009;25(Suppl.1):S104-14. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2009001300010>
 29. **Kittayapong P, Thongyuan S, Olanratmanee P, Aumchareoun W, Koyadun S, Kittayapong R, et al.** Application of eco-friendly tools and eco-bio-social strategies to control dengue vectors in urban and peri-urban settings in Thailand. *Pathog Glob Health*. 2012;106:446-54. <http://dx.doi.org/10.1179/2047773212Y.0000000059>
 30. **Kroeger A, Lenhart A, Ochoa M, Villegas E, Levy M, Alexander N, et al.** Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in México and Venezuela: Cluster randomized trials. *BMJ*. 2006;332:1247-52. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.332.7552.1247>
 31. **Focks DA, Chadee DD.** Pupal survey: An epidemiologically significant surveillance method for *Aedes aegypti*: An example using data from Trinidad. *Am J Trop Med Hyg*. 1997;56:159-67.
 32. **Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E.** Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med Hyg*. 2000;62:11-8.
 33. **Vezzani D, Schweigmann N.** Suitability of containers from different sources as breeding sites of *Aedes aegypti* (L.) in a cemetery of Buenos Aires City, Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97:789-92. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762002000600006>