

# CONTROL DE DIARREA Y DENGUE EN ESCUELAS PRIMARIAS RURALES DE COLOMBIA: PROTOCOLO DE ESTUDIO PARA UN ENSAYO ALEATORIO Y CONTROLADO POR CONGLOMERADOS<sup>1</sup>

## DIARRHEA AND DENGUE CONTROL IN RURAL PRIMARY SCHOOLS IN COLOMBIA: STUDY PROTOCOL FOR A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL

<sup>2</sup> Hans J. Overgaard.

<sup>3</sup> Neal Alexander.

<sup>4</sup> Juan Felipe Jaramillo.

<sup>5</sup> Víctor Alberto Olano.

<sup>6</sup> Sandra Vargas.

<sup>7</sup> Diana Sarmiento.

<sup>8</sup> Audrey Lenhart.

<sup>9</sup> Razak Seidu.

<sup>10</sup> Thor Axel Stenström.

<sup>11</sup> María Inés Matiz.

### Resumen

**Antecedentes.** Las enfermedades diarreicas y el dengue son graves problemas de salud pública a nivel global. Cuando el suministro de agua potable es inadecuado, el almacenamiento de agua es crucial. La contaminación fecal del agua almacenada es una fuente común de las enfermedades diarreicas y, al mismo tiempo, el agua almacenada proporciona criaderos para los mosquitos vectores del dengue. Un manejo deficiente del agua

### Abstract

**Background:** Diarrheal diseases and dengue fever are major global health problems. Where provision of clean water is inadequate, water storage is crucial. Fecal contamination of stored water is a common source of diarrheal illness, but stored water also provides breeding sites for dengue vector mosquitoes. Poor household water management and sanitation are therefore potential determinants of both diseases. Little is known of the role of stored

Recibido el 31/03/2014

Aprobado el 19/05/2014

1. El artículo original fue publicado en inglés como: Diarrhea and dengue control in rural primary schools in Colombia – study protocol for a randomized controlled. *Trial*. 2012; 13:182. BioMed Central es el editor original del artículo. La información para la traducción de la publicación en español fue actualizada. © 2012 Overgaard HJ, et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
2. Department of Mathematical Sciences and Technology, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway. Institute de recherché pour le développement (IRD), MIVEGEC, Department of Entomology, Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
3. London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom.
4. Instituto de Salud y Ambiente, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia
5. Instituto de Salud y Ambiente, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia
6. Instituto de Salud y Ambiente, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia
7. Instituto de Salud y Ambiente, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia
8. Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, United Kingdom
9. Department of Mathematical Sciences and Technology, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway.
10. Department of Mathematical Sciences and Technology, Norwegian University of Life Sciences, Ås, Norway.
11. Instituto de Salud y Ambiente, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia [matizmaria@unbosque.edu.co](mailto:matizmaria@unbosque.edu.co)

doméstica y del saneamiento son, por lo tanto, determinantes potenciales de ambas enfermedades. Poco se sabe de la importancia del agua almacenada para el riesgo combinado de la diarrea y el dengue, sin embargo, una intervención compartida podría ser importante para el desarrollo de esfuerzos en gestión y control integrado. Aun menos conocidos son los efectos de un control integrado de estas enfermedades en los entornos escolares. El objetivo de este estudio fue investigar si las intervenciones contra la diarrea y el dengue reducían significativamente las enfermedades diarreicas y los factores de riesgo entomológico de dengue, en las escuelas primarias rurales de dos municipios de Cundinamarca.

**Metodología y diseño.** Se trata de un ensayo por conglomerados, factorial de 2 x 2, controlado y de asignación aleatoria. Las instituciones elegibles fueron las escuelas rurales de los municipios de La Mesa y Anapoima en el departamento de Cundinamarca. Los estudiantes elegibles fueron los niños de las escuelas de los grados 0 a 5. Las escuelas fueron asignadas aleatoriamente a uno de los cuatro grupos del estudio: intervenciones de diarrea, intervenciones de dengue, las dos intervenciones, diarrea y dengue, y control. Las escuelas fueron estratificadas por municipio y asignadas mediante un acto público al inicio del ensayo. La variable de respuesta primaria para la diarrea fue la tasa de incidencia de diarrea en los niños de las escuelas, y para dengue, la densidad de adultos hembra de *Aedes aegypti* por escuela. Aproximadamente, 800 estudiantes de 34 escuelas se inscribieron en el ensayo con ocho escuelas en el grupo de diarrea, nueve en el de dengue, ocho en el de diarrea y dengue, y nueve en el grupo control. El ensayo fue financiado por el Consejo de Investigaciones de Noruega, la Universidad El Bosque y la Fundación Lazos de Calandaima.

**Discusión.** Este es el primer ensayo en que se investiga el efecto de un conjunto de intervenciones integradas para controlar las dos enfermedades, dengue y diarrea. Es también el primer ensayo para estudiar la combinación de intervenciones para el control de dichas enfermedades en entornos escolares.

**Palabras clave:** dengue, diarrea, escuelas primarias, rural, niños, mosquito, agua, prevención

## ANTECEDENTES

Las enfermedades diarreicas y el dengue son graves problemas de salud pública a nivel global. En áreas sin un suministro regular de agua potable, el agua se almacena frecuentemente en contenedores dentro de las casas y alrededor de ellas, proporcionando en abundancia hábitats ideales para que el vector del dengue

water for the combined risk of diarrhea and dengue, yet a joint role would be important for developing integrated control and management efforts. Even less is known of the effect of integrating control of these diseases

in school settings. The objective of this trial was to investigate whether interventions against diarrhea and dengue will significantly reduce diarrheal disease and dengue entomological risk factors in rural primary schools.

**Methods/design:** This is a 2x2 factorial cluster randomized controlled trial. Eligible schools were rural primary schools in La Mesa and Anapoima municipalities, Cundinamarca, Colombia. Eligible pupils were school children in grades 0 to 5. Schools were randomized to one of four study arms: diarrhea interventions (DIA); dengue interventions (DEN); combined diarrhea and dengue interventions (DIADEN); and control (C). Schools were allocated publicly in each municipality (strata) at the start of the trial, obviating the need for allocation concealment. The primary outcome for diarrhea is incidence rate of diarrhea in school children and for dengue it is density of adult

female *Aedes aegypti* per school. Approximately 800 pupils from 34 schools were enrolled in the trial with eight schools in the DIA arm, nine in the DEN, eight in the DIADEN, and nine in the control arms.

The trial was funded by the Research Council of Norway and the Lazos de Calandaima Foundation.

**Discussion:** This is the first trial investigating the effect of a set of integrated interventions to control both dengue and diarrhea. This is also the first trial to study the combination of diarrhea-dengue disease control in school settings.

**Keywords:** Dengue, Diarrhea, Primary schools, Rural, Children, Mosquito, Water, Prevention

se críe. La contaminación fecal del agua almacenada utilizada para consumo es también fuente de enfermedades diarreicas. Los contenedores utilizados para almacenar agua, pueden ser, por lo tanto, un denominador común para ambas enfermedades. El control efectivo para ambas enfermedades, diarrea y dengue,

depende de la provisión del suministro confiable de agua potable, de prácticas adecuadas de manejo del agua y de la participación de la comunidad en las actividades de control [1,2]. Las intervenciones integradas dirigidas a ambas enfermedades es probable que sean tanto efectivas como costo-eficientes.

A nivel mundial, cerca del 88 % de la carga de la enfermedad diarreica se debe al suministro de agua im potable y a la falta de adecuado saneamiento e higiene [1,3]. Se estima que 780 millones de personas carecen de acceso a fuentes de agua segura y 2,500 millones no utilizan los servicios mejorados de saneamiento [4]. A pesar de estos altos números, en las últimas décadas se han logrado mejoras sustanciales evidenciadas en que el 89 % de la población mundial usa actualmente fuentes mejoradas de agua de consumo y el 63 % que tiene acceso a un saneamiento mejorado. De hecho, la meta de los “Objetivos de desarrollo del milenio” de reducir a la mitad la proporción de personas sin acceso sostenible a agua segura, se ha cumplido [4]. Sin embargo, alrededor de 4000 millones de casos de diarrea se siguen produciendo cada año, con la muerte de cerca de 2 millones de personas, principalmente niños de los países en desarrollo [1,5]. Las infecciones suelen surgir por la ingestión de agua contaminada con heces humanas o de animales [6]. El suministro inadecuado de agua para uso doméstico, por ejemplo, por ausencia o servicio irregular de los acueductos, obliga a la gente a recoger agua y almacenarla dentro de las casas o cerca de ellas. La contaminación microbiana entre la fuente y el punto de uso es a menudo una causa significativa de la reducción en la calidad del agua [7].

El dengue es la enfermedad transmitida por vectores de más rápida propagación a nivel mundial. Alrededor de 50 millones de casos, en su mayoría niños, ocurren anualmente en cerca de 100 países [8], y cerca de 2,500 millones de personas viven en zonas de riesgo [9]. El dengue, y su manifestación más seria, el dengue grave, son causados por un flavivirus con cuatro serotipos diferentes. El dengue es transmitido principalmente por el mosquito *Aedes aegypti*, que se cría preferentemente en contenedores artificiales de agua dentro de las viviendas y en sus proximidades.

El riesgo de transmisión del dengue aumenta con el desarrollo urbano acelerado, no planificado y no reglamentado, el almacenamiento deficiente de agua y condiciones sanitarias poco satisfactorias [8,10-13]. Como no existe una vacuna eficaz contra el dengue ni tampoco disponibilidad de medicamentos, el control vectorial es la única manera de prevenir la transmisión de esta enfermedad.

La diarrea y el dengue son altamente endémicos en América Latina y el Caribe. En el año 2000, se estimó que 71,5 millones de personas carecían de acceso a agua de consumo segura en esta región [14]. Para ese mismo año, el 76 % de los municipios colombianos no tenía agua potable, y se estimó que el 60 % de los habitantes de las zonas rurales tenía un riesgo medio a alto de contraer enfermedades debido a la mala calidad del agua [15]. En 2009, 14,4 millones de personas estaban en alto riesgo de sufrir escasez de agua y sólo el 40 % de los hogares tenía conexión de agua y alcantarillado [16]. En el 20 % de los municipios colombianos (222 de 1.102), la cobertura de abastecimiento de agua en las áreas rurales era de menos del 30 % y hasta en el 54 % del total de municipios del país, la cobertura de alcantarillado en las zonas rurales era de menos del 30 % [16]. A nivel regional, las tasas de mortalidad infantil por enfermedad diarreica fueron del 3,7 % entre el 2000 y el 2005, pero en los países de la subregión andina, incluyendo Colombia, la tasa fue del 7,8 % [17]. La diarrea es una causa importante de morbilidad y una de las 10 más importantes en términos de mortalidad en Colombia [18], con una prevalencia estimada del 13 % en niños menores de cinco años [19].

En 2008, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó que Brasil, Venezuela, México y Colombia habían presentado el mayor número de casos de dengue en las Américas. En Colombia, alrededor del 65 % de la población urbana se considera en alto riesgo de contraer dengue. La incidencia de dengue hemorrágico en Colombia constituye el 58,6 % de todo el dengue hemorrágico de la región andina, y el 30% de todo el dengue hemorrágico en las Américas [15]. Los cuatro serotipos del virus del dengue circulan en Colombia y, además de *Ae. aegypti*, un vector secundario del dengue, *Aedes albopictus*, se ha establecido en varias regiones de Colombia [20-22]. En Colombia, como en muchos otros países, el larvicida organofosforado temefós es comúnmente aplicado a contenedores de almacenamiento de agua como un componente clave de los programas de control de vector del dengue. Aunque el temefós es seguro para el consumo humano [23], su uso a menudo se encuentra con fuerte oposición de los habitantes cuando el agua se utiliza para beber, ya que puede hacer que el agua se vea turbia y tenga un sabor desagradable. La falta de una barrera química para la cría de mosquitos pone a los contenedores de agua de consumo en un riesgo potencialmente mayor de convertirse en criaderos del vector del dengue. La resistencia al temefós de *Ae. aegypti* se ha identificado en muchos lugares de Colombia, incluida el área de estudio [24-26].

Los estudios realizados en la región del Caribe indican que la deficiente prestación del suministro de agua de consumo y de los servicios de disposición de residuos había sido en gran medida responsable de la propagación de *Ae. aegypti* [27,28]. En Colombia, a menudo las viviendas mantienen agua almacenada, incluso en áreas con acceso a acueductos. En la Costa Caribe de este país, se encontró que los tanques y los recipientes para el almacenamiento de agua en los hogares, eran responsables de la producción de hasta el 95 % de las pupas de *Ae. aegypti* [29]. Estos mismos contenedores también demostraron ser los principales criaderos del vector del dengue en los estudios hechos en los departamentos de Antioquia y Cundinamarca [30,31]. Mientras que el agua almacenada en estos contenedores con frecuencia se utiliza para lavar y cocinar, también puede ser utilizada para el consumo humano. Aunque son pocas las investigaciones disponibles publicadas sobre la epidemiología de la enfermedad diarreica en Colombia, la falta de acceso a agua de consumo, limpia y segura, es probablemente un factor fundamental que lo convierte en una causa importante de morbilidad, especialmente entre los niños.

Hay poca información sobre las relaciones funcionales entre la diarrea y el dengue. Una búsqueda en la literatura científica reveló pocos estudios en los que se hubiera estudiado de forma simultánea los factores de riesgo de ambas enfermedades y cómo una afecta a la otra. Las búsquedas de texto completo de la base de datos Cochrane, la Web de Science SM y PubMed, utilizando los términos de búsqueda: “dengue”, “dengue fever” y “diarrhea” y sus combinaciones, no arrojó estudios relevantes. Como no se han adelantado estudios de este tipo en escuelas, poco se sabe sobre cómo el agua almacenada influye en el riesgo para diarrea y dengue, y cómo las intervenciones para ambas enfermedades afectan a los niños en los entornos escolares.

Este estudio se centró en las escuelas por dos razones fundamentales. En primer lugar, el pico de actividad del vector del dengue se presenta en horas de la mañana, cuando los niños están en la escuela [31]. Si las escuelas proveen importantes criaderos del vector del dengue, los niños que asisten a la escuela estarán muy expuestos. En segundo lugar, sólo alrededor del 37 % de las escuelas en el área de estudio tienen acceso a agua potable [32], exponiendo potencialmente a los estudiantes a patógenos diarreicos en el agua bebida en la escuela.

Esta descripción del protocolo del estudio sigue la declaración de CONSORT para los ensayos agrupados aleatorios [33].

## OBJETIVOS

En este estudio se investiga si un conjunto de intervenciones integradas reducen significativamente los casos de diarrea y los factores de riesgo entomológico del dengue en las escuelas primarias rurales de dos municipios de Colombia.

La hipótesis es que las intervenciones en las escuelas reducen de forma significativa el número de casos de enfermedades diarreicas, el número de episodios de ausentismo escolar, la infestación por el vector del dengue y la contaminación del agua para consumo, en comparación con las escuelas que no reciben las intervenciones.

Específicamente, con esta hipótesis se espera que las intervenciones deban:

1. Reducir la exposición a factores de riesgo de diarrea en las escuelas por:
  - a. el mejoramiento de la calidad del agua de consumo;
  - b. el mejoramiento de las prácticas de lavado de manos;
  - c. el mejoramiento de la limpieza de los baños, y
  - d. el mejoramiento de la educación en salud en la prevención de la enfermedad diarreica.
2. Reducir la exposición a los factores de riesgo del dengue en las escuelas mediante:
  - a. la reducción de la presencia de mosquitos adultos en las aulas escolares por cortinas tratadas con insecticidas;
  - b. la reducción de las formas inmaduras del mosquito vector del dengue mediante la eliminación de sus criaderos, y
  - c. el mejoramiento de la educación en salud en la prevención del dengue.
3. Reducir la incidencia de las enfermedades diarreicas en los niños de las escuelas.
  - a. Reducir el número de los episodios de ausencia y la duración de estos, debidos a esta enfermedad.

## METODOLOGÍA Y DISEÑO

### Diseño del ensayo

Se trató de un ensayo por conglomerados, controlado, de 2 x 2, factorial y aleatorio para estudiar el efecto



de un conjunto de intervenciones para diarrea y un conjunto de intervenciones para dengue implementadas en las escuelas primarias rurales de los municipios de Anapoima y La Mesa, departamento de Cundinamarca, para reducir las enfermedades diarreicas y la exposición al vector del dengue en los niños de las escuelas seleccionadas.

Cada escuela (conglomerado) se asignó al azar a uno de los cuatro grupos de estudio: diarrea, dengue, diarrea y dengue, y control. La asignación al azar de grupos de estudio se estratificó por municipio (dos municipios, es decir, dos niveles). Las escuelas control llevaron a cabo sus actividades normales sin ningún tipo de intervención mediante este o cualquier otro proyecto.

El diseño por conglomerados se consideró la única opción viable por dos razones principales: en primer lugar, no hubiera sido posible evaluar el efecto de las dos intervenciones individuales si ambas se hubieran implementado en las mismas escuelas.

En segundo lugar, fue posible evaluar las intervenciones, como si hubieran sido implementadas en una iniciativa de salud pública. Por otro lado, un diseño factorial permitió la comparación de conjuntos de intervenciones separadas y combinadas con los controles.

## Localización y selección de participantes

El ensayo se llevó a cabo en las escuelas primarias rurales de dos municipios, La Mesa y Anapoima, en el departamento de Cundinamarca, Colombia (figura 1). El municipio de Anapoima tiene una población de 10.259 habitantes y La Mesa, 29.891 habitantes, de los cuales, el 63 % y el 57 %, respectivamente, viven en el área rural. Estos municipios fueron seleccionados con base en la presencia de enfermedades diarreicas y dengue en esta provincia. Además, la Universidad El Bosque tiene como política adelantar investigaciones en la cuenca del río Apulo, donde se encuentran los dos municipios.

El Instituto de Salud y Ambiente de esta universidad ha llevado a cabo estudios previos en el área relacionados con las condiciones ambientales en las escuelas rurales, filtros de agua, residuos sólidos y dengue [34-36]. La razón para centrarse en las áreas rurales se debe a la falta general de saneamiento mejorado y acceso a fuentes mejoradas de agua de consumo en estas zonas [4], así como también a los reportes de aumento del riesgo de transmisión del dengue en las zonas rurales [12,37]. El énfasis de este estudio en las escuelas se debió al hecho de que los escolares son un punto de partida natural para las actividades de educación en salud dirigidas a mejorar la salud pública de la comunidad [38].



Figura 1. Sitios de estudio. Ubicación de los municipios de La Mesa y Anapoima en la provincia de Tequendama, departamento de Cundinamarca, Colombia

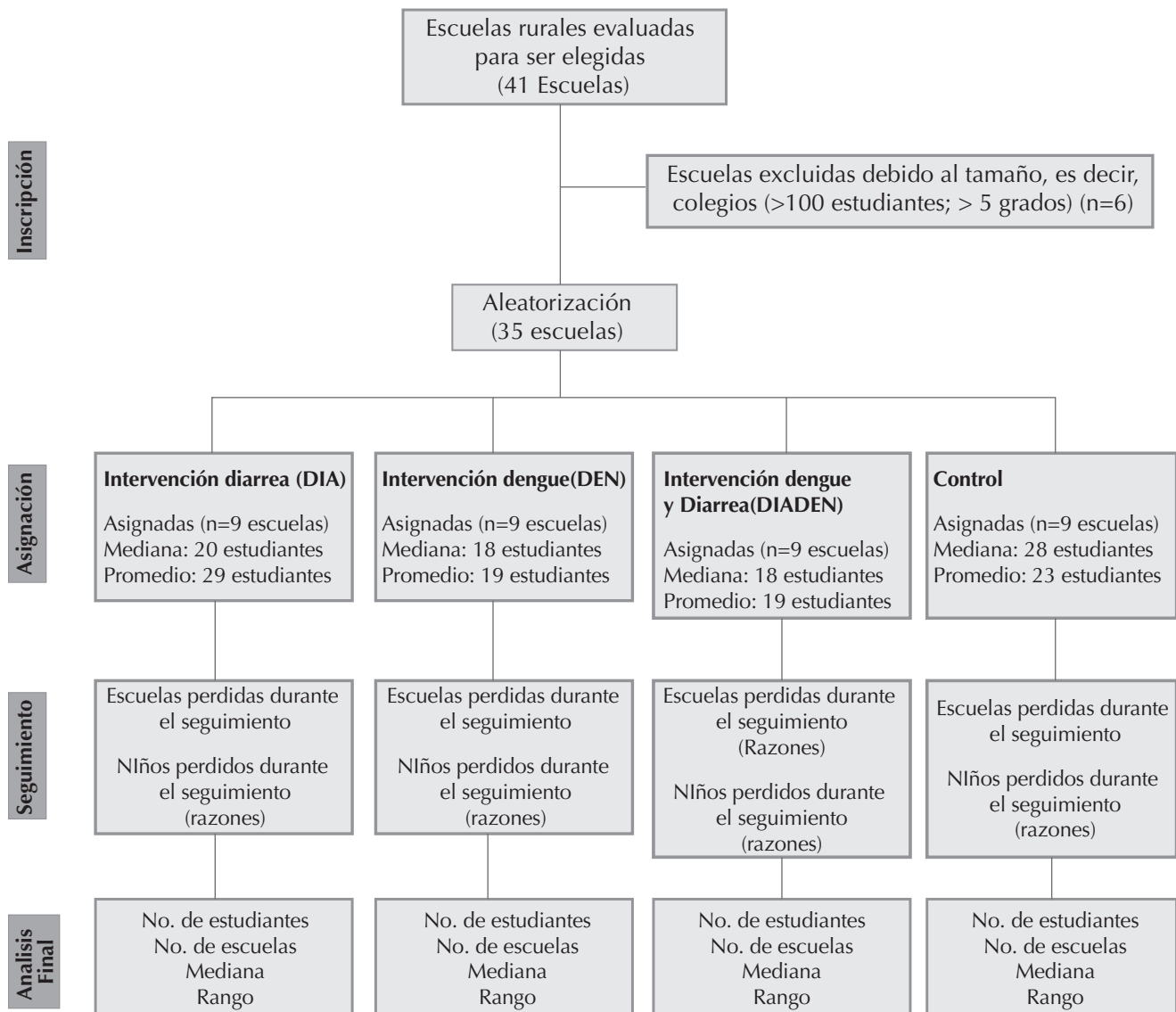


Figura 2. Diagrama de flujo de las escuelas y la selección de los estudiantes.

Una lista de todas las escuelas en los dos municipios fue proporcionada por la administración de cada municipio. Las escuelas rurales con estudiantes en los grados 0 a 5 (edades de 5 a 16 años) fueron seleccionadas de esta lista. Los rectores de los colegios y los docentes de grados con estudiantes en estas edades fueron contactados por el personal del proyecto, informados sobre el estudio e invitados a participar. Un diagrama de flujo de la escuela y la selección de los estudiantes se muestra en la figura 2.

Selección de las escuelas primarias rurales de los municipios La Mesa y Anapoima en el departamento

de Cundinamarca, Colombia. De las 35 escuelas con asignación aleatoria, una no recibió intervenciones porque fue cerrada por desprendimientos de tierra; por lo tanto, nueve escuelas fueron asignadas al grupo de diarrea, pero sólo ocho recibieron esta intervención.

### Criterios de inclusión de escuelas

Se incluyeron en el ensayo todas las escuelas primarias rurales con grados 0 a 5 dentro de los límites de los dos municipios, con el consentimiento por escrito para participar de los docentes de las escuelas. Las escuelas incluidas no participaron en ningún otro programa de control de diarrea o dengue.

### Criterios de exclusión de escuelas

Se excluyeron las escuelas cuya participación se consideraba que no era factible, por ejemplo, las grandes escuelas rurales (colegios con más de 100 estudiantes y más de cinco grados), y aquellas que eran inaccesibles o estaban cerradas. Las escuelas que no deseaban participar en el ensayo también fueron excluidas.

### Criterios de inclusión de los estudiantes

Todos los estudiantes de las escuelas rurales participantes fueron requeridos para el seguimiento. Se exigió el asentimiento del alumno y el consentimiento escrito de un padre o acudiente para que los niños

participaran en el ensayo. Los niños nuevos también tuvieron derecho a participar, manteniéndose una cohorte abierta.

### Criterios de exclusión de los estudiantes

Los estudiantes sin asentimiento o consentimiento de los padres no participaron en el ensayo. Los estudiantes abandonaban el estudio si se cambiaban a una escuela fuera del área de estudio.

### Intervenciones

Cada set de intervenciones, diarrea y dengue, comprendió varios determinantes o componentes de cada enfermedad, como se muestra en la tabla 1.

Componente	Intervención	Frecuencia de intervención	Indicadores objetivamente verificables	Fuentes de verificación	Resultados esperados
<b>(a) Intervenciones para diarrea</b>					
Calidad del agua de consumo	Filtros para agua de consumo	Continua	Los valores de parámetros de la calidad del agua <sup>a</sup>	Toma de muestras en campo	Suministro de agua limpia
	Tapado de recipientes de agua de consumo	Continua	Índice de observación: tapa cierra correctamente (sí / no)	Observación en campo	Suministro de agua limpia Garantizar no contaminación adicional del agua
	Limpieza de tanques para el almacenamiento de agua	Al menos, una vez por semestre	Índice de observación: apariencia limpia (sí / no)	Observación en campo y autoridad municipal responsable	Suministro de agua limpia Garantizar no contaminación adicional del agua
Higiene	Promoción del lavado de manos con jabón	Diario	1. Presencia de jabón (sí / no) 2. La disponibilidad de agua para lavarse las manos (sí / no) 3. La frecuencia de lavado de manos con jabón por los estudiantes	Observación en campo, encuesta para el indicador 1 y 2, cuestionario para el indicador 3	Prácticas de lavado de manos realizadas y mantenidas (como se enseña en las guías educativas)
	Promoción del uso apropiado y limpieza de baños	Diario	Puntuación de limpieza de baños	Observación en campo	Eliminar las rutas potenciales de contaminación con heces durante el uso del baño
Educación y capacitación	Campaña educativa sobre la enfermedad diarreica, lavado de manos, higiene, relación de agua y salud	Módulos mensuales	Puntaje de CAP	Formularios CAP	Niños adquieren apropiados conocimientos y prácticas en higiene y saneamiento

Componente	Intervención	Frecuencia de intervención	Indicadores objetivamente verificables	Fuentes de verificación	Resultados esperados
<b>(b) Intervenciones para dengue</b>					
Mosquitos adultos	Cortinas tratadas con insecticida	Continua	Densidad del mosquito <i>Aedes aegypti</i> adulto	Recolección en campo	Reducir la densidad de mosquitos adultos
Formas inmaduras del mosquito	Cubrir los recipientes con tapas o mallas	Continua	Densidad de larvas y pupas de <i>Aedes aegypti</i>	Recolección en campo	Reducir densidad de formas inmaduras del mosquito
	Tratamiento con piriproxifeno en contenedores que no se pueden cerrar con tapas o mallas	Continua con seguimiento semanal	Densidad de larvas y pupas de <i>Aedes aegypti</i>	Recolección en campo	Reducir densidad de formas inmaduras del mosquito
Manejo de residuos sólidos	Control de larvas mediante el manejo de residuos sólidos	Continua	Número de criaderos positivos para formas inmaduras de <i>Aedes aegypti</i> en residuos sólidos	Recolección en campo	Eliminación de criaderos
Educación y capacitación	Campaña educativa sobre la enfermedad del dengue, la biología del vector, ecología y control; función de los residuos sólidos y relación de agua y salud.	Módulos mensuales	Puntaje de CAP <sup>b</sup>	Formularios CAP	Niños adquieren conocimientos y prácticas sobre dengue y control del mosquito

Tabla 1. Intervenciones implementadas para diarrea y dengue en las escuelas primarias rurales de los municipios de La Mesa y Anapoima, Cundinamarca, Colombia

a. in situ: temperatura, pH, conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales; laboratorio: coliformes totales, coliformes totales y *E. coli*  
 b. CAP: conocimientos, actitudes y prácticas

## Diarrea

Para mejorar la calidad del agua de consumo usada en las escuelas, se instalaron filtros de agua. Los filtros de cerámica, con un diseño de origen precolombino, han sido mejorados y promovidos por la organización no gubernamental “Ceramistas por la Paz” (39). En Colombia, la producción y distribución de estos filtros está apoyada por la organización no gubernamental OXFAM. Todos los contenedores de agua para consumo fueron provistos de una tapa ajustable o una malla. Estos contenedores fueron lavados anualmente por personal de las alcaldías, según acuerdos realizados por el proyecto.

Las intervenciones de prácticas de higiene fueron la promoción del lavado de manos con jabón y su uso apropiado, y la limpieza de los baños. El jabón fue suministrado por el proyecto y se enseñó a los estudiantes cómo lavar sus manos. El lavado de manos se hizo antes de comer y después de ir al baño. La limpieza de los baños se llevó a cabo diariamente en cada escuela.

La campaña educativa del grupo de diarrea consistió en la aplicación de guías de educación y capacitación, diseñadas para el proyecto sobre la enfermedad diarreica, lavado de manos, higiene, y la relación salud-agua ajustado al currículo de primaria.

## Dengue

Para reducir los factores de riesgo entomológico del dengue, se instalaron cortinas en las ventanas de los salones de clase y las salas de cómputo, con el fin de reducir la presencia de mosquitos adultos de *Ae. aegypti*. Las cortinas se confeccionaron con el material LifeNet® producido por Bayer CropScience. Este material es tratado con un insecticida de larga duración, deltametrina, incorporado en las fibras de polipropileno. LifeNet® cuenta con la aprobación provisional del Plan de Evaluación de Pesticidas de la Organización Mundial de la Salud (WHOPES) para el control de la transmisión vectorial de la enfermedad [40].



Las pruebas de sensibilidad al insecticida se llevaron a cabo en mosquitos de la zona de estudio, las cuales revelaron que los mosquitos eran 100 % sensibles a la deltametrina. En contacto con la piel, el principal efecto secundario de los piretroides como la deltametrina, son el hormigueo y otras sensaciones conocidas como parestesias [41]. En una evaluación de riesgos de los mosquiteros tratados con deltametrina para malaria, se llegó a la conclusión de que la “relación riesgo-beneficio es muy favorable” [42]. En el estudio no se utilizó ningún insecticida líquido.

Todos los contenedores de agua fueron provistos con tapas ajustables o mallas que impedían completamente la entrada de mosquitos. Aquellos contenedores que no podían ser provistos de tapas o mallas, se trataron con piriproxifeno (Sumilarv®, Sumimoto Chemical Company), un regulador del crecimiento de insectos que evita la emergencia de mosquitos adultos, que también está aprobado por WHOPES [43].

El piriproxifeno se administró de acuerdo con los lineamientos del fabricante. El manejo de los criaderos de larvas también se llevó a cabo mediante campañas de limpieza y recolección de residuos sólidos, organizadas por los docentes y el personal del proyecto, y realizadas por los estudiantes. Los residuos se separaron en biodegradables y no biodegradables. Los residuos biodegradables se manejaron en la escuela y los no

biodegradables se almacenaron de forma segura hasta que el personal del proyecto o de la escuela los retiraba.

La campaña educativa del grupo de dengue consistió en la aplicación de guías de educación y capacitación diseñadas para el proyecto sobre la enfermedad del dengue, la biología del vector-ecología-control, el papel de los residuos sólidos como criaderos de mosquitos, y la relación del agua con la salud, ajustados al plan de estudios.

Las intervenciones se implementaron al inicio del año escolar (febrero a abril de 2012); los seguimientos y la recolección de información entomológica y de calidad del agua se hicieron semestralmente durante dos años (2012-2013). La supervisión y el mantenimiento de las intervenciones, así como el cumplimiento de las actividades, se llevaron a cabo mensualmente por los docentes y el equipo del proyecto.

### Variables de respuesta

La variable de respuesta primaria para diarrea fue la tasa de incidencia de diarrea en niños en edad escolar detectados por los registros de ausentismo escolar y con confirmación de los padres. La variable de respuesta primaria para el riesgo entomológico en dengue fue la densidad de adultos hembra de *Ae. aegypti* por escuela (tabla 2).

Resultado	Método de recolección	Frecuencia de la recolección	Fuente
<b>Variables de respuesta primarias</b>			
Tasa de incidencia de diarrea en estudiantes	Registros de ausencia escolar y la confirmación de los padres (entrevista telefónica)	Registro diario, recolectado semanalmente	Docentes, niños, padres
Densidad de adultos hembra de <i>Aedes aegypti</i> en cada escuela (esto es, número de mosquitos recolectados por unidad de tiempo)	Aspirador eléctrico Prokopack por 10 a 15 minutos por salón	A los 4, 9, 15 y 21 meses después de la intervención	Recolección en escuelas
<b>Variables de respuesta secundarias</b>			
Índice de Breteau (número de contenedores con formas inmaduras de <i>Ae. aegypti</i> por 100 escuelas)	Cucharones y redes	A los 4, 9, 15 y 21 meses después de la intervención	Contenedores en escuelas
Número de episodios de ausencia de estudiantes y días de ausencia por diarrea	Registros de ausencia escolar y confirmación de los padres (entrevista telefónica)	Registro diario, recolectado semanalmente	Docentes y padres de los niños

Resultado	Método de recolección	Frecuencia de la recolección	Fuente
Variables de respuesta primarias			
Número de episodios de ausencia de estudiantes y días por dengue probable	Registros de ausencia, confirmación por los padres (entrevista telefónica) y confirmación clínica  Definición de casos probables con base en los criterios de la OMS [13]	Registro diario, recolectado semanalmente	Docentes, padres y centros de salud
Número de episodios de ausencia de estudiantes y días debido a todas las causas de enfermedad	Registros de ausentismo escolar y la confirmación de los padres (entrevista telefónica)	Registro diario, recolectado semanalmente	Docentes, padres de los niños
Valores de los parámetros de calidad del agua <sup>a</sup> de consumo	Muestras de agua	A los 4, 9,15 y 21 meses después de la intervención	Contenedores de agua para consumo en escuelas
Valores del cálculo de puntajes de las CAP <sup>b</sup>	Formularios	A los 4, 9,15 y 21 meses después de la intervención	Estudiantes

Tabla 2. Variables de respuesta primaria y secundaria de la evaluación de las intervenciones en diarrea y el dengue en las escuelas rurales de los municipios de La Mesa y Anapoima, Cundinamarca, Colombia

a in situ: temperatura, pH, conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales; laboratorio: coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*

b CAP: conocimientos, actitudes y prácticas

Las variables de respuesta secundaria fueron: el índice de Breteau (número de recipientes con formas inmaduras de *Ae. aegypti* por 100 escuelas) (también se utilizaron otras medidas de infestación de formas inmaduras del vector del dengue), el número de episodios de ausencia del alumno y los días de ausentismo debido a diarrea, el número de episodios de ausencia del alumno y los días de ausentismo debido a dengue probable, el número de episodios de ausencia del alumno y el total de días de ausencia por cualquier otra enfermedad, una selección de parámetros de calidad del agua potable, y los valores de los puntajes de los formatos CAP (tabla 2).

### Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se calculó utilizando un número máximo de participantes de 873 estudiantes de 35 escuelas con un promedio de 25 estudiantes por conglomerado (escuela) (rango, 5 a 96 estudiantes), y un promedio armónico de 17, aproximadamente. Este último se utilizó en los cálculos del tamaño de la muestra para permitir la variación en el tamaño de las escuelas.

Para la intervención en diarrea, el tamaño de la muestra se determinó según el número de escuelas y el número de niños por escuela. Para la intervención en dengue,

el tamaño de la muestra se determinó según el número de escuelas, ya que la variable de respuesta primaria se mide sólo en las escuelas. En otras palabras, la asignación aleatoria de los conglomerados se aplicó para el resultado final en diarrea, pero, en la práctica, no para el resultado final del dengue, ya que sólo hubo una escuela por conglomerado.

### Intervención en diarrea

El tamaño de la muestra para la variable de respuesta primaria de la incidencia de diarrea se calculó usando los métodos de ensayos de asignación aleatoria de conglomerados [44]. Los datos existentes en el área de estudio se utilizaron para estimar la línea base de incidencia de diarrea (0,28 por persona-año) y dentro de los conglomerados de la escuela (coeficiente de variación  $\kappa$  de 0,8). Para 17 niños por escuela con un seguimiento de dos años, 35 escuelas lograron 90 % de poder para una reducción del 75 % en la incidencia y 5 % del nivel de significancia de dos colas.

### Intervención en dengue

Los valores de la línea base para la variable de respuesta primaria en dengue (densidad de hembras de *Ae. aegypti* en escuelas) se basaron en valores

reportados de colegios mexicanos [45], ya que no se encontraron datos comparables en Colombia. Para permitir la dispersión relativa de Poisson, se adaptó una distribución binomial negativa para estos datos, con un promedio de 24 mosquitos por escuela y un parámetro de dispersión ( $\theta$ ) de 0,75. Posteriormente, el poder fue estimado usando el método de Brooker, et al. [46], el cual asume un número de niños igual por grupo. Tomando los parámetros antes mencionados y 17 escuelas por grupo, una reducción en números del 70 % es detectable con el 84 % de poder y, una reducción del 75 %, con el 92 % de poder. El poder es ligeramente mayor de 18 a 17 escuelas, que son los números aleatorios por grupo para cada una de las dos comparaciones principales (figura 2).

### Generación de la secuencia y enmascaramiento de la asignación

Los municipios de Anapoima y La Mesa difieren en aspectos que pueden asociarse con los resultados del ensayo. Por ejemplo, las escuelas de La Mesa están localizadas en altitudes mayores (712 a 1.610 msnm) que las de Anapoima (588 a 1.089 msnm); además, solo Anapoima cuenta con una Secretaría de Educación, lo que puede potencialmente mejorar el seguimiento. Por lo tanto, se decidió estratificar basándose en municipios [47].

La asignación de las escuelas en los diferentes grupos del ensayo se hizo al azar, en un acto público abierto en cada municipio antes del inicio del año escolar.

Después de informar plenamente a los rectores y docentes sobre el propósito del evento, se organizó un sorteo en el cual un representante de cada escuela sacó un número que indicaba en qué grupo del ensayo quedaba asignada la escuela. Para minimizar el sesgo en el momento del análisis de los datos, a cada escuela se le asignó un código único que la ocultaba del estadístico para el análisis de los datos.

De esta manera, todas las escuelas fueron asignadas públicamente al inicio del ensayo, evitando la necesidad de enmascarar la asignación. Las escuelas control recibieron las intervenciones al final del proyecto, si efectivamente estas intervenciones afectaban los resultados.

### Métodos estadísticos

En la variable de respuesta de la diarrea se tuvo en cuenta el conglomerado al analizar las tasas a nivel de escuela. En el método del tamaño de la muestra antes expuesto [44] se asumió que el análisis se llevaría a cabo por una prueba t, comparando las tasas entre dos grupos. Esto es equivalente a un análisis de

covarianza (ANCOVA) con una variable dicotómica. Para el ensayo actual, se requirió tener en cuenta las siguientes variables explicativas adicionales: (a) dos intervenciones en lugar de una, y (b) la estratificación por municipio. La variable de respuesta (incidencia de diarrea a nivel escolar) se puede transformar logarítmicamente si los residuales son normales (gaussiana). Un análisis secundario incluyó una nueva variable dicotómica binaria que representaba la interacción entre las dos intervenciones.

La variable de respuesta para dengue, densidad de *Ae.aegypti*, se sumó con los puntos de los seguimientos para dar una sola tasa por escuela. Esto se analizó con una regresión binomial negativa usando el número de adultos, y el logaritmo del esfuerzo de muestreo (es decir, persona-tiempo dedicado a la aspiración) como offset. Por lo tanto, este análisis dio lugar a las relaciones de densidad de mosquitos. En cuanto a la incidencia de diarrea, las variables explicativas para el análisis primario fueron el grupo del ensayo y el estrato.

Ninguno de los análisis primarios anteriores incluyó un término de interacción aunque estos fueron estimados en los análisis secundarios.

### Métodos de recolección de datos

Para alcanzar los objetivos de esta investigación se utilizaron tanto métodos cualitativos como cuantitativos. Los datos se recolectaron a los 4, 9, 15 y 21 meses después de la intervención, a menos que se mencione lo contrario. El proyecto incluyó los siguientes métodos:

1. **Salud:** las ausencias de estudiantes en la escuela por razones de salud, fueron registradas y confirmadas por llamadas telefónicas a los padres y, si era necesario, un técnico en salud hacía visitas domiciliarias supervisadas por el médico del proyecto. Los casos probables de dengue se definieron según los criterios de la OMS [13]. Los datos de ausencias escolares se registraron diariamente por los docentes y fueron recopilados semanalmente por el personal del proyecto.
2. **Entomología:** la infestación y la abundancia del vector del dengue, fueron evaluados por recolecciones de adultos y formas inmaduras. La recolección de los mosquitos adultos se llevó a cabo dentro de las escuelas con un aspirador Prokopack® que funciona con pilas [48], durante diez minutos en cada salón. La recolección de las formas inmaduras se llevó a cabo

en los contenedores de agua en las escuelas. La recolección de formas inmaduras permitió calcular varios índices, de los cuales el índice de Breteau (número de recipientes positivos por 100 escuelas) es el más importante. La metodología de encuesta de productividad de pupas de *Aedes* permitió la identificación de los tipos de contenedores más importantes epidemiológicamente [49]. Los recipientes que contenían agua en las escuelas y su entorno peridoméstico fueron identificados, contados, medidos y clasificados según la forma, uso y material, utilizando la metodología de clasificación estandarizada de contenedores (Shape, Use And Materials, SUM) [50]. Los mosquitos se identificaron en el laboratorio del proyecto utilizando las claves comunes de identificación [51,52].

3. **Calidad del agua:** contaminación fecal y parámetros físico-químicos del agua almacenada en las escuelas. La presencia de *Escherichia coli* se utilizó como indicador para el riesgo de infecciones diarreicas, de acuerdo con las guías de la OMS [6]. En cada escuela seleccionada, se tomaron las muestras de todos los contenedores de agua potable y grifos para ambas pruebas: in situ (temperatura, pH, conductividad eléctrica, y sólidos totales disueltos) y mediante análisis de laboratorio (coliformes fecales y *E. coli*), siguiendo los métodos estándar [53].
4. Los frascos con muestra de agua se etiquetaron, cada uno, con los códigos de la escuela y del contenedor, y se transportaron refrigerados a un laboratorio certificado (Laboratorio Daphnia, Bogotá, Colombia) para su análisis.
5. **Conocimientos, actitudes y prácticas:** se aplicaron a los estudiantes y docentes cuestionarios diseñados especialmente para el proyecto sobre conocimientos, actitudes y prácticas de las dos enfermedades.
6. **Localización:** la ubicación geográfica de cada escuela se registró con un sistema de posicionamiento global (Global Positioning System, GPS) de mano y se representó en un Sistema de Información Geográfico (SIG) utilizando mapas digitales de base; estos estuvieron disponibles para los análisis espaciales y para las diferentes presentaciones del proyecto.
7. **Clima:** los datos generales de clima (precipitación, temperatura y humedad) se tomaron de las estaciones hidro-meteorológicas de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca

(CAR) para la provincia del Tequendama, de las cuales, dos se encuentran en el municipio de La Mesa. A nivel local, los datos climáticos se obtuvieron en tres escuelas seleccionadas en cada municipio, con base en las diferencias de altitud y precipitación. Dos veces al día (07:00 y 12:00) durante los días escolares, se midieron la temperatura máxima y mínima interior, la humedad interior y la precipitación. Estos datos fueron recopilados por los estudiantes con la supervisión de los docentes.

## Políticas de publicación

Los investigadores principales garantizan que los resultados de este estudio se publicarán sin importar los resultados. El reporte de los resultados del ensayo seguirá las directrices del documento del CONSORT [33].

## Evaluación ética

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con la declaración de Helsinki y las guías internacionales para revisión ética de estudios epidemiológicos. Este estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigaciones de la Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia, el 30 de agosto de 2011 (Acta N° 146). El protocolo de estudio fue revisado por los Comités Regionales de Ética Médica y de Investigación de la Salud (REC) en Noruega.

## DISCUSIÓN

A nuestro entender, este es el primer estudio en que se investiga el efecto de un conjunto de intervenciones para el control tanto de las enfermedades diarreicas como del dengue. Es también el primer ensayo para estudiar el control combinado de las enfermedades diarreica y el dengue en el entorno escolar. Las enfermedades diarreicas originadas en el agua de consumo contaminada debido a la mala recolección e inadecuadas prácticas de almacenamiento, pueden estar asociadas epidemiológicamente con el dengue, cuyos mosquitos vectores se crían en recipientes de agua almacenada. Por lo tanto, los recipientes utilizados para almacenar agua pueden ser el vínculo entre las dos enfermedades. Mediante la integración de las intervenciones puede ser posible obtener resultados de control de las dos enfermedades de manera eficaz y costo-eficiente. Un diseño factorial, de 2 x 2, es una elección lógica para evaluar dos tipos de intervenciones relacionadas.

El área de estudio fue bastante adecuada para este estudio ya que ambas enfermedades son frecuentes en



los dos municipios seleccionados. También estamos familiarizados con el área de estudio a partir de estudios previos llevados a cabo en esta zona.

Se decidió establecer el ensayo en pequeñas escuelas primarias rurales por varias razones: las zonas rurales son a menudo descuidadas en cuanto a las políticas nacionales de salud, lo que se refleja en los informes sobre las disparidades globales urbano-rural de acceso a agua potable y servicios de saneamiento mejorados [4]; el control del dengue tiene lugar principalmente en las zonas urbanas, aunque la transmisión del dengue es también un problema en las zonas rurales [12,37]; el manejo de pequeñas escuelas rurales es logísticamente factible y relativamente sencillo (aunque a veces de difícil acceso durante la temporada de lluvias). En Colombia, entre el 13 % y el 29 % de los casos de dengue se reportan en zonas rurales [54-56], con el número más alto en el área de estudio actual [56].

Por último, sólo en relativamente pocos estudios se ha investigado el efecto de las intervenciones en salud en escuelas de países en desarrollo [57,58]. Además, los estudiantes pueden actuar como mediadores o mensajeros de salud con sus padres y la comunidad [59]. Como las intervenciones se implementaron a nivel de las escuelas, se deduce que estas también deben ser las unidades de asignación aleatoria, lo que resulta en un diseño aleatorio por conglomerado. Nuestra primera variable de respuesta para diarrea fue la enfermedad, pero este no es el caso para el dengue.

Los casos de dengue son difíciles y costosos de confirmar por medio de pruebas de laboratorio y el poder estadístico es problemático debido a la gran variación de la incidencia en el año. Por lo tanto, seleccionamos una variable de respuesta primaria del vector del dengue, específicamente la densidad de hembras de *Aedes*, porque está más cercana en relación con la enfermedad que los índices tradicionales: de vivienda, de depósito y de Breteau, utilizados en investigaciones anteriores.

Cabe señalar que con el diseño de estudio actual se evalúan dos conjuntos de intervenciones y, así, dentro de cada conjunto, los efectos de las intervenciones individuales en las variables de respuesta no se pueden distinguir. El efecto general de cada uno de estos dos conjuntos de intervenciones específicos de la enfermedad es de interés en este estudio.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

## CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

HJO y TAS, investigadores principales, concibieron y aseguraron el apoyo a este proyecto. Todos los autores participaron en el diseño del ensayo. HJO escribió el primer borrador de este manuscrito. NA escribió las secciones sobre los cálculos del tamaño de muestra. Todos los autores contribuyeron con la revisión del manuscrito, han leído y aprobado la versión final para su publicación, y asumen la responsabilidad pública por su contenido. María Inés Matiz hizo la traducción al español y los autores contribuyeron con su revisión.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio es financiado por el Consejo de Investigación de Noruega (subvención ref. No 201.349) y la Fundación Lazos de Calandaima. Reconocemos las donaciones de filtros de Oxfam; las cortinas impregnadas con insecticida de Bayer CropScience en Francia, Costa Rica y Colombia, y el piriproxifeno de Vector y Pest Management Ltda., Bogotá, Colombia. También, agradecemos a las alcaldías y la población de La Mesa y Anapoima. Agradecemos el apoyo y la asistencia del doctor Miguel Otero, Vicerrector de Investigaciones de la Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

Nuestros agradecimientos al personal de campo: Laura Cabezas, Humberto Mosquera, Paola Moreno, Rosa Silva, Sandra Moreno, Nancy Herrera, Luz Marina Contreras, Esmeralda González, Ana Cuéllar y Laura Hernández.

## REFERENCIAS

1. World Health Organization: *Combating water-borne disease at the household level/International Network to Promote Household Water Treatment and Safe Storage*. WHO, Geneva; 2007.
2. World Health Organization: *Report of the Scientific Working Group on Dengue*. WHO, Geneva; 2006. Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases (TDR). UNICEF/UNDP/World Bank/WHO; 2007 (TDR/SWG/080)
3. World Health Organization: *Water, Sanitation and Hygiene Links to Health, Facts and Figures – updated November 2004*. WHO, Geneva; 2004.[[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/facts2004/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/facts2004/en/) webcite]
4. World Health Organization/The United Nations Children's Fund: *Progress on Drinking Water and Sanitation: 2012 Update*. WHO/UNICEF



- Joint Monitoring Programme for Water Supply and Sanitation (JMP), Geneva; 2012.
5. The United Nations Children's Fund/World Health Organization: *Diarrhea: Why children are still dying and what can be done*. UNICEF, New York/ WHO, Geneva; 2009.
  6. World Health Organization: *Guidelines for drinking-water quality*. 4th edition. WHO, Geneva; 2011. [[http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf) webcite]
  7. Wright J, Gundry S, Conroy R: Household drinking water in developing countries: a systematic review of microbiological contamination between source and point-of-use. *Trop Med Int Health* 2004, 9:106-117.
  8. Simmons CP, Farrar JJ, Nguyen vV, Wills B: Dengue. *N Engl J Med* 2012, 366:1423-1432
  9. Dengue and severe dengue. Factsheet No. 117, revised Jan 2012. [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/> webcite Accessed 14 June 2012]
  10. World Health Organization, WHO ALERT: *Prompt action needed on dengue*. Press Release of the World Health Organization Southeast Asia Regional Office, New Delhi; 2007. [[http://www.searo.who.int/en/section316/section503/section2358\\_13463.htm](http://www.searo.who.int/en/section316/section503/section2358_13463.htm) webcite]
  11. Gubler DJ: Dengue, urbanization and globalization: the unholy trinity of the 21(st) century. *Trop Med Health* 2011, Suppl 4:3-11.
  12. Schmidt WP, Suzuki M, Thiem VD, White RG, Tsuzuki A, Yoshida LM, Yanai H, Haque U, le Tho H, Anh DD, Ariyoshi K: Population density, water supply, and the risk of dengue fever in Vietnam: cohort study and spatial analysis. *PLoS Med* 2011, 8:e1001082.
  13. World Health Organization: *Dengue - Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control*. WHO, Geneva; 2009.
  14. Inter American Development Bank: *Water and the Millennium Development Goals*. IADB, Okinawa; 2005.
  15. Pan American Health Organization: *Health situation and trends - summary*. PAHO, Washington, DC; 2012. [[http://www.paho.org/english/dd/ais/cp\\_170.htm](http://www.paho.org/english/dd/ais/cp_170.htm) webcite]
  16. Defensor del Pueblo de Colombia al Congreso de la República: *Colombia. Defensoría del Pueblo*. Decimosexto Informe, Bogotá; 2009.
  17. Pan American Health Organization: *Vol. I- Regional*. PAHO, Washington, DC; 2007.
  18. Ministerio de la Protección Social, Universidad de Antioquia, Facultad Nacional de Salud Pública: *Análisis de la situación de salud en Colombia 2002-2007*. Tomo IV "Situación de salud de la infancia", Bogotá; 2010. [<http://www.minproteccionsocial.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/ASIS-Tomo%20IV--Situaci%C3%B3n%20de%20salud%20de%20la%20infancia.pdf> webcite]
  19. Profamilia Colombia: *Encuestas Nacionales de Demografía y Salud (ENDS)*. Bogotá; 2010. [<http://www.profamilia.org.co/encuestas/Profamilia/Profamilia/images/stories/PDF-capitulos/Capitulo-10.pdf> webcite]
  20. Méndez F, Barreto M, Arias J, Rengifo G, Muñoz J, Burbano M, Parra B: Human and mosquito infections by dengue viruses during and after epidemics in a dengue-endemic region of Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 2006, 74:678-683.
  21. Cuellar-Jimenez ME, Velasquez-Escobar OL, Gonzalez-Obando R, Morales-Reichmann CA: Detection of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in the city of Cali, Valle del Cauca, Colombia. *Biomedica* 2007, 27:273-279.
  22. Rúa-Urbe G, Acosta C, Londoño V, Sánchez J, Rojo R, Bello B: Primera evidencia de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) en la ciudad de Medellín, Antioquia, Colombia. *Rev. Salud Pública de Medellín*. 2011, 5: 89-98.
  23. World Health Organization: *WHOPES-recommended compounds and formulations for control of mosquito larvae*. WHO Pesticides Evaluation Scheme (WHOPES), Geneva; 2011. [[http://www.who.int/whopes/Mosquito\\_Larvicides\\_sep\\_2011.pdf](http://www.who.int/whopes/Mosquito_Larvicides_sep_2011.pdf) webcite]
  24. Suárez MF, González R, Morales C: Temefos resistance to *Aedes aegypti* in Cali. *Colombia. Am J Trop Med Hyg* 1996, 55:257.
  25. Santacoloma L, Brochero H, Chavez B: Estado de la susceptibilidad a insecticidas de *Aedes aegypti* en cinco departamentos de Colombia. *Memorias XIII Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical*, Biomédica, Volumen 27 2007:175
  26. Rey G: *Determinación de los grados de resistencia al insecticida temefos en poblaciones de Aedes aegypti (L) 1762, (Diptera: Culicidae) y*

- su implicación en la eficacia del insecticida en los departamentos de Cauca, La Guajira, Cundinamarca, y Atlántico. *Maestría en Infecciones y Salud en el Trópico*. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia; 2011.
27. Barrera R, Avila J, González-Tellez S: Unreliable supply of potable water and elevated *Aedes aegypti* larval indices: a causal relationship? *Am Mosq Control Assoc* 1993, 9:189-195.
  28. Barrera R, Navarro JC, Mora JD, Dominguez D, Gonzalez J: Public service deficiencies and *Aedes aegypti* breeding sites in Venezuela. *Bull Pan Am Health Organ* 1995, 29:193-205.
  29. Romero-Vivas C, Arango-Padilla P, Falconar A: Pupal-productivity surveys to identify the key container habitats of *Aedes aegypti* (L.) in Barranquilla, the principal seaport of Colombia. *Ann Trop Med Parasitol* 2006, 100:S87-S95.
  30. Romero-Vivas CM, Wheeler JG, Falconar AK: An inexpensive intervention for the control of larval *Aedes aegypti* assessed by an improved method of surveillance and analysis. *J Am Mosq Control Assoc* 2002, 18:40-46.
  31. Tinker M, Olano V: Ecología del *Aedes aegypti* en un pueblo de Colombia, Sur América. *Biomédica* 1993, 13:5-14.
  32. Universidad El Bosque: *Estudio comparativo, bajo condiciones controladas de laboratorio de 2 modelos de filtros caseros para el tratamiento de agua y el seguimiento de su funcionamiento en campo*. Instituto Salud y Ambiente, Bogotá; 2009.
  33. Campbell MK, Elbourne DR, Altman DG: CONSORT statement: extension to cluster randomized trials. *BMJ* 2004, 328:702-708.
  34. Matiz MI: Environmental conditions of the rural schools and the relation to pupil's in a municipality from Colombia. In *World Water Week*. SIWI, Stockholm; 2007.
  35. Cabezas L, Salas S, Matiz MI, Jaramillo JF, Sarmiento D, Olano V: Residuos sólidos como criaderos potenciales de *Aedes aegypti* en escuelas y viviendas aledañas en el área rural del municipio de Apulo, Cundinamarca (XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical). *Biomédica* 2011, Suppl 3:25.
  36. Olano V, Vargas S, Matiz MI, Jaramillo JF: Distribución de *Aedes aegypti* y casos probables de dengue en el área rural del municipio de Anapoima, Cundinamarca. *XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical: Bogotá, Colombia, Biomédica Volumen Suppl 3*, 2011:28.
  37. Vong S, Khieu V, Glass O, Ly S, Duong V, Huy R, Ngan C, Wichmann O, Letson GW, Margolis HS, Buchy P: Dengue incidence in urban and rural Cambodia: results from population-based active fever surveillance, 2006–2008. *PLoS Negl Trop Dis* 2010, 4:e903.
  38. World Health Organization: *Promoting health through schools*. WHO, Geneva; 1997. [WHO Technical Report Series]
  39. Potters for Peace: *Filtrón - Ceramic filter for drinking water*. 2006. [http://pottersforpeace.org/wp-content/uploads/ideass-brochure-english.pdf webcite]
  40. World Health Organization: Report of the 14th WHOPES working group meeting: WHO/HQ, Geneva, 11–15 April 2011: review of *Spinosa<sup>®</sup> EC, Lifenet<sup>®</sup> LN, Magnet<sup>™</sup> LN, Royal Sentry<sup>®</sup> LN, Yahe<sup>®</sup> LN*. WHO, Geneva; 2011.
  41. Bradberry SM, Cage SA, Proudfoot AT, Vale JA: *Poisoning due to pyrethroids*. *Toxicol Rev* 2005, 24:93-106.
  42. Barlow SM, Sullivan FM, Lines J: Risk assessment of the use of deltamethrin on bednets for the prevention of malaria. *Food Chem Toxicol* 2001, 39:407-422.
  43. World Health Organization: *Report of the 4th WHOPES Working Group meeting – IR3535, KBR3023, (RS)-methoprene 20%EC, pyriproxyfen 0.5%GR and lambda-cyhalothrin 2.5%CS*. WHO, Geneva; 2001.
  44. Hayes RJ, Bennett S: Simple sample size calculation for cluster-randomized trials. *Int J Epidemiol* 1999, 28:319-326.
  45. Garcia-Rejon JE, Lorono-Pino MA, Farfan-Ale JA, Flores-Flores LF, Lopez-Urbe MP, Najera-Vazquez MR, Nunez-Ayala G, Beaty BJ, Eisen L: Mosquito infestation and dengue virus infection in *Aedes aegypti* females in schools in Merida, Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 2011, 84:489-496.
  46. Brooker S, Bethony JM, Rodrigues LC, Alexander N, Geiger S, Hotez PJ: Epidemiological, immunological and practical considerations in developing and evaluating a human hookworm vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2005, 4:35-50.

47. Martin DC, Diehr P, Perrin EB, Koepsell TD: The effect of matching on the power of randomized community intervention studies. *Stat Med* 1993, 12:329-338.
48. Vazquez-Prokopec GM, Galvin WA, Kelly R, Kitron U: A new, cost-effective, battery-powered aspirator for adult mosquito collections. *J Med Entomol* 2009, 46:1256-1259.
49. Focks DA, Chadee DD: Pupal survey: an epidemiologically significant surveillance method for *Aedes aegypti*: an example using data from Trinidad. *Am J Trop Med Hyg* 1997, 56:159-167.
50. Koenraadt CJ, Jones JW, Sithiprasasna R, Scott TW: Standardizing container classification for immature *Aedes aegypti* surveillance in Kamphaeng Phet, Thailand. *J Med Entomol* 2007, 44:938-944.
51. Lane J: *Neotropical Culicidae. Vol. I. 11th edition.* University of Sao Paulo, Sao Paulo; 1953.
52. González R, Darsie RF Jr: Clave ilustrada para la determinación genérica de larvas de Culicidae de Colombia y el nuevo mundo. *Bol Mus Ent Univ Valle* 1996, 4:21-37.
53. Eaton AD, Clesceri LS, Rice EW, Greenberg AE, Franson MAH: *Standard methods for the examination of water and wastewater: Centennial edition.* American Public Health Association, Washington, DC; 2005.
54. Ministerio de la Protección Social - Instituto Nacional de Salud: Informe del evento dengue hasta el periodo epidemiológico doce del año 2010. *Inf Quinc Epidemiol Nac* 2011, 16:11-11.
55. Arboleda M, Campusano M, Restrepo B, Cartagena G: Caracterización clínica de los casos de dengue hospitalizados en la E.S.E Hospital "Antonio Roldán Betacur", Apartadó, Antioquia, Colombia. *Biomédica* 2006, 26:286-294.
56. Secretaría de Salud de Cundinamarca: *Sistema de Vigilancia de Epidemiología (Sivigila).* Colombia; 2010.
57. Freeman MC, Greene LE, Dreibelbis R, Saboori S, Muga R, Brumback B, Rheingans R: Assessing the impact of a school-based water treatment, hygiene and sanitation programme on pupil absence in Nyanza Province, Kenya: a cluster-randomized trial. *Trop Med Int Health* 2012, 17:380-391.
58. Khun S, Manderson L: Community and school-based health education for dengue control in rural Cambodia: a process evaluation. *PLoS Negl Trop Dis* 2007, 1:e143.
59. Avila Montes GA, Martinez M, Sherman C, Fernandez Cerna E: Evaluation of an educational module on dengue and *Aedes aegypti* for schoolchildren in Honduras. *Rev Panam Salud Publica* 2004, 16:84-94.