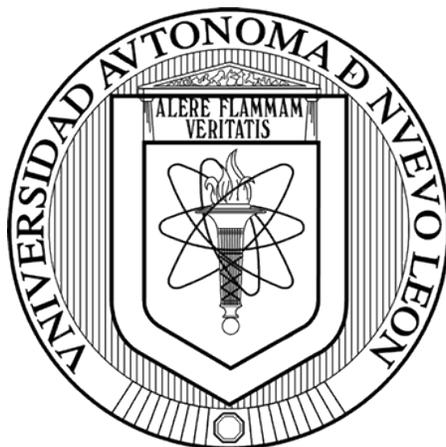


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**CASAS A PRUEBA DE *Aedes aegypti* PARA MAXIMIZAR EL CONTROL
Y LA PREVENCIÓN DEL DENGUE Y CHIKUNGUNYA EN YUCATÁN**

Por

JOSUE GÁSPAR HERRERA BOJORQUEZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de

**DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ENTOMOLOGÍA
MÉDICA**

Junio, 2019

CASAS A PRUEBA DE *Aedes aegypti* PARA MAXIMIZAR EL CONTROL Y
LA PREVENCIÓN DEL DENGUE
Y CHIKUNGUNYA EN YUCATÁN,
MEXICO

Comité de tesis

Presidente: Dra. Adriana Elizabeth Flores Suarez

Secretario: Dr. Gustavo Ponce García

Vocal: Dr. Humberto Quiróz Martínez

Vocal: Raúl Torres Zapata

Vocal: Beatriz López Monroy

AGRADECIMIENTOS

Dra. Adriana Flores y Dr. Pablo Manrique

Gracias por guiarme en mi formación profesional, por compartir el trabajo y los logros, por su apoyo para realizar el presente trabajo, por los consejos, recomendaciones y experiencia científica que me ha servido y servirá en mi vida profesional, pero sobre todo por su amistad y confianza en mí.

Dr. Azael Che

Por sus enseñanzas, apoyo constante, sus consejos y por su puesto por su amistad.

Al personal de UCBE

Gracias por su apoyo para realizar este trabajo, por los consejos y experiencia que me compartieron, en especial gracias por la amistad que logramos, en el tiempo de nuestra formación. Gracias por su gran ayuda incondicional en las colectas, así como la parte de identificación de virus y como lugar para llevar a cabo todas mis pruebas de laboratorio.

A la UANL

Por ser mi alma mater en este proceso de formación, por lo que he llegado a este punto final de mi formación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Por el soporte financiero para la realización de los estudios de doctorado.

A mis primos y tíos de Monterrey

Gracias por compartir su casa, alimentos, amistad, apoyo y amor conmigo, sin esto nunca hubiera podido lograr llegar a esta meta en mi vida.

DEDICATORIAS

A mis abuelos: Sra. Socorro Rivero Rivero y Tito Javier Bojórquez Valladares por su gran esfuerzo y sacrificio dedicado a la formación de mi persona como un hombre de bien.

A mis primos: Sr. Yeimy Ortiz Rivero y José López Almaguer por sus consejos y por todo el apoyo incondicional que me ha brindado durante mis estancias en Monterrey.

A mis Primos: Juan Ortiz Rivero y Maira Díaz por su apoyo incondicional y ánimo durante mis estancias en Monterrey.

A mis Tíos: Juan Ortiz e Isabel Rivero Santos por sus consejos, su apoyo, pero sobre todo por su cariño y amor.

A mi esposa Nidia Campos Camargo y mis hijos por su gran apoyo, por su paciencia y consejos, pero sobre todo gracias por estar siempre a mi lado y mostrarme lo maravilloso de la vida, el amor. Gracias en verdad se los agradezco.

A mis primos: Ángel López y Alonso López, que siempre estuvieron ahí para apoyarme cuando los necesitaba.

INDICE

	Sección	Página
RESUMEN		vii
ABSTRACT		viii
INTRODUCCION		1
ANTECEDENTES		3
JUSTIFICACION		11
HIPOTESIS		12
OBJETIVOS		13
Objetivo general.....		13
Objetivos específicos.....		13
MATERIALES Y METODOS		14
Área de estudio.....		14
Características de las viviendas.....		14
Selección y Aleatorización de los conglomerados.....		16
Intervención Progresiva.....		16
Vigilancia de vectores y arbovirus.....		20
Pruebas de laboratorio.....		22
Mosquiteras impregnadas con insecticidas de larga duración (MILDs).....		22
Condición del material biológico empleado para las pruebas.....		23
Dispositivo Skovmand.....		24
Evaluación de daños a MILDs.....		24
Pruebas de túnel.....		25
Indicadores y análisis estadístico.....		27
Dispositivo Skovmand.....		27
Muestreo de casas.....		27
Prueba de túnel.....		28
Percepción y aceptación de las MILDs en la población de estudio...		28
RESULTADOS		30
Impacto de las MILDs en mosquitos de <i>Aedes aegypti</i> adultos.....		30

Impacto de las MILDs en casas con pools de hembras de <i>Aedes</i> positivas...	32
Dispositivo Skovmand.....	33
Bloqueo e inhibición de la alimentación sanguínea.....	34
Knock down y Mortalidad.....	35
Aceptación del proyecto casas a prueba de <i>Aedes aegypti</i>	37
Aceptación del proceso de instalación.....	37
Aceptación del proceso de instalación de mallas.....	37
Presencia de mosquitos en la vivienda.....	38
Percepción sobre infecciones por ETV.....	38
Percepción sobre aumento de calor en viviendas.....	38
Prevención contra ETV.....	39
Sugerencias y recomendación para el escalamiento.....	39
DISCUSION	40
CONCLUSIONES	46
PERPECTIVAS	48
BIBLIOGRAFIA	49
RESUMEN BIBLIOGRAFICO	53

INDICE DE TABLAS

Tabla	Contenido	Página
1	Calendario de instalación de la intervención en los conglomerados...	19
2	Integridad física de las MILDs en condiciones de campo y fijadas en puertas y ventanas (120 casas visitadas) en diversos vecindarios de Mérida, México. Se inspeccionaron un total de 480 MILDs.....	26
3	Comparación entre los tratamientos (MILDs) y mallas sin insecticida (control) media de los grupos y error estándar de la media (SE) para los indicadores entomológicos de <i>Aedes</i> en Juan Pablo II Casas (n = 900) en Mérida, México. Odds ratios (OR) y tasa de incidencia (IRR) con 95% intervalos de confianza para los datos de presencia-ausencia (casa positiva para <i>Ae. aegypti</i>) y datos de conteo (<i>Ae. aegypti</i> por casa) respectivamente para cada muestreo entomológico por tratamiento.....	31
4	Comparación entre pools tratados (MILDs) y no tratados (control) en casas con “pools” de detección de <i>Aedes</i> y arbovirus en Juan Pablo II en Mérida, México.....	33
5	Medias para las medianas del tiempo Knock down (MMKDT) observados cuando dos cepas de <i>Aedes aegypti</i> estaban continuamente expuestas a un período de edad de las MILDs en Mérida, México.....	33
6	Análisis del factor de exposición de las mallas utilizando modelos de regresión de Poisson construidos con bloqueo y la alimentación sanguínea como variables dependientes, edad de las mallas y tipo de daño usados como variables independientes para las muestras de mallas de la ciudad de Mérida. La categoría "Sin daños" no se consideró en el análisis.....	35
7	Análisis del factor de exposición de las mallas utilizando modelos de regresión de Poisson construidos con % de derribo a la hora y % de mortalidad a las 24 h como variables dependientes, y edad de las mallas y tipo de daño como variables independientes para las muestras de mallas de la ciudad de Mérida.....	36

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	CONTENIDO	PÁGINA
1	Área de estudio en la colonia Juan Pablo II, Mérida, Yucatán.....	14
2	Casa estándar de la colonia Juan Pablo II.....	15
3	Conglomerados seleccionados y numerados en el área de estudio, Juan Pablo II.....	16
4	Instalación de mallas mosquiteras fijas en puertas y ventanas.....	20
5	Uso y funcionamiento del dispositivo de túnel (A-B). Tipos de daños: C) Malla sin daños, D) Daño de nueve agujeros, E) Daño lateral, F) Daño central.....	27

RESUMEN

Las mallas impregnadas con insecticida de larga duración (MILDs) son un método innovador y prometedor, en particular para el control sostenido de las hembras de *Ae. aegypti* en el interior de las viviendas, así como la reducción de contacto vector-humano. En este estudio se evaluó la intervención "casas a prueba de *Ae. aegypti*", que consistió en la instalación MILDs colocadas como mosquiteras fijas en puertas y ventanas en casas de una colonia de Mérida Yucatán con un total de 5 conglomerados tratamiento y 5 control (100 casas/cluster). Se llevaron colectas entomológicas para cuantificar la presencia y la prevalencia de mosquitos adultos en el interior de los domicilios a intervalos de 6 meses, correspondientes a las temporadas de secas/lluvias durante un año (2016 - 2017). En total, 500 hogares recibieron la intervención (100% de la cobertura), los cuales mostraron reducciones significativas en la presencia y abundancia de *Ae. aegypti* en el interior de la vivienda. Así mismo, se realizaron bioensayos de prueba de túnel para evaluar el comportamiento de las hembras de *Ae. aegypti* (cepas susceptibles y resistentes a piretroides) contra una MILD con diferentes tiempos de "edad" (malla nueva, expuesta en el campo después de 6 meses y 1 año) y diferentes tipos de daños (sin daños, daños centrales, daños laterales y nueve huecos). Todos los daños y tiempos requirieron de 40 hembras de mosquitos durante 40 minutos en el dispositivo del túnel. Las mallas demostraron un 100% de efectividad bloqueando el paso de los mosquitos cuando no presentaban daños, el tipo de daño es el principal factor que afectó el bloqueo y la alimentación sanguínea, aumentando en 1.5 cuando hay daño de nueve huecos y 1.9 cuando hay daño central, en comparación con el daño lateral. La edad y el tipo de daño afectaron de manera significativa el derribo y la mortalidad en ambas cepas, el derribo y la mortalidad registraron un 44% en la cepa resistente y 84% en la cepa susceptible cuando las mallas no presentaban daño. La aceptación del proceso intervención fue de un 91.43% por parte de los pobladores y el 100% calificó la intervención como eficaz, de los cuales el 58% manifestó la total ausencia de mosquitos en el interior de su vivienda.

ABSTRACT

Long-lasting insecticide impregnated nets are an innovative and promising method, particularly for the sustained control of *Aedes aegypti* females in the interior of the premises as well as the reduction of vector-human contact. In this study, the intervention "casas a prueba de *Aedes aegypti*", which consisted in the installation of LLINs fixed on doors and windows in houses of a colony of Merida Yucatan with a total of 5 conglomerates of treatment and 5 control (100 houses / cluster). Quantify the presence and prevalence of adult mosquitoes inside homes at 6-month intervals, corresponding to the dry / rainy seasons during one year (2016 - 2017). A total of 500 households received the intervention (100% of coverage) the same significant reductions in the presence and abundance of *Aedes aegypti* in the interior of the house. As well as tunnel test bioassays to evaluate the behavior of the *Aedes aegypti* females (susceptible strains and resistant strain to pyrethroids) against a LLINs with different aging nets times (new net, 6 months' net, 12 months' net), and types of damage (Non-damage, central damage, lateral damage and 9 holes). All damages and times required of 40 female mosquitoes during 40 minutes in the tunnel device. The nets showed 100% of blocking the passage of mosquitoes when no damage occurs, the type of damage is the main factor affecting the blockage and bloodfeeding, the increase of 1.5 when there is damage of nine holes and 1.9 when there is Central damage, compared to the lateral damage. Age and type of damage affected significantly knock down and mortality in both strains, knock down and mortality registered 44% in the resistant strain and 84% in the susceptible strain when the nets showed no damage. The acceptance of the intervention process was 91.43% on the part of the inhabitants and 100% of the intervention as effective, of which 58% manifests the total absence of mosquitoes inside their home.

1. INTRODUCCION

El virus del dengue se transmite por la picada de mosquitos hembra principalmente de la especie *Aedes aegypti* y, en menor grado, de *Aedes albopictus*. La enfermedad está muy extendida en los trópicos, con variaciones locales en el riesgo que dependen en gran medida de las precipitaciones, la temperatura y la urbanización rápida sin planificar. Hoy en día, afecta a la mayor parte de los países de Asia y América Latina y se ha convertido en una de las causas principales de hospitalización y muerte en los niños de dichas regiones, en México el dengue está ampliamente distribuido, el estado de Yucatán se encuentra entre los primeros lugares de esta enfermedad. Actualmente no existen vacunas que protejan a la población de estas enfermedades en su totalidad por lo que el control de estas se basa en la reducción de las poblaciones del vector *Aedes aegypti* y el contacto mosquito-humano (picadura) que presenta el gran reto y meta vigente para la prevención y control del Dengue y Chikungunya en las áreas de riesgo epidemiológico. Para llevar a cabo esta tarea tradicionalmente existen diversos métodos de control del vector entre los que podemos mencionar los siguientes: La nebulización, eliminación de criaderos, abatización, participación comunitaria y materiales tratados con insecticidas.

Las intervenciones con mallas tratadas con insecticida (ITS, por sus siglas en inglés), es una estrategia que consta de la instalación con mallas tratadas con insecticida fijadas permanentemente con marcos sólidos de aluminio en puertas y ventanas, esto impide el acceso de los mosquitos al interior de la vivienda, impidiendo el contacto entre el vector y los humanos, estas estrategias se han evaluado en México en los últimos años (Manrique-Saide et al. 2015, Che -Mendoza et al. 2016 & 2018). Estos estudios de ITS ha demostrado conferir una protección de al menos un 50% de tener mosquitos de *Aedes aegypti* en el interior de la vivienda y aún más importante, <50% en la abundancia de hembras de *Aedes aegypti* en comparación con casas no protegidas en las ciudades de Acapulco y Mérida, México (Manrique-Saide et al. 2015, Che-Mendoza et al. 2016 & 2018). Las ITS proporcionan una intervención sostenible a largo plazo, aunque las mallas solo duran de 1 a 3 años, los marcos de aluminio pueden resistir las condiciones de campo durante al menos de 5 a 10 años, permitiendo que el mantenimiento de la

intervención sea económico una vez hecha la instalación de los marcos de aluminio, , popular para los dueños de las vivienda que lo perciben como parte del mejoramiento de sus domicilios y fácil de adoptar en otras regiones con características diferentes en las viviendas (Jones et al. 2016) esto permite la reducción significativa de las infestaciones domésticas de *Aedes aegypti* y por lo tanto, el contacto humano-vector dentro de las casas. Las ITS también tiene el potencial de ampliarse para proteger contra otras enfermedades transmitidas por mosquitos, especialmente en lugares donde se produce la transmisión simultánea de dengue, chikungunya y actualmente Zika.

Los materiales tratados con insecticida son una herramienta eficaz, segura y simple con el potencial de prevenir la transmisión de una variedad de enfermedades transmitidas por vectores (Wilson et al., 2014) a través de un efecto individual (es decir, mosquiteros que evitan la picadura del vector y su posterior alimentación sanguínea) y / o por un efecto adicional (es decir, reduciendo la vida útil del vector y la abundancia / densidad de la población). Las mallas con insecticidas de larga duración (MILDs) incorporan insecticida (la mayoría de ellos piretroides) al tejido de poliestireno la fibra es posteriormente cubierta por una capa de resina, esto permite lograr un efecto insecticida residual de 1 a 3 años. Cuando se utiliza como barrera física, se espera que las MILDs reduzca el contacto humano-vector al bloquear físicamente la entrada de mosquitos adicional a su efecto insecticida y / o irritante / disuasorio sobre los mosquitos que eventualmente reducirá su esperanza de vida (Takken, 2002; Vanlerbeghe et al. al., 2011). Actualmente la OMS promueve investigaciones sobre la eficacia de las MILDs en el control de la actividad diurna de *Aedes aegypti* (McCall et al., 2009). Las MILDs utilizadas como intervenciones individuales o combinadas, se han evaluado en diferentes entornos de todo el mundo como un enfoque de gestión ambiental integrado para complementar y mejorar el control actual del vector del dengue. Se ha reportado cierto grado de éxito después de las intervenciones con MILDs contra los vectores del dengue cuando se usa como barrera física en los sitios para bloquear la oviposición (Kroeger et al., 2006; Seng et al, 2008; Tsunoda et al., 2013) o para la reducción del contacto vector-humano, además proporciona protección personal en los hogares que cuentan con las mallas fijas en puertas y ventanas (Lenhart et al., 2008) o como cortinas colgadas (Igarashi, 1997; Kroeger et al. 2006; Lenhart et al., 2013; Nguyen et al. , 1996; Rizzo

et al., 2012; Vanlerberghe et al., 2011; Vanlerberghe et al., 2013), y más recientemente como ITS (Che-Mendoza et al. 2015; Manrique-Saide et al., 2015; Che -Mendoza et al., 2018).

2. ANTECEDENTES.

Hoy más que nunca el reto vigente es reducir o interrumpir el contacto humano-vector y en última instancia impactar sobre la transmisión de la enfermedad. Existen dos aproximaciones para lograr reducir o interrumpir el contacto humano-vector (Morrison *et al.*, 2008). A través del uso de estrategias (físico-químicas y bioracionales) para impactar directamente sobre la reducción de las poblaciones de mosquitos adultos a niveles que afecten la transmisión de la enfermedad, y el uso de estrategias (físicas y químicas) que limiten el contacto vector-humano y limiten la transmisión de la enfermedad.

El control químico del mosquito vector *Aedes aegypti* constituye un elemento importante en las estrategias de prevención y control del dengue en México y demás países endémicos de en todo el mundo. Aunque los esquemas actuales de control recomiendan la aplicación de más de una técnica o método (reducción de criaderos/adultos mediante métodos físicos y/o químicos) para garantizar un mayor impacto sobre las poblaciones de adultos, el uso intensivo y extensivo de los insecticidas inevitablemente provoca el desarrollo de resistencia a los mismos (Saavedra-Rodríguez *et al.*, 2007; Siller *et al.*, 2011).

Una de las estrategias más promovidas para reducir el contacto vector-humano y limitar la transmisión es el uso de mallas impregnadas con insecticidas de larga duración usadas como pabellones o mallas mosquiteras. Su uso en forma de pabellones ha demostrado ser efectivo para reducir la transmisión de Malaria en el continente africano. Las mallas impregnadas con insecticidas de larga duración (MILDs) son materiales impregnados de insecticida pre-tratadas con insecticidas diseñados para prolongar su tiempo de vida útil. El uso de MILDs para el control de las poblaciones de mosquitos vectores del dengue es prometedor basado en los resultados de algunos estudios realizados en Haití, Venezuela, México y Guatemala. Estos estudios sugieren que las MILDs, empleados como mallas mosquiteras (tapa-tambos) y/o cortinas en puertas y ventanas, podrían ser efectivos para reducir las poblaciones de *Aedes aegypti* y la transmisión del dengue (Kroeger *et al.*, 2006; Lenhart *et al.*, 2008; Rizzo *et al.*, 2012). El despliegue a gran escala de este tipo de intervenciones protegería tanto a los usuarios

como a los no usuarios a través de la protección a nivel personal y de comunidad que producen las altas tasas de coberturas, tal ha sido la experiencia en África con el uso de materiales impregnados con insecticida (cielo raso y pabellones principalmente) para el control de la malaria (WHO, 2005; Rafinejad *et al* 2008; Gu y Novak, 2009; Lengeler, 2009).

La reducción de las poblaciones de adultos de *Aedes aegypti* y de sus interacciones con los seres humanos es una de las nuevas metas y al mismo tiempo un reto vigente para el control del dengue (Morrison *et al.*, 2008). En el último reporte del grupo de expertos de dengue (McCall y Kittayapong, 2007), se recomienda además del empleo de intervenciones enfocadas en los criaderos más productivos (CCP) –con métodos de eficacia comprobada por ej. Larvicidas, manejo, eliminación- también el empleo de materiales impregnados con insecticidas de larga duración (MILDs) como barrera físico-química para reducir las densidades del vector a niveles que afecten la transmisión del virus del dengue. El tratamiento de sitios específicos de contacto para los mosquitos en su etapa de búsqueda activa de sangre, y como se propone funcionen en este estudio los MILDs, es una forma racional y selectiva del uso de insecticidas.

Los materiales tratados con insecticida (MTI), principalmente mosquiteros, fueron originalmente eficaces en la reducción de enfermedades transmitidas por vectores nocturnos activos. La eficacia de los ITM en vectores diurnamente activos tales como *Ae. aegypti* ha sido evaluada en los últimos años (Kroeger *et al.*, 2006). Muchos estudios han demostrado que la infestación del vector del dengue podría reducirse o controlarse a nivel de los hogares mediante la implementación de MTI (Kroeger *et al.*, 2006; Lenhart *et al.*, 2008; Seng *et al.*, 2008c). Se plantea la hipótesis de que los mosquitos adultos entran en contacto con los ITM durante la búsqueda del huésped.

Los ITM son herramientas que han sido investigadas en los últimos años para atacar a los mosquitos adultos. Los ITM son una intervención simple, eficaz, segura, asequible, de baja tecnología y duradera, que ha demostrado prevenir la transmisión de una variedad de enfermedades transmitidas por vectores al tener un efecto individual (es decir, mosquiteros que evitan que el vector de la sangre Alimentación) y tener un efecto comunitario (es decir, reduciendo la vida útil del vector y la población). Sobre la base del control exitoso demostrado contra los vectores nocturnos endófilos *Anophelesspp* y la eficacia protectora de los MTIs (en

forma de mosquiteros tratados con mosquiteros tratados con mosquiteros tratados con mosquiteros tratados con mosquiteros) 2008), el Grupo de Trabajo Científico sobre el Dengue de la OMS de 2006 identificó el desarrollo / evaluación de los MTI como una corriente primaria de investigación global (McCall y Kittayapong, 2007).

Esto podría reducir la esperanza de vida del adulto *Ae. aegypti* y consecuentemente reducir la transmisión del dengue (Kroeger et al., 2006; Lenhart et al., 2008). Dado que los ITM son producidos a partir de materiales insecticidas de larga duración, este método podría mantener la eficacia durante varios años (Vanlerberghe et al., 2010). También se demostró que los ITM tienen un impacto en las poblaciones de vectores y tienen altos niveles de aceptación por parte de las familias (Kroeger et al., 2006; Seng et al., 2008c).

Estudios recientes en América Latina y el Caribe han demostrado que los materiales tratados con insecticida, tales como cortinas para ventanas, cubiertas de contenedores y frascos y redes de cama pueden reducir las densidades del vector del dengue a niveles bajos y potencialmente tener un impacto en la transmisión del dengue (Kroeger et al., 2006, Lenhart et al., 2008, Venlerberghe et al., 2009). Estas intervenciones esencialmente proporcionan un insecticida residual dirigido a los mosquitos adultos dentro de la casa y se sugiere que los ITMs posiblemente se conviertan en una alternativa eficaz al IRS en la orientación de los vectores adultos de dengue (Esu et al., 2010).

Recientemente, varios estudios han demostrado que los ITMs se han convertido potencialmente en una herramienta novedosa eficaz para controlar *Aedes aegypti*, con una eficacia que probablemente se optimizará cuando se aplique en combinación con otras herramientas de control de vectores, particularmente cuando su uso esté integrado en una estrategia que también involucre a las comunidades en áreas dadas (Seng et al., 2008c, Vanlerberghe et al., 2011; Rizzo et al., 2012, Lenhart et al., 2013).

La tecnología inicial de ITN se mejoró dramáticamente con el desarrollo de tecnologías para producir Malas impregnadas con insecticidas de larga duración (MILDs) que no requieran retratamiento. Las MILD han contribuido en gran medida a la reducción de los casos de malaria,

estimados en torno al 68% (Bhatt et al. 2015). Sin embargo, considerando los patrones de actividad diurna de los mosquitos *Aedes* no se espera que las MILDs tengan el mismo efecto que en los vectores de la malaria. En el caso de los vectores del dengue, se argumenta que un factor importante en el fracaso de los métodos previos de prevención es su enfoque en la eliminación de las formas inmaduras de *Ae. aegypti*, en lugar de dirigirse a los mosquitos adultos que realmente transmiten la enfermedad (Morrison et al., 2008). El vector del dengue *Ae. aegypties* un mosquito altamente sinantrópico que vive en estrecha dependencia con ecosistemas artificiales (Getis et al. 2003; Scott y Morrison, 2002). El desafío consiste en reducir las poblaciones de vectores adultos infectados y / o su interacción con seres humanos que afectan la transmisión del virus del dengue (Achee et al. 2015; Morrison et al. 2008).

Las MILDs han sido evaluadas por su eficacia protectora contra el dengue. En Haití, las mallas de mosquiteros mostraron un efecto inmediato sobre los indicadores de estadios inmaduros y la transmisión del dengue, este efecto se extendió durante los siguientes 5-12 meses después del despliegue de las mallas (Lenhart et al. 2008).

Estudios recientes han sugerido el potencial de las MILDs como cortinas de ventana (Cortinas Tratadas con Insecticida (ITC)), para reducir las densidades del vector del dengue a niveles bajos y potencialmente impactar en la transmisión del dengue. En Tailandia, los ITC mostraron efectos inmediatos sobre los indicadores inmaduros a los 6 meses (Vanlerberghe et al. 2013). Sin embargo, en algunos casos, el estilo de vivienda podría afectar las intervenciones de la ITC que favorecen la entrada de mosquitos y se mueven por las casas sin entrar en contacto con insecticidas (Lenhart et al. 2013).

En un ensayo de campo llevado a cabo en México, las intervenciones del CTI no afectaron a la población adulta de interior, pero parecía reducir el número de hembras infectadas con DENV y la prevalencia de infección humana en algunas áreas (Loroño-Pino et al. 2013). Combinando los ITC con focos de crianza productiva en México (Kroeger et al. 2006), Venezuela (Kroeger et al. 2006; Vanlerberghe et al 2011^a) y Guatemala (Rizzo et al. 2012) mejoraron el impacto en *Aedes aegypti*.

Sin embargo, dos desafíos claves surgieron de los ensayos de campo iniciales. En primer lugar, la cobertura de las intervenciones basadas en el CIT suele disminuir drásticamente con el tiempo (Tun-Lin, et al. 2009; Vanlerberghe et al. 2011b, 2013), sin duda comprometer la eficacia en toda la comunidad y un problema común a muchas estrategias de control.

En Guatemala (Rizzo et al. 2012) y México (Loroño-Pino et al. 2013) también lo encontraron, señalando que las familias removerían o amarrarían las cortinas para aumentar la ventilación durante el día, comprometiendo la utilidad de la intervención. En segundo lugar, dado que los PY son la única clase de insecticidas recomendada por la OMS para la impregnación de mallas con insecticidas (OMS, 2014), y el desarrollo de resistencia de *Aedes aegypti* a piretroides es una preocupación importante. Sin embargo, el impacto de la resistencia de PY sobre la eficacia de las MILD en la prevención de la malaria ha demostrado ser difícil de determinar, en parte porque dependerá de la resistencia de la población (Ranson y Lissenden, 2016).

La protección contra las picaduras de mosquitos y la transmisión de enfermedades con mallas mosquiteras en las viviendas, casas ha sido históricamente observada como técnica fundamental de control de enfermedades transmitidas por mosquitos a principios del siglo XX. En la década de 1880, en Cuba, Carlos Finlay recomendó el uso de medidas físicas como una barrera para los mosquitos que él asumió estaban transmitiendo la fiebre amarilla (revisado por Ferroni et al. 2011). Sin embargo, Celli, en Italia, informó sobre el primer trabajo publicado que evaluaba las casas de cribado como medidas físicas para prevenir las enfermedades transmitidas por mosquitos (Celli, 1900). La experiencia italiana condujo a una amplia selección de casas contra mosquitos en zonas maláricas, no sólo en Italia, sino en todo el mundo (revisado por Lindsay 2002).

El uso de mallas para detectar los puntos de entrada más importantes en una casa, como ventanas y puertas, impide la entrada de mosquitos adultos (Schofield et al 1990). “Mosquito-proofing” de las casas es una forma de gestión ambiental basada en cambios en la vivienda humana para excluir vectores y reducir el contacto hombre-vector-patógeno (WHO, 1982). Se ha demostrado que las pantallas de las casas proporcionan protección contra la malaria (Kirby et al.

2008, Lindsay et al. 2003, Walker, 2010) y que son aceptadas por las comunidades (Kirby et al. 2010).

La integración de la protección domiciliaria con MILDs conforme a los programas de control del dengue, ha sido evaluada en Vietnam en 500 hogares. Nguyen et al. (1996) e Igarashi (1997) evaluaron una intervención con redes de permetrina que abarcaban todas las aberturas presentes en las viviendas (además de las medidas rutinarias de educación y control de salud anti-*Aedes*) e informaron una reducción significativa (cercana al 100%) del número de viviendas positivas para los vectores del dengue. Además, los mosquitos *Ae. aegypti* del interior estuvieron en niveles indetectables durante siete meses, mientras que en el grupo control la infestación aumentó gradualmente durante la epidemia y se observó un impacto positivo en la prevención de la transmisión de DENV durante la epidemia (a los 6 meses después de la intervención) (Nguyen et al. 1996). Al comienzo del presente estudio, este ensayo de Vietnam fue el único estudio publicado sobre el efecto de LLIS sobre los parámetros del dengue.

Los materiales impregnados con insecticidas de larga duración (MILDs) se elaboran incorporando insecticida a las fibras de un material sintético (polietileno) durante el proceso de fabricación, teniendo como resultado residualidad del efecto insecticida de 1 a 5 años. Los insecticidas comúnmente empleados son del grupo de los piretroides debido a su baja toxicidad en mamíferos y acción rápida a bajas dosis (Zaimet *et al.*, 2000, Corbel *et al.*, 2004). Resultados recientes sugieren que los MILDs, en particular mosquiteros (pabellones), cortinas y “tapa-tanques” pueden ser efectivos para reducir las poblaciones de *Aedes aegypti* y la transmisión de dengue. Por ejemplo, en Haití, los mosquiteros impregnados con insecticida tuvieron un efecto inmediato sobre las poblaciones de *Aedes aegypti* y la transmisión del dengue, y a lo largo de los siguientes 5–12 meses de las intervenciones (Lenhart *et al.*, 2008). Por su parte, el uso de cortinas impregnadas con insecticidas de manera integrada (ambos y en combinación con otro método de control de criaderos productivos) fue evaluado en sectores urbanos de Veracruz (México) y Trujillo (Venezuela). En Veracruz, la intervención consistió en áreas con cortinas tratadas con lambda-cialotrina y el tratamiento de criaderos productivos con pyriproxifeno. En Trujillo, la intervención consistió en aéreas con casas donde se instalaron cortinas tratadas con deltametrina en las ventanas y tapa-tanques del mismo material en los criaderos más productivos.

Las cortinas y tapa-tanques demostraron reducir las densidades de *Aedes aegypti* (Kroeger *et al.*, 2006; Vanlerberghe *et al.*, 2011).

La combinación (al mismo tiempo) del control enfocado de los criaderos más productivos de *Aedes aegypti* y el uso de materiales impregnados con insecticida de larga duración – en forma de cortinas- está bajo investigación en proyectos que se desarrollan en Asia (Tailandia y Vietnam) y Latinoamérica (Brasil, Cuba, Guatemala, Perú, Venezuela) (Kroeger 2006, Vanlerberghe 2011, Rizzo 2012).

Sin embargo, un reto ha emergido después del uso de MILDs en forma de cortinas en casas. Un MILD colocado en la habitación de una casa funciona matando los mosquitos que se posen en ella, teóricamente como una pared tratada con insecticida residual (McCall y Kittayapong, 2007). Una cortina MILD en la ventana de una casa, aumenta la probabilidad de contacto a la entrada y salida de los mosquitos por esta vía, pero no la protege en su totalidad. El empleo de MILDs, como una malla mosquitera fija en puertas y ventanas para evitar la entrada y más aún, matar a los mosquitos que se acerquen/posen en ellas a la salida, se espera sea más efectivo. Adicionalmente al efecto insecticida, el uso de mallas mosquiteras representa una barrera física contra los mosquitos. Estudios en >1,000 casas de 29 colonias de Mérida Yucatán identificaron que el empleo de mallas mosquiteras en ventanas reduce el riesgo contra la presencia (OR=0.59) y abundancia (IRR=0.52) de mosquitos *Aedes* hembra (Che-Mendoza *et al.*, 2015).

El segundo reto es que se ha desatendido la prevención del dengue por picaduras del *Aedes* en espacios públicos donde la gente se congrega (escuelas, iglesias, negocios, oficinas, etc.) y es una notable omisión que compromete el éxito de cualquier programa de prevención y control del dengue. El riesgo de picadura con mosquitos *Aedes* (incluyendo los infectados y por ende también el riesgo de la transmisión de dengue) es importante en las casas, pero también los puede ser en otros espacios. Los mosquitos hembra *Aedes* pican durante todo el día, pero se ha documentado que sus picos de actividad ocurren en la mañana y el atardecer (Chadee y Martinez, 2000) que pueden corresponder a actividades extra-domésticas por Ej. Estadía en la escuela particularmente en el caso de los niños y jóvenes. Así, las escuelas son sitios de riesgo

para la picadura de los mosquitos *Aedes* y la transmisión del dengue porque pueden tener criaderos productivos y porque concentran una población expuesta a las picaduras de mosquitos (aún en baja densidad) y susceptible a los virus del dengue.

Estudios recientes en Mérida Yucatán han reportado que *Aedes aegypti* está presente en el interior de las casas de pacientes diagnosticados positivos a dengue durante todo el año y más aún que pueden encontrarse *Aedes* hembra infectadas por dos semanas (García-Rejón *et al.*, 2008) por lo que éstas casas representan una fuente de dispersión del virus y focos de transmisión para las personas que viven en o visitan estas casas. Adicionalmente, recientemente también se confirmó, que al menos en Mérida, las escuelas son sitios de riesgo para la picadura de mosquitos *Aedes* infectados y por ende, de importancia potencial para la transmisión del dengue (García-Rejón *et al.*, 2011), reportando mosquitos *Aedes* infectados con virus dengue en 45.8% de una muestra de 24 escuelas durante la época de lluvias y que corresponde al período de mayor transmisión de dengue en la ciudad. En términos de prevención y control, esto significa que si se previene las picaduras de *Aedes* dentro y fuera de las casas se puede afectar sustancialmente y reducir la transmisión del dengue.

3. JUSTIFICACIÓN

El aumento de la población en zonas de alto riesgo, así como las limitantes de personal y recursos de los sistemas de salud convierten al dengue y al chikungunya en problemas latentes de salud en las poblaciones de alto riesgo, esto hace necesario el uso de estrategias innovadoras para el control del vector transmisor de la enfermedad, La mayoría de las casas en sitios endémicos al dengue, no tiene protección en puertas y ventanas contra el mosquito vector.

El empleo de mallas impregnadas con insecticidas de larga duración (MILD'S) como malla mosquitera fija en puertas y ventanas resulta en un control más efectivo, evitando la entrada y más aún, matando a los mosquitos que se acerquen/posen en ellas. También es eficaz contra otros insectos paga como moscas, cucarachas, chinches etc. Esto debido a que es una intervención de tipo ecosistémico en salud, así como un uso racional de los insecticidas en el ambiente, se encuentra dentro del marco de los programas gubernamentales de control de vectores, permite un mejor manejo ambiental produciendo una mejora visible y tangible de la vivienda intervenida, tiene gran aceptación entre la población.

Así mismo los resultados de esta investigación permitirán tener un mayor conocimiento de cómo las poblaciones de *Aedes aegypti*(L.) se ven afectadas al usar mallas de mosquitero en puertas y ventanas en un área extensa y si esto tiene un efecto sobre la transmisión de los virus del dengue y del chikungunya en esta población. Los resultados de esta investigación también nos permitirán saber cómo se comportan los mosquitos cuando están en presencia de las mallas de mosquitero en condiciones de laboratorio, así como del confort de los pobladores cuando poseen las mallas de mosquitero instaladas en sus domicilios.

4. HIPOTESIS

El uso de mallas impregnadas con insecticidas de larga duración en una zona extensa de la ciudad de Mérida, Yucatán en conjunto con el control de los criaderos más productivos tendrá un fuerte impacto en las poblaciones de *Aedes aegypti* teniendo un efecto en la disminución de la transmisión en una zona de alto riesgo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Implementar el escalamiento de la estrategia “Vivienda Segura” para el control de poblaciones intradomiciliares *Aedes aegypti* (L.) y consecuente prevención y control de la transmisión del dengue y Chikungunya en México.

5.2 Objetivos particulares

1. Implementar la estrategia “Vivienda Segura” y evaluar su eficacia en términos del riesgo entomológico (presencia/abundancia de *Aedes aegypti*) dentro de las viviendas.
2. Evaluar el grado de excito-repelencia y letalidad causado por las mallas tratadas con insecticida, en adultos de *Aedes aegypti* (mallas nuevas, con 6 meses y un año de uso), bajo condiciones controladas en laboratorio.
3. Cuantificar la percepción y aceptación de las MILDs así como su efecto en el confort de la vivienda.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la colonia Juan Pablo II, ubicada en el poniente de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. El área seleccionada en esta colonia posee la característica de que es amplia, teniendo la capacidad de tener mil domicilios en un espacio compacto para una mejor implementación de la intervención, es un de complejos de viviendas muy cercanas entre sí, compartiendo en algunas ocasiones una misma división estructural entre dos recamaras de los domicilios, la colonia se construyó bajo un esquema generalizado de viviendas, por lo cual cada una de ellas tiene un diseño estándar, lo cual permite una intervención más homogénea y económica.

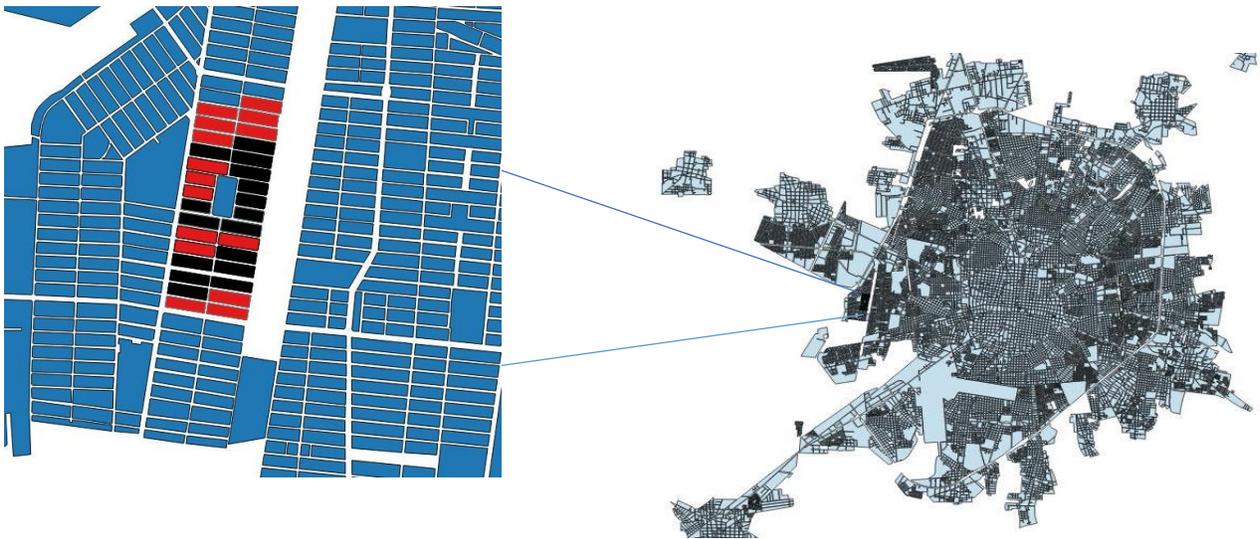


Figura 1.- A) ciudad de Mérida, Yucatán. B) colonia Juan Pablo II. El Área de estudio se resalta en colores, en rojo se observan los clústeres control en negro los clústeres intervención.

6.1.1 Características de las viviendas

Cada una de las viviendas tiene una construcción estándar, teniendo pocas variaciones como lo son la posición de las ventanas o de las puertas, sin embargo, el número de puertas y

ventanas permanece igual exceptuando aquellas en las que los pobladores han hecho modificaciones a sus domicilios. Cada lote es de aproximadamente 8 x 21m, con dos ventanas en el frente, dos en los costados y dos en la parte posterior de la vivienda, una puerta de entrada en el frente y una puerta de salida para el traspatio.

3.5 manzanas = 1 cluster de 100 casas 30 casas por manzana en promedio

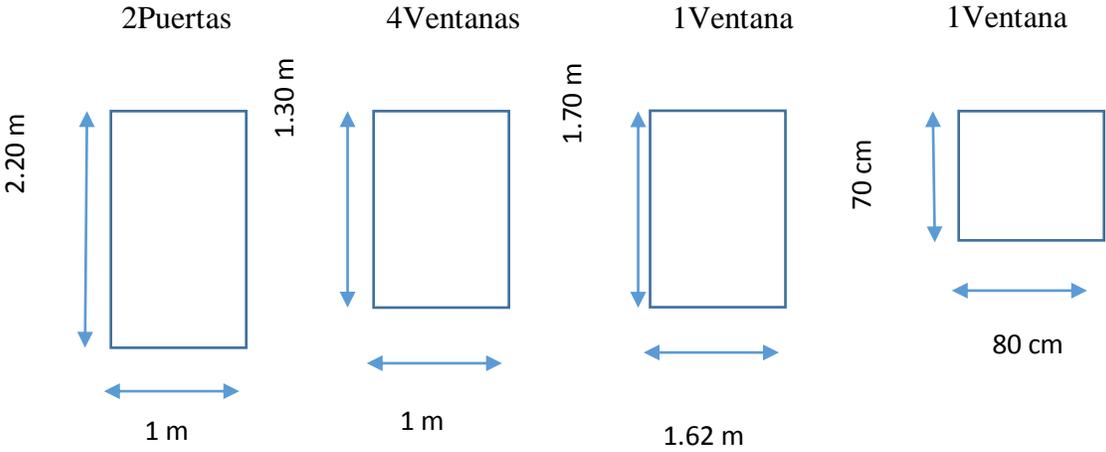


Figura 2. Casa estándar de la colonia Juan Pablo II. Cada una de las viviendas posee las puertas y ventanas de las medidas que se indican

6.1.2 Selección y Aleatorización de los conglomerados.

Una vez seleccionada y delimitada el área de estudio se procedió a la selección de los conglomerados, para esto se seleccionaron grupos de manzanas que tuvieran 100 viviendas habitadas, esto se hizo hasta completar 10 conglomerados con 100 casas cada uno, para un total de 1,000 casas incluidas en el estudio. A cada uno de estos conglomerados se les asigno un número para posteriormente hacer una selección al azar para llevar a cabo la intervención. Una vez terminada la selección al azar se procedió a hacer un calendario de instalación por cada uno de los conglomerados a intervenir.



Figura 3.- Conglomerados seleccionados y numerados en el área de estudio, Juan Pablo II

6.2 Intervención Progresiva

Una vez seleccionada el Área de estudio se llevó a cabo el estudio en congruencia y basado, en un protocolo validado y recomendado actualmente para estudios de esta naturaleza (Focks y Alexander, 2006; Tun-Lin et al. 2009; Arunachalam et al. 2010; Pilger et al. 2011), compuesto básicamente de lo que se describe a continuación.

A) Fase preparatoria: Incluye actividades de promoción de la intervención, consentimiento informado, la coordinación con las autoridades de salud y municipales y la instalación de casas muestra.

Promoción de la vivienda y consentimiento informado: después de la selección de los conglomerados al azar, se visitaron algunos domicilios que servirían como casas muestra, a estos domicilios se les entregó un consentimiento informado donde se detallaba la información sobre el proyecto, su duración, las actividades a realizar durante el mismo, fue de vital importancia que se les platicara que su domicilio serviría como casa muestra, así como darles información de que sería visitada por vecinos de la colonia y como responder a sus dudas.

Casas Muestra: Como parte de las estrategias para poder obtener la cobertura de las 1,000 casas en el sitio de estudio dentro del calendario establecido para el proyecto, se decidió llevar a cabo la instalación de 10 casas muestra, una en cada una de los conglomerados dentro del área de estudio, para esto se visitaron casas que se encontraran en una ubicación fácil de localizar para los habitantes de los alrededores, que sean visibles desde la calle (sin bardas o rejas altas), que estén debidamente limpias y que sean agradables a la vista, cada una de estas casas sirvió como referencia cuando se visitaba e invitaba a las personas dentro del área a participar en el proyecto. Estas casas también sirvieron como punto de visita para las personas que tuvieron dudas o temores sobre su participación en el proyecto, en estos puntos los pobladores podían ir y conversar con los dueños de la casa, así podían compartir sus experiencias con respecto a la instalación en sus domicilios, como fueron tratados, si les gusto la instalación, al visitar estos domicilios los pobladores podían observar de primera mano cómo quedaron las mallas y el aspecto del domicilio una vez que se instalan las mallas de mosquitero en puertas y ventanas, podían tocar, manipular e incluso experimentar en carne propia como se siente la casa una vez que está protegida, en algunos las personas de las casas y visitantes expresaron se sentían más seguras y protegidas de los mosquitos, ya no se sentían tanto temor para ellos y sus familias.

B) Estudios basales: Durante esta fase se llevaron a cabo actividades enfocadas a recabar la información previa a la intervención en el sitio de estudio, esto durante el mes de mayo del 2016, entre la que podemos destacar:

Casos de Dengue, ZIKA y Chikungunya reportados por el sistema de vigilancia epidemiológica de los SSY (SINAVE) durante los 5 años previos a la intervención en el área de estudio.

Estimación basal de riesgos ambientales de presencia de mosquitos en el entorno de las casas incluidas en el estudio, incluyendo descripción fisiográfica del ambiente, disponibilidad de agua potable en las viviendas, frecuencia del tren de aseo (recolección de basura), drenajes de aguas grises y negras, cursos de agua, proporción y tipo de espacios no residenciales, índice de calidad de la vivienda en las manzanas donde se seleccionen las casas intervenidas y encuestas de percepción de los residentes sobre las enfermedades transmitidas por vector.

Indicadores de riesgo entomológico (ovitrapas principalmente) reportados en la plataforma de vigilancia entomológica y colocadas en el sitio de estudio por el personal de campo. Las ovitrapas se colocaron 4 por cada manzana para un total de 120, estas se monitorearon por un periodo de 12 meses y se compararon con la información del sistema de vigilancia entomológico de los servicios de salud del estado.

Colectas entomológicas en una sub-muestra de 300 casas (30 por cada conglomerado) mediante la captura de mosquitos adultos intradomiciliados usando aspiradores portátiles Proko-pack, así como la revisión de posibles criaderos para la colecta de estadios inmaduros mediante colecta manual.

Durante las actividades relacionadas con la captura de mosquitos dentro de los domicilios, se tomó el consentimiento informado de cada una de las viviendas, antes de la colecta y se les incluyo en el calendario para la posterior intervención.

C) Invitación a participantes: una vez terminadas las colectas basales se continuo con la invitación de participantes, esto mediante la visita a los domicilios por conglomerado durante el mes de junio, se visitaron los conglomerados priorizando los que estaban en el inicio del

calendario de instalación, a cada uno de los domicilios se les tomo el consentimiento informado, estos se archivaron como parte de los archivos del proyecto.

D) Instalación/implementación progresiva de la intervención (diseño de ensayo escalonado). Que consiste en la instalación fija de una malla con insecticida (DuraNet® Clarke Mosquito Control, Roselle, IL, USA, poliéster no-inflamable, con 0.55% w.w. alfa-cipermetrina; recomendada por WHOPES), con marcos de aluminio en puertas y ventanas (Figura 4). Esto conforme al calendario de instalación previamente establecido.

Tabla 1.- Calendario de instalación de la intervención en los conglomerados.

Conglomerado	Conglomerado	Conglomerado	Conglomerado	Conglomerado
3	7	8	5	2
Junio-julio 2016	Julio 2016	Agosto 2016	Agosto-septiembre 2016	Septiembre-octubre 2016

E) Evaluación de la eficacia (comparación Pre-Post): donde se recopiló la información de:

Casos reportados por el sistema y plataforma de vigilancia

Colectas entomológicas en una sub-muestra de 300 casas intervenidas y control durante el mes de octubre-noviembre, mediante la captura de mosquitos adultos Intradomiciliados usando aspiradores portátiles Prokopack, así como la revisión de posibles criaderos para la colecta de estadios inmaduros mediante colecta manual.

F) Análisis de proceso y encuestas



Figura 4.- Instalación de mallas mosquiteras fijas en puertas y ventanas.

6.3 Vigilancia de vectores y arbovirus.

Estudios de campo entomológicos: se realizaron tres encuestas entomológicas transversales en grupos de intervención y control como en Manrique-Saide et al. (2014) y Che-Mendoza et al. (2015). Las colecciones interiores de mosquitos adultos se realizaron en una submuestra seleccionada al azar de 30 casas de cada grupo. El muestreo basal se completó en mayo de 2016 y fue seguida por muestreos posteriores a la intervención (PI) durante 2016-2017 durante dos estaciones subsiguientes, lluvias (mayor abundancia de vectores) y secas (baja abundancia de vectores).

Los mosquitos adultos en el interior de los domicilios se recolectaron con aspiradores Prokopack (Vazquez-Prokopec et al., 2009) durante un período de 15 minutos por casa. Las

colecciones dentro de cada grupo se realizaron el mismo día entre las 09: 00-12: 00 h. Por 3 equipos de 2 coleccionistas expertos cada uno. Todos los mosquitos recolectados fueron identificados por especies y sexo.

De las colecciones adulto-interiores a) Casas positivas (presencia de al menos una) para *Aedes* femeninos (%), b) Casas positivas (presencia de al menos uno) para *Aedes* hembras alimentadas con sangre (%), c) Número de *Aedes* hembra por casa y d) Se calculó el número total de *Aedes* alimentados por sangre por casa.

Presencia de virus en mosquitos: El estudio incluyó la detección de virus en mosquitos adultos, que se recogieron, se transportaron en tubos Eppendorf con ARN posteriormente y se enviaron al Laboratorio de Hematología del Centro Regional de Investigaciones (CIR-UADY) para su análisis. Las piscinas para mosquitos se hicieron en casa en la estación seca (hembra y macho por separado) y mosquitos individuales durante la temporada de lluvias. Se analizaron 224 muestras para la detección de virus dengue y Zika (DENV-ZIKV), de la sub-muestra de 300 casas, en época seca y lluviosa. La detección molecular del virus en los mosquitos recolectados se realizó de acuerdo con el siguiente protocolo: En primer lugar, los mosquitos se maceraron individualmente de forma mecánica utilizando morteros de porcelana que contienen 140 µl de agua estéril. Para la extracción de ARN viral, se siguieron las instrucciones del fabricante (kit QIAmp Viral RNA, QIAGEN, 52904). Brevemente, los mosquitos macerados individualmente se transfirieron a un vial estéril añadiendo el tampón de lisis. Esto permitió la lisis de la muestra en condiciones desnaturalizantes para inactivar los ARN y asegurar el aislamiento del ARN viral intacto. Posteriormente, después de mezclar e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente, se añadió etanol absoluto, se volvió a mezclar y se centrifugó (12,000 g / 10 min) para obtener el sobrenadante, que se colocó, en una columna de separación QIAmp mini. Posteriormente, la columna se centrifugó (6.000 g / 1 min) para obtener el material genético. Al lavar con el tampón correspondiente y colocar la columna en un nuevo vial, procedimos a eluir el ARN viral, libre de proteínas, nucleasas y otros contaminantes e inhibidores. El rendimiento y la pureza del ARN se determinaron mediante lecturas de absorbancia a 260/280 y 260/230 nm en un espectrofotómetro (equipo AB de Nanodrop).

Para determinar la presencia de DENV-ZIKV, específica e independientemente en muestras de mosquitos, se realizó la reacción de RT-PCR. A partir del ARN obtenido, se realizó una mezcla de reacción para la amplificación del material genético viral en un solo paso, utilizando cebadores directos e inversos específicos, así como las sondas TaqmanFastOne Step Master Mix (Thermo Fisher), para cada uno de los virus. Las reacciones de amplificación se realizaron en el equipo Rotor Gen de QIAGEN.

Para validar los resultados, se incluyeron un control positivo y un control negativo para cada virus en cada ensayo. A partir de los controles positivos de DENV y ZIKV proporcionados por el CDC, se extrajo ARN (QIAmp Viral RNA kit, QIAGEN, 52904) y mediante RT-PCR (Superscript III One Step RT-PCR kit) se amplificaron para obtener el ADN de cada uno de los virus. Por electroforesis, los fragmentos de ADN se separaron y purificaron usando el gel Wizard SV y el kit del sistema de PCR. Posteriormente, las bandas se ligaron en el vector de clonación TOPO pCR 2.1, y se transformaron en células competentes *E. coli* TOP10. Los plásmidos de interés que contienen los fragmentos virales se purificaron utilizando el kit Quiaprep spin minikit y se enviaron al Instituto de Medicina Genómica (INMEGEN) de la Ciudad de México, para su secuenciación. Los datos de secuenciación confirmaron una homología de más del 98% de identidad con las secuencias informadas para cada virus en el GENBANK (ZIKV: LC191864.1, DENV: GQ398288.1). El control negativo incluía viales con agua. Los resultados se expresan como valores de CT que son inversamente proporcionales a la concentración de RNA viral en cada muestra. Los valores de CT se determinaron con base en controles positivos y negativos, y los valores de CT por debajo de 33 ciclos se consideraron positivos.

6.4 Pruebas de laboratorio

Se utilizaron dos métodos para estudiar la eficacia (actividad insecticida / disuasiva / repelente) de las MILDs bajo diferentes condiciones físicas de envejecimiento y daño. Todas las pruebas se realizaron en el Laboratorio de la Unidad de Colaboración para Bioensayos Entomológicos (UCBE) de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), en la ciudad de Mérida, Yucatán.

6.4.1 Mosquiteras impregnadas con insecticidas de larga duración (MILDs)

La red empleada fue DuraNet® (malla de polietileno no inflamable tratada con alfacipermetrina tratada con 0.55% p / p [145 de luz; malla 1/4132 agujeros / pulgada cuadrada]; Clarke Mosquito Control, IL, USA; aprobado por WHOPES).

Se utilizaron MILDs nuevas, no expuestas (tiempo de exposición = 0) y muestras de MILDs desplegadas en condiciones operativas de campo durante 6 y 12 meses (tiempo de exposición de 6 y 12 meses) para todas las pruebas. Se usaron mallas sin lavar como controles negativos, sin tratamiento (sin insecticida).

Las muestras de MILDs expuestas en condiciones reales de campo se obtuvieron de las casas donde se llevó a cabo la instalación (MILDs montadas en marcos de aluminio, fijadas en ventanas y puertas externas) como parte de un estudio de campo de dos años realizado en Mérida, México en 2012 (Che-Mendoza et al., 2018). Veinte viviendas fueron seleccionadas al azar del grupo de intervención (Juan Pablo II) fueron visitadas y se tomaron muestras por casa de dos de las MILDs fijadas a las ventanas a los 6 y 12 meses después de su instalación. Cada malla completa se retiró del marco, se empaquetó por separado en papel de aluminio y se transportó al laboratorio, donde se cortaron inmediatamente (piezas de 25 cm x 25 cm), se lavaron una vez y se secaron a temperatura ambiente 30 °C (OMS, 2013). Luego se envolvieron en papel aluminio y se almacenaron en oscuridad antes de usarse en las pruebas (no se almacenaron más de siete días antes de su uso).

6.4.2. Condición del material biológico empleado para las pruebas

Se utilizaron dos cepas de mosquitos *Aedes aegypti*: Una cepa susceptible New Orleans (NO) y una cepa resistente Juan Pablo II (JP). La cepa NO se obtuvo de una colonia establecida en la unidad colaborativa para bioensayos entomológicos desde 2012, y originalmente fue proporcionada por el Centro para el Control de Enfermedades (CDC), Atlanta, EE. UU. La cepa local de JP se obtuvo de ovitrampas colocadas en el sitio de estudio de la colonia Juan Pablo II en 2012 y se mantuvo bajo condiciones de insectario desde entonces. Esta cepa ha sido

caracterizada previamente con resistencia (frecuencia 1016I del 82% y frecuencia 1534C del 93%) a los piretroides (Che-Mendoza et al., 2018). Grupos de hembras de 2-4 días de edad, con 24 horas sin alimentación sanguínea fueron utilizadas para todas las pruebas.

6.4.3. Dispositivo Skovmand

Con el fin de comparar la integridad química (actividad residual) de las MILDs DuraNet en diferentes tiempos en condiciones de campo, se determinó el tiempo medio knock down. Los bioensayos de contacto para la exposición continua se realizaron utilizando el dispositivo descrito por Skovmand et al (2008) con modificaciones de Santamaria et al (2016). En este dispositivo, los mosquitos no tienen espacio para volar en otra superficie, por lo que permanecieron en contacto permanente con la superficie de las MILDs. El tiempo de caída promedio (MKDT) se determinó mediante la exposición de grupos de 11 mosquitos hembra a las MILDs y se registró el tiempo de la mediana del knock down correspondiente a la sexta hembra (OMS, 1998; Graham et al., 2005; Kayedi et al., 2007). Se calculó el valor medio de MKDT para cada grupo de diez repeticiones por tiempo de exposición a las MILDs. Se realizó un control negativo (sin insecticida) para cada conjunto de 10 de bioensayos de contacto. El knock down en estas pruebas fue cero en todas, asegurando que no hubo efecto de derribo por manipulación de las hembras en el dispositivo.

6.4.4. Evaluación de daños a MILDs

Con el fin de realizar una evaluación general de la durabilidad de las MILDs DuraNet, en términos de la integridad física observada en las MILDs instaladas en ventanas después de 6 meses en los domicilios posterior a la intervención (Che-Mendoza et al., 2018), se visitaron 120 casas intervenidas en Mérida, México para registrar los daños físicos más frecuentes (tabla 2).

El efecto de los daños físicos se evaluó en tres momentos diferentes de uso de las MILDs en condiciones de campo: malla nueva, no expuesta, de 6 y 12 meses de uso en campo. Para esto, los grupos de muestras de MILDs ($n = 5$) se dañaron deliberadamente de acuerdo con el

siguiente daño inducido: i) daño central, que consiste en un orificio único con forma ovalada en el centro de la red (6 cm²); ii) daño lateral, que consiste en una forma de triángulo rectángulo en una esquina de la red (18 cm²); iii) daños múltiples, consistentes en nueve orificios (1 cm de diámetro), un orificio ubicado en el centro del cuadrado y ocho otros equidistantes y ubicados a 5 cm del borde. Los primeros simulaban los daños más comunes observados en condiciones de campo (Fig. 5). Otro grupo de MILDs no se dañó y se usó como un tratamiento adicional.

Mallas no tratadas dañadas con un número de perforaciones por cm² similar a las pruebas de las MILDs, se utilizaron como controles negativos.

6.4.5 Pruebas de túnel

La bioeficacia (mortalidad y éxito en la sangre) de las MILDs con diferentes tiempos de edad y niveles de daño se estudió en el laboratorio mediante un túnel experimental, un dispositivo de acrílico cúbico, modificación del utilizado por Elissa y Curtis 1995, Chandre et al. 2000, Hougard et al. 2003, Corbel et al. 2004, OMS 2005, Duchon et al. 2007, Vatandoost et. Alabama. 2013, Santamaria et. al 2016. La dimensión del túnel era de 25 cm de ancho, 25 cm de altura y 60 cm de longitud, con dos mangas de acceso colocadas en los extremos cubiertos con una malla de poliéster. El túnel consiste en un túnel acrílico cuadrado dividido en partes desiguales, cámara de liberación (C. L.) con 40 cm de largo, en esta cámara los mosquitos fueron introducidos y liberados al inicio de la prueba. Cámara de alimentación (C. A.) con 20 cm de largo, en este espacio se introdujeron las modificaciones, se cambió el cebo de un conejillo de indias por el antebrazo humano de un voluntario, consentimiento informado firmado previamente por el voluntario, es antebrazo quedaba expuesto y disponible para ser picado por los mosquitos (figura 5). Las hembras podían volar libremente en el túnel, pero debían entrar en contacto con la malla (MILD o Control) y localizar un agujero antes de llegar al cebo. Después de alimentarse con sangre, las hembras generalmente volaban a la sección final de la jaula y descansaban. Cada daño y tiempo neto consisten en introducir 40 hembras de *Aedes aegypti* durante 40 minutos, durante este tiempo se observó el paso de las hembras de una cámara a otra, se tomó nota del tiempo en que cada hembra pasó individualmente. Una vez que terminó el tiempo de observación, se retiraron todas las hembras de cada una de las cámaras, se tomó

registro del estado en los que se encontraban las hembras: alimentadas, no alimentadas, knock down, se colocaron las hembras en recipientes de recuperación, con solución azucarada para posteriormente tomar registro del knock down a la hora de retiradas y la mortalidad a las 24 horas. Se utilizaron dos túneles al mismo tiempo, uno con mallas control y otro túnel con MILDs, se realizaron cinco repeticiones con cada MILDs, por cada tipo de daño y cada edad de la malla.

Tabla 2. Integridad física de las MILDs en condiciones de campo y fijas en puertas y ventanas (120 casas visitadas) en diversos vecindarios de Mérida, México. Se inspeccionaron un total de 480 MILDs.

Tipo de daño	Frecuencia (% , n)	Descripción
Sin daño	36.04% (173)	Mallas en buenas condiciones, sin daños físicos visibles.
Daño central*	25.83% (124)	Un único daño, localizado próximo al centro de la malla o en el centro de la malla.
Daño lateral*	23.95% (115)	Un único daño, localizado en una de las esquinas del marco de aluminio.
Agujeros pequeños	6.25% (30)	Dos o más agujeros, menores a 2 cm de diámetro en la malla.
Agujeros grandes	5.62% (27)	Dos o más agujeros, mayores a 2 cm de diámetro en la malla.
Daño total	2.29% (11)	Marco de aluminio con ausencia total de la malla.

*Daños seleccionados para evaluación

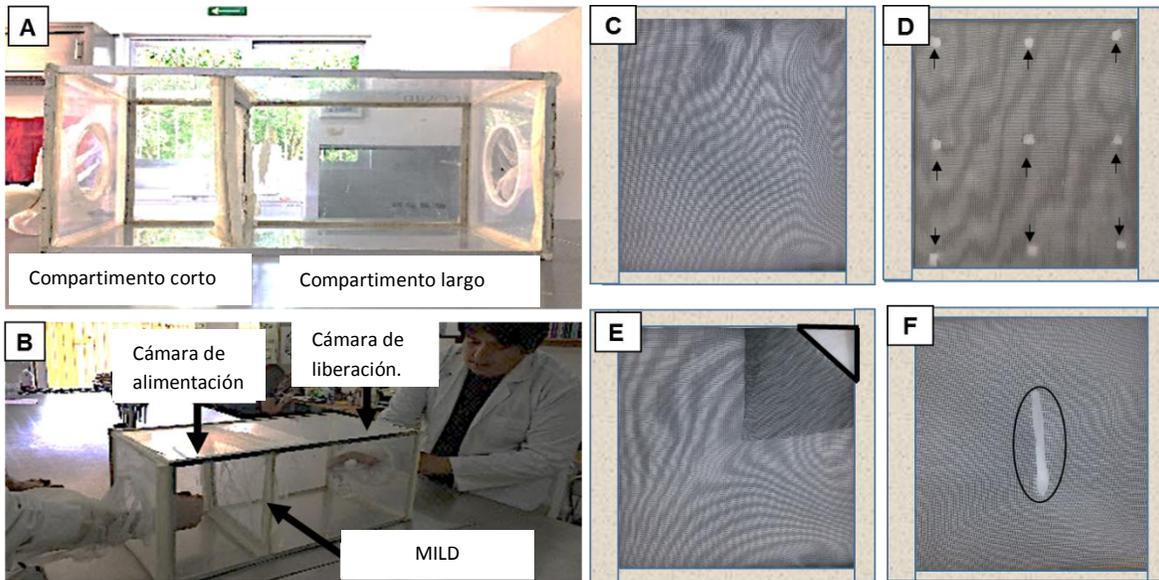


Figura 5.- Uso y funcionamiento del dispositivo de túnel (A-B). Tipos de daños: C) Malla sin daños, D) Daño de nueve agujeros, E) Daño lateral, F) Daño central.

6.5 Indicadores y análisis estadístico.

6.5.1 Muestras de casas

Se realizaron modelos de regresión logística (para datos de presencia-ausencia) y modelos de binomial negativa (para datos de recuento) para cada miembro de la casa en un grupo de muestreo dado para cada muestreo de evaluación entomológica transversal como se describe en Manrique-Saide et al. (2015). Se evaluaron los odds ratios (OR) y los índices de incidencia (IRR) con IC del 95% y se expresó la significación al nivel del 5%. Los análisis se realizaron utilizando STATA 12.0 (Stata Corp, College Station, TX, EE. UU.) Y el paquete mgcv del software estadístico R (Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria)

6.5.2 Dispositivo Skovmand

El principal indicador de bioensayos de contacto fue MMKDT. Para estimar el efecto del tiempo de exposición de las MILDS en el derribo de los mosquitos, se

construyeron modelos de regresión lineal con MMKDT como variable dependiente y el tiempo de las MILDs como variable independiente.

6.5.3 Prueba de túnel

Para las pruebas de túnel se calcularon los siguientes parámetros: inhibición del paso de los mosquitos (proporción de mosquitos que pasan para alimentarse en comparación con las pruebas de control), inhibición de la alimentación de sangre (la reducción de las hembras alimentadas con sangre, vivas o muertas, en relación con las pruebas de control), Knock down a 1 h, y la mortalidad a las 24 h (medida mediante la combinación del efecto de caída y la mortalidad de los mosquitos de las dos secciones del túnel). En el caso de las tasas de mortalidad, si era necesario, se corrigieron utilizando Abbott (Abbott, 1972). Las pruebas se descartaron si la mortalidad del control superaba el 10% o si el éxito de la alimentación con sangre del control era inferior al 50%. Para estimar el efecto de los factores de exposición netos (tiempo de exposición y tipo de daño) en la inhibición del paso de mosquitos (bloqueo), los modelos de regresión de Poisson se construyeron con estos parámetros como dependientes y uno de los factores de exposición como variables independientes. Los análisis se realizaron utilizando STATA 12.0 (Stata Corp, CollegeStation, TX).

6.6 Percepción y aceptación de las MILDs en la población de estudio.

Este estudio sobre aceptación social y eficacia percibida del proyecto “Casa a prueba de *Aedes aegypti*”, se llevó a cabo durante el mes de febrero de 2017 en la colonia Juan Pablo II. Para esto, se diseñó una encuesta cuyo objetivo consistió en evaluar los motivos por los cuales las familias aceptaron participar en la intervención “Casa a prueba de *Aedes aegypti*”, así como conocer la eficacia percibida respecto de este método innovador para la reducción de mosquitos en los hogares, se definieron tópicos, preguntas y formas de abordaje de los participantes para la investigación formal a las familias dentro del área de estudio.

La población total participante que cuenta con mallas mosquiteras del proyecto es de 500, sin embargo, para el estudio de percepción solo se lograron encuestar a 140 familias de la cohorte situada dentro de los clusters tratamiento. La razón de esta selección obedece a la disponibilidad de las familias para responder a las preguntas. Todas las personas entrevistadas fueron mujeres, amas de casa, entre 35 y 50 años de edad. La razón de que no se haya podido entrevistar a varones radica en que éstos se encontraban trabajando al momento de la aplicación de la encuesta.

7. RESULTADOS.

7.1 Impacto de las MILDs en mosquitos de *Aedes aegypti* adultos

El número total de mosquitos recolectados descansando dentro de las casas de Mérida durante el periodo de estudio fue de 609 de los cuales *Aedes aegypti* fue la más abundante (75.3%, 245♂, 214♀), seguido por *Culex* especies (24%, 71♂, 75♀) y *Ochlerotatus* especies (0.7 %, 4♀). La Frecuencia relativa de estas especies fue alta durante la temporada de lluvias en octubre 2016 (68.1%) en comparación con la estación seca de mayo de 2016 (7.2%) y mayo de 2017 (24.6%). La proporción de sexos de la especie más abundante observada fue cercana a 1: 1. (1.1♀: 1.2 ♂).

Los resultados de la colecta de *Aedes aegypti* adultos hechas en mayo 2016 (estación seca) y después de seis meses (temporada de lluvias) y doce meses (estación seca) después de la intervención con MILDs se muestran en Tablas 3.

Durante los muestreos basales, niveles de infestación similares (sin diferencias estadísticas, $P > 0.05$) fueron cuantificados en ambos brazos de estudio. En las colectas posterior de la estación húmeda (6 meses PI), se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la positividad (presencia) para hembras adultas (OR = 0.15, 95% CI 0.081-0.26, $P < 0.001$) y hembras alimentadas con sangre (OR = 0.18, 95% CI 0.097-0.325, $P < 0.001$). Diferencias significativas tanto para hembras adultas (OR = 0.21, IC del 95% 0.12 -0.36, $P < 0.001$) y hembras alimentadas con sangre (OR = 0.24, 95% CI 0.133-0.442, $P < 0.001$) se observaron año después de la instalación de las MILDs en la próxima estación seca (Tabla 3).

Del mismo modo, se observaron reducciones significativas en la abundancia en el interior de *Aedes aegypti* totales y alimentadas con sangre, inmediatamente y durante el año siguiente PI (Tabla 3). En el muestreo Posterior a la estación lluviosa, se observaron diferencias significativas en la abundancia de hembras adultas (IRR=0.12, 95% CI 0.061-0.249, $P < 0.001$) y hembras de sangre (IRR=0.16, 95% CI 0.081-0.298, $P < 0.001$) y también diferencias significativas (IRR = 0.19, 95% CI 0.114-0.309, $P < 0.001$ y IRR =

0.23, 95% CI 0.133-0.4, $P < 0.001$) fueron observadas un año después de la instalación de las MILDs en la próxima estación seca (Tabla 3).

Los indicadores entomológicos para adultos de *Aedes aegypti* para dos muestreos posteriores a la intervención durante un año se muestran en la Tabla 3. Durante el muestreo previo a la intervención se cuantificaron niveles de infestación similares (no estadísticamente significativos) en ambos grupos de estudio.

7.2 Impacto de las MILDs en casas con pools de hembras de *Aedes* positivas para arbovirus.

El número de casas con pools de *Aedes* para el diagnóstico de arbovirus se muestra en la Tabla 4. De las 900 casas muestreadas durante el estudio, el 19% (171/900) fue positivo para mosquitos adultos. Un grupo de adultos (todos los mosquitos adultos recolectados dentro de la casa) de cada una de estas casas fueron analizados para el diagnóstico de virus DEN / CHIK / ZIK. Un total de 146 grupos (85.4%) fueron positivos para arbovirus: 84.8% (145/171) fueron positivos para el virus ZIK y 0.6% (1/171) fueron positivos para los virus ZIK / CHIK. Todos los grupos fueron negativos al virus DEN.

Los modelos de regresión logística que tienen en cuenta la membresía de cada casa en un grupo de muestreo determinado (cálculo de SE robusto por grupos) se calcularon considerando todas las casas muestreadas en cada encuesta (150 casas en cada grupo por encuesta). Las casas negativas para *Aedes* fueron consideradas negativas para el arbovirus. Una casa se consideró positiva cuando el grupo de *Aedes* fue positivo al menos un virus. Durante la encuesta previa a la intervención, no se observaron diferencias significativas en la positividad de las casas al arbovirus entre brazos (OR = 0,59; IC del 95%: 0,06 a 5,56; $P = 0,65$). En la siguiente temporada de lluvias, PI, se observaron diferencias significativas en la positividad para arbovirus (OR = 0.15, IC 95% 0.07–0.31, $P < 0.001$). Un año después de la instalación de ITS (estación seca), estas diferencias siguieron siendo significativas (OR = 0.27, IC 95% 0.16–0.44, $P < 0.001$).

Tabla 3. Comparación entre los tratamientos (MILDs) y mallas sin insecticida (control) media de los grupos y error estándar de la media (SE) para los indicadores entomológicos de *Aedes* en Juan Pablo II Casas (n = 900) en Mérida, México. Odds ratios (OR) y tasa de incidencia (IRR) con 95% intervalos de confianza para los datos de presencia-ausencia (casa positiva para *Ae. aegypti*) y datos de conteo (*Ae. aegypti* por casa) respectivamente para cada muestreo entomológico por tratamiento.

Muestreo	Tratamiento	Media	SE(media)	OR	Valor de P	95% I.C.
Casas positivas para hembras de <i>Aedes</i>.						
Basal	Control	0.03	0.01	0.49	0.53	0.054-4.471
	ITS	0.01	0.01			
6 meses	Control	0.43	0.04	0.15	0.00*	0.081-0.26
	ITS	0.10	0.02			
12 meses	Control	0.17	0.03	0.21	0.00*	0.121-0.36
	ITS	0.04	0.02			
Casas con <i>Aedes</i> alimentadas.						
Basal	Control	0.03	0.01	0.49	0.53	0.054-4.471
	ITS	0.01	0.01			
6 meses	Control	0.37	0.04	0.18	0.00*	0.097-0.325
	ITS	0.09	0.02			
12 meses	Control	0.15	0.03	0.24	0.00*	0.133-0.442
	ITS	0.04	0.02			
Muestreo	Tratamiento	Media	SE(media)	IRR	Valor de P	95% C.I.
<i>Aedes</i> hembras por casa						
Basal	Control	0.07	0.05	0.20	0.18	0.019-2.071
	ITS	0.01	0.01			
6 meses	Control	0.97	0.14	0.12	0.00*	0.061-0.249
	ITS	0.12	0.03			
12 meses	Control	0.21	0.04	0.19	0.00*	0.114-0.309
	ITS	0.04	0.02			
<i>Aedes</i> alimentadas por casa.						
Basal	Control	0.06	0.04	0.22	0.20	0.022-2.247
	ITS	0.01	0.01			
6 meses	Control	0.69	0.10	0.16	0.00*	0.081-0.298
	ITS	0.11	0.03			
12 meses	Control	0.17	0.04	0.23	0.00*	0.133-0.4
	ITS	0.04	0.02			

Tabla 4. Comparación entre pools tratados (MILDs) y no tratados (control) en casas con “pools” de detección de *Aedes* y arbovirus en Juan Pablo II en Mérida, México.

Muestreo	Tratamiento	Casas negativas para <i>Aedes</i>	Casas positivas para <i>Aedes</i>		Casas con pools de <i>Aedes</i> positivos para arbovirus (%)	Modelo de regresión logística		
			Pools negativos para arbovirus	Pools positivos para arbovirus		OR	Valor de P	95% C.I.
Basal	Control	143	2	5	3.3%	0.59	0.65	0.063-5.559
	MILDs	147	0	3	2.0%			
6 meses	Control	62	17	71	47.3%	0.15*	0.000	0.074-0.31
	MILDs	129	3	18	12.0%			
12 meses	Control	110	3	37	24.7%	0.27*	0.000	0.16-0.44
	MILDs	138	0	12	8.0%			
Total		729	25	146	16.2%			

7.3. Dispositivo Skovmand.

Los resultados de los bioensayos de contacto mostraron que el MMTKD para ambas cepas aumentó con la edad de las MILDs, lo que sugiere que la actividad residual del insecticida se redujo significativamente con el tiempo de exposición en condiciones de campo (Tabla 2). En todas las edades de MILDs, la cepa resistente al campo mostró un MMTKD mayor en comparación con la cepa susceptible.

7.4. Bloqueo e inhibición de la alimentación sanguínea

Las MILDs y mallas sin insecticida sin ningún daño fueron altamente efectivas (99-100%) para evitar que los mosquitos pasen a través de la red y en impedir la alimentación sanguínea en ambas cepas, independientemente de la edad de las mallas. El éxito en la alimentación sanguínea en la prueba de control (utilizando redes no tratadas con diferentes daños/edad) registró un promedio de 68.5% ($13.8 \pm SD$, valor mínimo 50.7%, valor máximo 88.3%) en todos los tratamientos y cepas.

El tipo de daño fue el principal factor de exposición que afectó tanto el bloqueo como la inhibición de la alimentación sanguínea, siendo el daño lateral, que registró del bloqueo más bajo (Tabla 5). Cuando se compara con el "daño lateral", el bloqueo aumenta

significativamente 1.5 veces en el daño de 9 huecos (95% CI, 1.3-1.7) y 1.9 veces en el daño central (95% CI, 1.8-2.2); en la cepa susceptible, el bloqueo aumentó 2.1 y 2.9 veces en el daño de 9 huecos (IC 95%, 1.8-2.4) y daño central (IC 95%, 2.6-3.4) en comparación con el daño lateral. Aunque ligeramente, en la mayoría de los casos, la cepa resistente fue menos capaz de pasar a través de la red en comparación con la cepa susceptible (% elevado de bloqueo) en comparación con la cepa susceptible.

También se observó una tendencia similar para el resultado de la inhibición de la alimentación sanguínea (Tabla 5). Los valores de inhibición de la alimentación sanguínea estuvieron relacionados con los valores de bloqueo en la cepa de resistencia; pero en la cepa susceptible, la inhibición de la alimentación de sangre fue más alta en comparación con el bloqueo lo que sugiere que el comportamiento de alimentación podría verse más afectado en la cepa susceptible.

Estos resultados mostraron que, en comparación con las mallas no tratadas, las MILDs siempre registraron el mayor bloqueo e inhibición de la alimentación sanguínea en ambas cepas de mosquitos, lo que sugiere un efecto disuasivo / repelente de las MILDs.

Tabla 5. Medias para las medianas del tiempo knock down (MMKDT) observados cuando dos cepas de *Aedes aegypti* estaban continuamente expuestas a un período de edad de las MILDs en Mérida, México.

Edad de las MILDs	MMKDT (95% C. I.)	Valor de P
NO cepa susceptible		
Nueva, no expuesta	6.95 (5.32-8.58)	Reference
6 meses	7.51 (7.16-7.85)	0.422
12 meses	9.24 (8.69-9.79)	0.001*
JP cepa resistente		
Nueva, no expuesta	8.56 (7.71-9.40)	0.022*
6 meses	9.36 (8.74-9.98)	0.001*
12 meses	15.43 (14.25-16.60)	0.001*

7.5 Knockdown y mortalidad.

En todas las pruebas con mallas control, la caída fue cero, lo que garantiza que no exista un efecto de derribo por manipulación de los mosquitos dentro del dispositivo. Nueve de las 120 pruebas de control (6 para la cepa susceptible y 3 para la cepa resistente) registraron una mortalidad de menos del 10% (entre 7-8%).

Tanto la edad de las MILDs como el tipo de daño afectaron el derribo en ambas cepas (Tabla 6). El derribo registrado para la cepa resistente fue del 52% cuando se expuso a una MILD nueva no expuesta, y cuando las MILDs tenían edades de 6 a 12 meses, la proporción de derribo disminuyó significativamente del 25 al 15% ($P = 0,001$). En la cepa susceptible, inicialmente la caída fue del 81%, disminuyendo al 78% a los 6 meses y al 74% a los 12 meses de edad. Las mallas no dañadas registraron el mayor derribo en ambas cepas, resistente (44%) y susceptible (84%), y disminuyeron significativamente principalmente en el daño central y lateral (de 26 a 23% en cepa resistente y de 72 a 71 en la cepa susceptible).

Como el derribo, la mortalidad se vio afectada por la edad de las mallas y el tipo de daño de manera similar en ambas cepas; la mortalidad decayó con el tiempo y por el grado de daño, principalmente por el daño central y lateral.

Los resultados mostraron que la resistencia afectó la eficacia de la MILDs, registrando una bajo derribo y mortalidad en la cepa resistente en comparación con la susceptible. Interesantemente, la mortalidad fue similar o superior a la caída en la cepa resistente, pero siempre menor que la caída en la cepa susceptible.

Tabla 6. Análisis del factor de exposición de las mallas utilizando modelos de regresión de Poisson construidos con bloqueo y la alimentación sanguínea como variables dependientes, edad de las mallas y tipo de daño usados como variables independientes para las muestras de mallas de la ciudad de Mérida. La categoría "Sin daños" no se consideró en el análisis.

Cepa/ Factor de exposición de la malla	Bloqueo		Inhibición de la alimentación sanguínea	
	Media (95% C.I.)	RR (95% C.I.) ¹	Media (95% C.I.)	RR (95% C.I.) ¹
Cepa resistente				
Edad de la malla				
Nueva, no expuesta	49.1% (29.8-68.4)	1	49.6% (30.0-69.2)	1
6 meses de uso	41.7% (24.9-58.5)	0.85 (0.8-0.9)*	44.7% (28.1-61.4)	0.9 (0.8-1.0) ^{&}
12 meses de uso	54.1% (37.8-70.5)	1.1 (0.9-1.2)	56% (39.4-72.6)	1.1 (1.0-1.2)*
Tipo de daño				
Lateral	32.4% (17.1-47.7)	1	32.9% (17.3-48.4)	1
Nueve huecos	48.7% (34.5-62.9)	1.5 (1.3-1.7)*	51.8% (38.1-65.5)	1.6 (1.4-1.8)*
Central	63.9% (45.2-82.5)	1.9 (1.8-2.2)*	65.7% (47.0-84.3)	1.9 (1.8-2.2)*
Cepa susceptible				
Edad de la malla				
Nueva, no expuesta	54.9% (43.5-66.2)	1	65.2% (54.2-76.2)	1
6 meses de uso	36.1% (20.9-51.4)	0.66 (0.6-0.7)*	44.7% (27.0-62.4)	0.69 (0.6-0.8)*
12 meses de uso	35.7% (16.3-55.1)	0.65 (0.6-0.7)*	48.9% (26.4-71.3)	0.75 (0.7-0.8)*
Tipo de daño				
Lateral	20.9% (9.9-31.8)	1	29.5% (14.8-44.2)	1
Nueve huecos	43.5% (27.7-59.2)	2.1 (1.8-2.4)*	53.2% (34.1-72.2)	1.8 (1.6-2.0)*
Central	62.4% (49.6-75.2)	2.9 (2.6-3.4)*	76.1% (67.2-84.9)	2.6 (2.3-2.9)*

¹ RR=rate ratio, estimado con modelos de regresión de Poisson.

* P<0.001; [&]Significativo P=0.052

Tabla 7. Análisis del factor de exposición de las mallas utilizando modelos de regresión de Poisson contruidos con % de derribo a la hora y % de mortalidad a las 24 h como variables dependientes, y edad de las mallas y tipo de daño como variables independientes para las muestras de mallas de la ciudad de Mérida.

Cepa/ Factor de exposición de la malla	Knock down		Mortalidad	
	Media (95% C.I.)	RR (95% C.I.) ¹	Media (95% C.I.)	RR (95% C.I.) ¹
Cepa resistente				
Edad de las mallas				
Nueva, no expuesta	51.9% (40.4-63.3)	1	57.7% (47.2-68.2)	1
6 meses de uso	24.6% (18.5-30.7)	0.47 (0.4-0.5)*	29.0% (23.8-34.3)	0.50 (0.5-0.6)*
12 meses de uso	15.3% (11.1-19.5)	0.29 (0.3-0.3)*	14.8% (10.5-19.1)	0.26 (0.2-0.3)*
Tipo de daño				
Sin daño	43.6% (28.3-58.9)	1	43.3% (27.3-59.2)	1
Lateral	23.5% (13.9-33.0)	0.54 (0.5-0.6)*	23.1% (14.6-31.6)	0.53 (0.5-0.6)*
Nueve huecos	29.4% (16.6-42.2)	0.67 (0.6-0.8)*	37% (21.3-52.7)	0.85 (0.8-0.9)*
Central	26% (16.0-35.9)	0.59 (0.5-0.7)*	32.1% (23.6-40.5)	0.74 (0.7-0.8)*
Cepa Susceptible				
Edad de las mallas				
Nueva, no expuesta	81.3% (73.9-88.7)	1	74.6% (65.3-83.9)	1
6 meses de uso	78.5% (71.6-85.5)	0.97 (0.9-1.0)	72.3% (64.1-80.5)	0.97 (0.9-1.0)
12 meses de uso	74.3% (62.4-86.4)	0.91 (0.8-0.9)*	59% (46.7-71.3)	0.73 (0.7-0.8)*
Tipo de daño				
Sin daño	84.2% (76.9-91.4)	1	79.9% (71.6-88.2)	1
Lateral	70.8% (64.9-76.8)	0.84 (0.8-0.9)*	55% (46.3-63.7)	0.69 (0.6-0.7)*
Nueve huecos	85.1% (78.4-91.7)	1.0 (0.9-1.1)	74.3% (64.0-84.5)	0.93 (0.9-1.0)
Central	72.1% (55.2-89.1)	0.86 (0.8-0.9)*	65.4% (48.7-82.0)	0.82 (0.7-0.9)*

¹ RR=rate ratio, estimado con modelos de regresión de poisson,

* P<0.001

7.6 Aceptación del proyecto “Casa a prueba de *Aedes aegypti*”

Las razones que proporcionaron las personas encuestadas para haber aceptado a participar fueron variadas, entre las cuales se identificaron tres como principales. Primera, el 38% consideraron como algo muy importante la reducción de mosquitos al interior de sus viviendas; esto fue debido a que las familias manifestaron la abundante cantidad de mosquitos que había en sus hogares, pero también al hecho de que percibieron la misma

colonia como un lugar infestado de estos insectos en espacios públicos, calles y drenajes. Segunda, el 27.41 % manifestó tener una preocupación por los brotes de Dengue, Chikungunya y Zika en su colonia, así como en toda la ciudad de Mérida. Tercera, el 23.57% aceptó participar debido a que otra persona que de su colonia que ya formaba parte de la intervención le comentó los beneficios y la eficacia de la malla con insecticida.

7.6.1 Aceptación del proceso de instalación de mallas

Respecto al proceso de instalación de las mallas mosquiteras, el 91.43 % de los participantes se mostraron satisfechos, mientras que el resto manifestó algún tipo de inconformidad con el proceso. La principal razón de descontento fue el tiempo de espera prolongado al que estuvieron sujetas estas familias para la instalación de las mallas, ya que estas familias fueron las ultimas en recibir la instalación de las mallas en sus domicilios. El equipo técnico les explicó durante sus visitas a la colonia que había un cronograma de trabajo que se había establecido por parte de la coordinación del proyecto.

7.6.2 Presencia de mosquitos en las viviendas

La percepción general respecto a la reducción de mosquitos en las casas fue percibida por los participantes como muy significativa calificando el método de las mallas con insecticida como muy eficaz (100%). El 58% de los hogares manifestaron la ausencia total de mosquitos al interior de sus hogares después de las mallas, mientras que el 40% comentó que aún había mosquitos, aunque en un número mucho menor previo a los mosquiteros del proyecto. Una de las apreciaciones de los participantes fue que siempre habrá mosquitos en todos lados, pero que sería de gran ayuda que se vaya disminuyendo o eliminando a estos insectos en las viviendas. Con esto, las familias consideraron que la mejora de la vivienda es uno de los pasos importantes en materia de prevención para la salud del hogar.

7.6.3 Percepción sobre infecciones por ETV

Un factor importante identificado en el estudio fue que el 91.43% de los tutores de las familias participantes reportaron que no han observado que alguien en su hogar haya presentado síntomas sospechosos a Dengue, Chikungunya o Zika posteriormente a la instalación de las MILDs.

7.6.4 Percepción sobre aumento de calor en viviendas

El incremento de calor en las viviendas debido a las mallas mosquiteras ha sido uno de los factores identificados en diversos estudios como la razón por la cual las personas rechazan el uso de este método de prevención. Sin embargo, en el presente estudio se evidenció que el 77.14% reportó un nulo aumento de calor en sus casas por las mallas del proyecto. El resto manifestó un ligero incremento, pero relacionado a horas específicas como el medio día, momento en el cual se percibe mayor calor en los domicilios. Cabe aclarar, que debido al tipo de estructura predominante en las viviendas de fraccionamientos habitacionales como Juan Pablo II, estas tienden a absorben altas cantidades de calor durante el día, el aumento de la temperatura se puede atribuir también a que dichas viviendas permanecen cerradas la mayor parte del día, esto dificulta que el calor se disipe durante la tarde-noche.

7.6.5 Prevención contra ETV

El 96.43% de los participantes consideraron que las mallas mosquiteras impregnadas con insecticida del proyecto “Casa aprueba de *Aedes aegypti*”, son un método efectivo para la prevención de enfermedades transmitidas por mosquitos como el dengue, chikungunya y Zika. Esto quiere decir que las mallas son consideradas como un factor protector.

7.6.6 Sugerencias y recomendación para escalamiento

El 100% de los participantes de la intervención recomendaron que dicho proyecto se replique en otras áreas de la ciudad de Mérida para que disminuyan las enfermedades transmitidas por mosquitos. Incentivando el escalamiento de las mallas impregnadas con insecticida con comentarios positivos del proyecto.

8. DISCUSIÓN

Las diversas estrategias tradicionales para el control y reducción de la población de mosquitos como el *Aedes aegypti*, como la fumigación con maquina pesada ULV, el control de criaderos, así como la participación social, han tenido un impacto entomológico considerable en este vector, reduciendo las poblaciones de mosquitos en sitios de alta transmisión de enfermedades, así mismo se han mantenido como las estrategias predominantes en los últimos años. Sin embargo, como cualquier estrategia de control, su alcance y cobertura se han visto limitadas por diversos factores, como lo son la resistencia de los vectores a los agentes químicos empleados, la inseguridad presente en algunas zonas de altos riesgo entomológico e incluso la falta de participación de los pobladores en las estrategias de control. Actualmente la innovación técnica en cuanto al tratamiento de materiales con insecticida ha tomado gran impulso como estrategia sustentable y costo-efectiva para el control de *Ae. aegypti*, si bien estas innovaciones no vienen a sustituir a los métodos tradicionales, ha demostrado ser eficaces y generar impactos en la reducción de las poblaciones de mosquitos, esto sirve para reforzar otros mecanismos usados para la reducción del mosquito por parte de las instituciones gubernamentales (Kroeger et al 2006; Vanlerberghe et al 2011; Rizzo et al 2012).

En un estudio previo que se realizó en la ciudad de Mérida en México (Chemendoza et al., 2018), se encontró que una casa protegida con MILDs en puertas y ventanas tenía al menos un 50% menos de probabilidades de tener *Ae. aegypti* hembras y *Ae. aegypti* hembras alimentadas en comparación con una casa no protegida durante un período de estudio de 2 años, esto coincide con los resultados obtenidos en este estudio, las casas protegidas con MILDs presentaban una menor abundancia y presencia de mosquitos hembras y mosquitos hembras alimentadas en comparación con las casas que no contaban con la protección de las MILDs, esto permite que se dé la reducción en el contacto vector-humano. Al reducir el contacto entre las personas y los vectores este estudio también muestra evidencia de la reducción en el número de casas infectadas para arbovirosis, esto muestra evidencia de que las MILDs también juegan un papel en la reducción de mosquitos infectados y por lo tanto una reducción en el número de casos que se pudieran presentar en

el área tratada con estos materiales; las viviendas donde se llevó a cabo la instalación de MILDs tienen al menos un 73% menos de probabilidad de tener mosquitos infectados con arbovirosis en el interior.

Los bioensayos de cono propuestos en los manuales de la OMS para determinar el efecto residual de las mallas en condiciones de campo no mostraron resultados muy satisfactorios en el estudio realizado en Mérida, México (Che-Mendoza et al., 2018): la actividad residual del insecticida en las mallas DuraNet fue alta en las mallas utilizadas cuando eran nuevas, utilizando cepas susceptibles, lo que cumple los criterios de eficacia de la OMS, pero el efecto de derribo (54-65%) y la mortalidad (71-80%) fueron bajos en las diferentes edades de las MILDs (6, 12, 18 y 24 meses). Aún más, hubo evidencia de resistencia a los insecticidas a los piretroides en la población resistente de *Aedes* (Che-Mendoza et al., 2018). Teniendo en cuenta que la eficacia en campo de las MILDs puede subestimarse si se basa únicamente en los bioensayos de cono de la OMS (Itoh, 2005), surge la pregunta de si los efectos de protección de la MILD DuraNet pueden atribuirse a sus propiedades químicas o constituyen simplemente una barrera física. En el presente estudio, la bioeficacia de DuraNet LLIN, distribuida como ITS en la ciudad de Mérida, se evaluó en el laboratorio para evaluar su eficacia real en el comportamiento de búsqueda de *Aedes* por un hospedero.

Las primeras pruebas realizadas se basaron en la exposición continua de mosquitos *Aedes* a las mallas impregnadas con insecticida mediante bioensayos de contacto (OMS, 1998, 2006). El MKDT en las MILDs DuraNet nuevas sin lavar estaba alrededor de 417 s en *Ae. aegypti* cepa susceptible. Este tiempo es comparable al obtenido en bioensayos de contacto con especies de cepas susceptibles a *Anopheles* utilizando diferentes tipos de MILDs que varían entre 230-549 s (Graham et al., 2005; Kayedi et al. 2007, 2008, 2009; Skovmand et al. 2008). Particularmente para DuraNet MILD sin lavar, se ha informado un MKDT de 300 s en *An.* cepa susceptible (Sood et al., 2014). No hay otros estudios sobre MKDT en MILDs utilizando *Ae. aegypti*.

En este estudio se observó una actividad insecticida reducida a lo largo del tiempo, aumentando el MKDT hasta 554 s en DuraNet MILD de 12 meses de edad. También se ha informado de una actividad insecticida reducida en los mosquitos Anopheles utilizando la misma técnica de bioensayo (Kayedi et al., 2007b). Los resultados de este estudio confirmaron que el tiempo de exposición a las condiciones de campo es un factor importante que afecta la biodisponibilidad del ingrediente activo del insecticida en la superficie de la MILD DuraNet; en contraste con lo observado en otros tipos de MILDs, el informe de actividad insecticida es consistente (en términos de derribo y tasas de mortalidad) en *Ae. aegypti* cepa susceptible con el tiempo, pero utilizando bioensayos de cono de la OMS (Rizzo et al., 2012; Vanlerberghe et al., 2010).

A pesar de esto, los bioensayos de contacto podrían ser más informativos que los bioensayos de cono de la OMS, particularmente cuando se prueban mallas impregnadas con insecticidas con propiedades de repelencia (Achee et al. 2009). Los bioensayos de contacto, en contraste con el bioensayo de cono de la OMS estándar (OMS 2005, 2006), obligan a un mosquito a entrar en contacto con mallas tratadas, lo que tiene una relevancia particular considerando que los mosquitos *Aedes* podrían experimentar múltiples contactos sobre la superficie neta durante el comportamiento de búsqueda natural del huésped, dando como resultado una mayor dosis acumulativa de insecticida. Si bien nuestros objetivos fueron medir la actividad residual basada en MKDT, el derribo y la mortalidad a las 24 h podrían estimarse utilizando esta técnica, que también es recomendada por la OMS (OMS, 1998, 2006), ya que ofrece mayores tasas de derribo y mortalidad que las pruebas de conos de la OMS, y mejor precisión del tiempo de exposición (Denham et al. 2015; Oxborough et al. 2009).

El segundo conjunto de pruebas consistió en bioensayos en túneles (OMS, 2013) y se realizaron para proporcionar información adicional sobre la mortalidad, la inhibición de la alimentación sanguínea y el efecto excito repelente de las MILDs DuraNet. En general, los resultados utilizando la cepa susceptible de *Ae. aegypti* mostró una inhibición de la alimentación sanguínea y una mortalidad inferior al 90% en la MILD DuraNet nueva sin lavar, que no cumplió con los criterios de eficacia de la OMS (mortalidad \geq 80% e

inhibición de la alimentación de la sangre $\geq 90\%$) para la prueba de túnel (OMS, 2013). Un tema importante que se debe mencionar es que en este tipo de pruebas, la OMS establece el uso de animales vivos como cebos (generalmente un conejillo de indias o un conejo para *Anopheles*) expuestos durante al menos 15 h (OMS 2011, 2013). Muchos de los estudios publicados sobre la evaluación de la eficacia de las MILDs utilizando cebos de animales en pruebas de túneles se basan típicamente en poblaciones de vectores de malaria (Bayili et al. 2017; Massue et al. 2019). Como se sabe *Ae. aegypti* es una especie de mosquito fuertemente antropófila. Por esa razón, en la prueba de túnel para este estudio se decidió usar el antebrazo de un voluntario como cebo, y se aseguró de que los resultados de las pruebas fueran lo más realistas posible.

De manera similar, Denham y cols (2015) propusieron el uso de los brazos y la respiración de los humanos como atrayente para los mosquitos *Ae. aegypti* y los brazos como una fuente potencial de alimento en una prueba de túnel bidireccional, brindando mallas sin tratar versus mallas tratadas como opciones para los mosquitos en la misma prueba de túnel (la cámara de liberación se ubicó entre las dos cámaras de alimentación). Usando esta técnica encontraron que el éxito en la alimentación sanguínea y la mortalidad de *Ae. aegypti* se ven afectados significativamente por las MILDs (DuraNet® y NetProtect® nuevas y sin lavar) en comparación con las mallas no tratadas utilizando una cepa susceptible y se ven dramáticamente afectadas por la resistencia. Particularmente para la MILD DuraNet, observaron una inhibición de la alimentación sanguínea alrededor del 80% y al 21% (en relación con el control no tratado) en la cepa susceptible y resistente, respectivamente, después de 10 minutos de exposición al cebo. No informaron sobre la caída y la mortalidad en las pruebas de túnel.

En comparación con Denham y cols (2015), los resultados de esta investigación mostraron un bajo nivel de inhibición de la alimentación sanguínea y mortalidad en la cepa susceptible a través de diferentes factores de exposición (32-66% y 55-80% respectivamente). Esta diferencia en comparación con el estudio de Denham (2015) es que se utilizó solo un antebrazo como cebo durante más tiempo de exposición (40 min), lo que probablemente da más posibilidades de que los mosquitos pasen por las mallas.

Algo que es importante señalar en nuestro estudio, fue el hecho de que los daños laterales en la prueba de túnel mostraron el peor desempeño en la inhibición de la alimentación sanguínea y la mortalidad. El daño lateral probablemente fue lo suficientemente grande como para que los mosquitos eviten el contacto con la MILD, en contraste con los otros tipos de daños inducidos probados. Curiosamente, la mayor parte del daño (56%) encontrado en condiciones de campo a los 6 meses fue ≥ 1 hoyos más pequeños que 2 cm, por lo que las MILDs podrían haber estado ejerciendo sus efectos letales y repelentes en los mosquitos que aterrizaron en las mallas en su lucha por atravesar un pequeño agujero.

En general, aunque se obtuvieron resultados contrastantes en comparación con otros estudios, se considera que a pesar de la baja integridad química de DuraNet LLIN, el efecto químico remanente seguiría contribuyendo a matar y repeler mosquitos. Estos resultados también proporcionan información sobre la repelencia, la inhibición de la alimentación sanguínea y la mortalidad en mayor o menor grado, según el nivel de daño de las MILDs. En este sentido, las MILDs siempre son más protectoras contra los mosquitos *Aedes* que las mallas no tratadas. Sin embargo, como se observó, estos efectos positivos se ven dramáticamente afectados por la resistencia. En el túnel, los ensayos biológicos dejaron en claro que las MILDs no pudieron eliminar la cepa local altamente resistente.

El presente estudio describió cómo dos técnicas de bioensayo de la OMS podrían adaptarse para ser utilizadas para evaluar la eficacia de las MILDs (actividad insecticida residual y propiedades repelentes) utilizando mosquitos de *Ae. aegypti*, pero también se señaló la necesidad de contar con un protocolo de bioensayo estandarizado para esta especie.

Respecto a las medidas empleadas por décadas para el combate de los mosquitos, la aceptación social de la sociedad se ha dado de forma paulatina, caso contrario para nuevos métodos que requieren un proceso de sensibilización y socialización educativa hacia la población. Para el caso de la Malaria, Zika y Dengue, el uso de mallas mosquiteras

ha sido una alternativa hasta cierto punto exitosas en cuando a la aceptación de la comunidad y también ha evidenciado un impacto entomológico (Guyatt et al 2004; Hill et al 2014; Gyapong et al 1996; Gamble et al 2007; Adongo et al 2005; Paz-Soldan et al 2016). En este estudio la aceptación inicial de la intervención requirió de un esfuerzo constante y paulatino, esto debido a que los pobladores tenían cierto grado de escepticismo a si la intervención sería real, teniendo que superar obstáculos como el hecho de que otros pobladores pensarán que sería algún tipo de engaño y haciendo que estas dudas llegaran a otros miembros de la comunidad, el uso de casas muestra permitió que la comunidad conociera y aceptara la intervención antes de que esta se pusiera en marcha, también permitió que la comunidad tenga cierto grado de confianza en el futuro de la intervención.

Otro factor importante que debe ser tratado con cuidado en futuras intervenciones es el tiempo de despliegue de la intervención, los pobladores que demostraron algún tipo de inconformidad lo hicieron en base a que fueron los últimos en recibir la instalación, esto debido a que eran los últimos en ser anexados en el listado de personas que recibirían la intervención, la inconformidad fue mayor cuando estos habitantes de la comunidad observaban casas donde la intervención ya había sido realizada, por esto es importante trabajar más de cerca con la comunidad para poder concientizarlos de las limitantes de tiempo para la intervención y evitar futuras inconformidades.

En los Estados de Guerrero y Yucatán, pese a las diferencias geográficas, comparten similitudes climáticas que propician la propagación de enfermedades transmitidas por vector. La población en las áreas de Ciudad Renacimiento y Zapata, Fraccionamiento Manzana 115 y Colonia Juan Pablo II destacan por tener preocupaciones comunes: desconfianza e inseguridad, percepción de riesgo por los brotes de mosquitos, percepción de riesgo por las enfermedades transmitidas por vector, dificultades para la colaboración vecinal y la creciente necesidad de colaboración con la Secretaría de Salud. Estas preocupaciones también pueden ser factores que afecten desfavorablemente a la implementación de la intervención, esto debido a que limita el acceso a los domicilios y el trabajo dentro de ellos, por eso es importante trabajar con la comunidad de manera cercana

para superar estas barreras y poder ganar la confianza de la comunidad para el éxito de estas intervenciones.

9. CONCLUSIONES

La implementación de la estrategia “Vivienda Segura”, mostro resultados positivos para la reducción tanto de la abundancia como de la prevalencia de *Aedes aegypti* dentro de las viviendas, así mismo también ha demostrado la reducción en la circulación de mosquitos infectados dentro de los domicilios, con esto las mallas tratadas con insecticida muestran una vez más ser una herramienta efectiva para el control de enfermedades transmitidas por vector.

El efecto esperado en este tipo de estudios al proteger las casas con MILDs fue trabajar en el mejoramiento de la vivienda con la ayuda de una barrera física y adicionalmente con una barrera química. A la luz de este estudio los resultados en los bioensayos de laboratorio, se llegó a la conclusión de que las propiedades químicas de la MILD DuraNet en condiciones de campo se ven afectadas tanto por la pérdida de poder insecticida como por la resistencia de las poblaciones de *Aedes* a los insecticidas basados en piretroides. Demostrando que DuraNet LLIN actuó como una barrera física que previene la entrada de mosquitos dentro de las casas, más que un efecto protector al matar / repeler a los mosquitos resistentes a los piretroides.

Las MILDs muestran más eficacia para el control de hembras de *Aedes aegypti*, ya que incluso los daños mostraron niveles más altos de mortalidad y derribo en comparación con las redes regulares, aunque estos efectos se reducen con el tiempo y las condiciones de campo ofrecen más protección contra *Ae. aegypti*. Las hembras, en comparación con la red normal, protegen las casas de entrada y alimentación de *Aedes aegypti*.

El escalamiento de una intervención busca innovar formas de reducir la población de mosquitos, esto ha logrado generar un impacto social considerable en la población beneficiaria. Dando como resultado la aceptación y la posterior promoción de la intervención como un método efectivo para la reducción de mosquitos dentro de las viviendas. Desafortunadamente, el que el material tratado con insecticida no esté disponible en el mercado dificulta que los pobladores y otras personas o trabajadores interesados

puedan adquirir estas mallas y usarlas de manera independiente al proyecto. La alternativa que queda por el momento, es reforzar la importancia de que las casas cuenten con mallas mosquiteras tradicionales y tener así una mejora de la vivienda, por lo menos en cuando a medidas domésticas de prevención contra vectores transmisores de enfermedades como el dengue, chikungunya y el Zika.

10. PERSPECTIVAS.

A partir de los estudios y discusiones presentados en esta tesis Doctoral, la perspectiva de trabajos futuros se orienta en la siguiente dirección:

El uso de MILDs ha demostrado tener un fuerte impacto sobre las poblaciones de vectores transmisores de enfermedades como el dengue, Zika y chikungunya, sin embargo estas tecnologías están limitadas, ya que no se encuentran en el mercado para la población en general, por tal motivo se deberán enfocar esfuerzos con las compañías distribuidoras de estos productos, para que puedan permitir el acceso a cualquier miembro de la población a estas tecnologías de manera segura y a bajo costo.

Una de las principales limitantes de este tipo de intervenciones es el alto costo inicial de los materiales (marcos y puertas de aluminio), sin embargo, a largo plazo resultan más costo efectivo que otras intervenciones como el ULV y el IRS. Estudios que puedan evaluar diversos materiales y métodos de instalación, podrían permitir tener evidencia sobre tecnologías más económicas e igual de aceptables por parte de la población, con esto la MILDs podrían tener un mejor acceso en lugares donde los pobladores tengan poco acceso a las mallas. Así mismo es importante hacer estudios tanto independientes como por parte de las compañías distribuidoras para poder mejorar la integridad física de las mallas, esto con el fin de hacerlas más resistentes a las condiciones de campo y puedan mantener un efecto mayor sobre las poblaciones de mosquitos y por tanto en la transmisión de arbovirus en zonas de alto riesgo entomológico.

Los estudios de laboratorio demostraron el efecto de las mallas para impedir el acceso de *Aedes aegypti* a la alimentación, sin embargo, será importante a futuro la evaluación de estos métodos y diversos tipos de mallas en condiciones de semi-campo y campo, esto con el fin de evaluar el efecto de variables ambientales en el bloqueo y la inhibición de la alimentación de *Aedes aegypti* por parte de las MILDS.

11. BIBLIOGRAFÍA

Azael Che-Mendoza, Pablo Manrique-Saide. Guillermo Guillermo-May, Josué Herrera Bojórquez, Anua Medina-Barreiro, Felipe Dzul-Manzanilla. 2015. Impacto del uso de mallas mosquiteras impregnadas con insecticidas de larga sobre *Aedes aegypti* en Acapulco y Mérida, México. *Entomología Mexicana* Vol. 2: 662-667.

Bowman LR, Donegan S, McCall PJ. 2016. Is dengue vector control deficient in effectiveness or evidence? Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 10(3): e0004551.

Bongiorno G, Panchetti F, Zaim M, Maroli M. 2005. Laboratory study to investigate the efficacy of cyfluthrin EW treated nets against phlebotomine sandflies. *Ann Ist Super Sanita* 41 (2): 247-52.

Chadee DD., Martinez R. 2000. Landing periodicity of *Aedes aegypti* with implications for dengue transmission in Trinidad, West Indies. *J. Vector Ecol.* 25: 158-163.

Che-Mendoza A, Medina-Barreiro A, Koyoc-Cardena E, Uc-Puc V, Contreras-Perera Y, Herrera-Bojórquez J, Dzul-Manzanilla F, Correa-Morales F, Ranson H, Lenhart A, McCall PJ, Kroeger A, Vazquez-Prokopec G, Manrique-Saide P. 2016. House screening with insecticide-treated netting provides sustained reductions in domestic populations of *Aedes aegypti* in Merida, Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 12 (3): e0006283. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006283>

Corbel V., Chandre F., Brengues C., Akogbeto M., Lardeux F., Hougard JM., Guillet P. 2004. Dosage-dependent effects of permethrin-treated nets on the behaviour of *Anopheles gambiae* and the selection of pyrethroid resistance. *Malar J.* 3:22.

Curtis CF, Maxwell CA, Finch RJ, Njunwa KJ. 1998. A comparison of use of a pyrethroid either for house spraying or for bednet treatments against malaria vectors. *Trop Med Int Health* 3:619-631.

Elissa N, Curtis CF. 1995. Evaluation of different formulation of deltamethrin in comparison with permethrin for impregnation of netting. *Pest Sci* 44: 363–7.

García-Rejon J., Loroño-Pino MA., Farfán-Ale JA., Flores-Flores L., Rosado-Paredes E., Rivero-Cardenas N., Nájera-Vázquez MR., Gómez-Carro S., Lira-Zumbardo V., González-Martínez P., Lozano-Fuentes S., Elizondo-Quiroga D., Beaty BJ, Eisen L. 2008. Dengue Virus-Infected *Aedes aegypti* in the Home Environment. *Am J Trop Med Hyg.* 79: 940-950.

García-Rejón J., Loroño-Pino MA., Farfán-Ale JA., Flores-Flores L., López-Uribe Nájera-Vázquez MR., Núñez-Ayala G., Beaty BJ., Eisen L. 2011. Mosquito Infestation and Dengue Virus Infection in *Aedes aegypti* Females in Schools in Mérida, México. *Am J Trop Med Hyg.* 84(3):489–496.

Gu W, Novak RJ. 2009. Predicting the impact of insecticide –treated bed nets on malaria transmission: the devil is the detail. *Malaria J*, 8:256.

Graham, K., Kayedi, M. H., Maxwell, C., Kaur, H., Rehman, H., Malima, R., Curtis, C. F., Lines, J. D. & Rowland, W. (2005). Multi-country field trials comparing wash-resistance of PermaNet™ and conventional insecticide-treated nets against anopheline and culicine mosquitoes. *Medical and Veterinary Entomology*, 19, 72–83.

Hougard JM, Duchon S, Darriet F, ZAim M, Rogier C, Guillet P. 2003. Comparative performances, under laboratory conditions, of seven pyrethroid insecticides used for impregnation of mosquito nets. *Bull WHO* 81: 324-33.

Kayedi MH, Lines JD, Haghdoost AA, Najafi S. A randomized and controlled comparison of the wash-resistances and insecticidal efficacies of four types of deltamethrin-treated nets,

over a 6-month period of domestic use with washing every 2 weeks, in a rural area of Iran. *Trop Med Parasitol.* 2007;101(6):519–528.

Kroeger A., Lenhart A., Ochoa M., Villegas E., Levy M., Alexander N., McCall PJ. 2006. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in Mexico and Venezuela: cluster randomized trials. *BMJ* 332 (7552):1247-50.

Lenhart A., Orelus N., Maskill R., Alexander N., Streit T., Mccall PJ. 2008. Insecticide-treated bednets to control dengue vectors: preliminary evidence from a controlled trial in Haiti. *Tropical Medicine and International Health*, 13, 56-67.

Lines JD. 1996. The technical issues. In: *Net Gain: A new method of preventing malaria deaths.* Lengeler C, Cattani J and de Sabigny D (ed.). Ottawa, IDRC. p. 17-52.

McCall PJ., Kittayapong K. 2007. *Control of Dengue Vectors: Tools and Strategies. Report of the Scientific Working Group Meeting on Dengue,* World Health Organization, Geneva. Pp. 110-119.

Morrison AC., Zielinski-Gutierrez E., Scott TW., Rosenberg R. 2008. Defining Challenges and Proposing Solutions for Control of the Virus Vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med* 5(3): e68.

Rafinejad J, Vatandoosta H, Nikpoor F, Abai MR, ShaeghiM, Duchen S, Rafi F. 2008. Effect of washing on the bio-efficacy of insecticide-treated nets (ITNs) and long-lasting insecticidal nets (LLINs) against main malaria vector *Anopheles stephensi* by three bioassay methods. *J Vector Borne Dis*, 45:143–150.

Rizzo N, Gramajo R, Cabrera-Escobar M, Arana B, Kroeger A, Manrique-Saide P, Petzold M. 2012. Dengue vector management using insecticide treated materials and targeted interventions on productive breeding-sites in Guatemala. *BMC Public Health*, 12:931. <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/12/931>

Saavedra-Rodríguez K, Urdaneta-Marquez L, Rajatileka S, Moulton M, Flores AE, Fernández-Salas I, *et al.* A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Mol Bio* 2007; 16: 785-98.

Siller Q, Ponce G, Lozano S, Flores AE. 2011. Update on the frequency of Ile1016 mutation in voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* in Mexico. *J Am Mosq Control Assoc.* 27(4): 357-362.

Skovmand O, Bonnet J, Pigeon O, Corbel V. 2008. Median knock-down time as a new method for evaluating insecticide-treated textiles for mosquito control. *Malar J* 7: 114.

Vanlerberghe V, Villegas E, Oviedo M, Baly A, Lenhart A, McCall PJ, Van der Stuyft P. 2011. Evaluation of the Effectiveness of Insecticide Treated Materials for Household Level Dengue Vector Control. *PLoS Negl Trop Dis.* 5(3): e994.

WHO, World Health Organization. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of long-lasting insecticidal treated nets. Geneva, World Health Organization. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.11.

WHO, World Health Organization. 2011. Guidelines for monitoring the durability of long-lasting insecticidal mosquito nets under operational conditions. WHO/HTM/NTD/WHOPES/2011.5.

WHO. 2005a. Malaria control today: Current WHO recommendations. Geneva.

Zaim M, Aito A, Nakashima M. 2000. Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *MedVetEntomol.* 14:1-5.

12. RESUMEN BIOGRAFICO

Josué Gaspar Herrera Bojórquez

Candidato para el grado de:

Doctor en Ciencias Biológicas con acentuación en Entomología Médica

Tesis:

CASAS A PRUEBA DE *Aedes aegypti* PARA MAXIMIZAR EL CONTROL
Y LA PREVENCIÓN DEL DENGUE Y CHIKUNGUNYA EN YUCATÁN

Campo de estudio: Biología y control del principal vector de transmisión de Dengue, Zika y Chikungunya en México.

Datos personales: Nacido en Mérida, Yucatán, México, el 24 de diciembre de 1984. Hijo de Guadalupe Leonor Bojórquez Rivero y Gonzalo Herrera Cetina.

Educación: Biólogo, Egresado de la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Yucatán, maestría en Manejo de recursos naturales tropicales en la unidad de postgrado de la facultad de ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Yucatán.

Experiencia profesional: Profesor adjunto de la materia de entomología en la Universidad Autónoma de Yucatán, Técnico de campo para estudios entomológicos en la ciudad de Acapulco, Guerrero durante el 2015. Jefe de campo para la implementación de la estrategia “Casas a prueba de Aedes” en la ciudad de Mérida, Yucatán, durante el 2013 y el 2016.