

**Evaluación de las estrategias innovadoras
para el control de *Aedes aegypti*:
desafíos para su introducción y evaluación del impacto**



**Organización
Panamericana
de la Salud**



**Organización
Mundial de la Salud**

OFICINA REGIONAL PARA LAS **Américas**

Evaluación de las estrategias innovadoras para el control de *Aedes aegypti*: desafíos para su introducción y evaluación del impacto

Washington, D.C. 2019



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud

OFICINA REGIONAL PARA LAS **Américas**

*Se publica también en inglés y portugués:
Evaluation of Innovative Strategies for Aedes aegypti Control: Challenges for their Introduction
and Impact Assessment. ISBN: 978-92-75-12096-5
Avaliação das estratégias inovadoras para o controle de Aedes aegypti: desafios para a
introdução e avaliação do impacto dessas. ISBN: 978-92-75-72096-7*

Evaluación de las estrategias innovadoras para el control de Aedes aegypti: desafíos para su introducción y evaluación del impacto

ISBN: 978-92-75-32096-9

eISBN: 978-92-75-32097-6

© Organización Panamericana de la Salud 2019

Todos los derechos reservados. Las publicaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) están disponibles en su sitio web en (www.paho.org). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir, íntegramente o en parte, alguna de sus publicaciones, deberán dirigirse al Programa de Publicaciones a través de su sitio web (www.paho.org/permissions).

Forma de cita propuesta. Organización Panamericana de la Salud. *Evaluación de las estrategias innovadoras para el control de Aedes aegypti: desafíos para su introducción y evaluación del impacto*. Washington, D.C.: OPS; 2019.

Catalogación en la Fuente: Puede consultarse en <http://iris.paho.org>

Las publicaciones de la OPS están acogidas a la protección prevista por las disposiciones sobre reproducción de originales del Protocolo 2 de la Convención Universal sobre Derecho de Autor.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la OPS, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la OPS los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan en las publicaciones de la OPS letra inicial mayúscula.

La OPS ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la OPS podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

Índice

Agradecimientos	v
Síntesis ejecutiva	1
Objetivos y contenido	7
Introducción	9
Intervenciones para el control de <i>Aedes aegypti</i>	12
Innovaciones en la manipulación biológica y genética de mosquitos vectores	12
<i>Intervenciones de control por supresión de las poblaciones de vectores</i>	15
Técnicas de esterilización de insectos (TEI)	15
Manipulación genética de vectores	17
Estrategias de supresión de poblaciones de mosquitos infectados con <i>Wolbachia</i>	18
Incompatibilidad citoplasmática	20
Intervenciones de reemplazo para promover la resistencia a la infección viral	20
<i>Expresión de genes exógenos y modificación de genes propios</i>	20
<i>Resistencia a la infección viral inducida con Wolbachia</i>	21
Consideraciones para la introducción de innovaciones biológicas y genéticas para el control de <i>Aedes aegypti</i>	22
<i>Etapa 1: Preliberación: experimental y preparación</i>	23
Pruebas de eficacia: Evidencias para la toma de decisiones	23
Pruebas de logística: Capacidad de producción masiva	24
Pruebas de utilidad: Control de calidad del producto	25
Pruebas de seguridad: Plan de análisis, detección y manejo de riesgos	25
Pruebas de conveniencia: Legislación y mecanismos normativos	25
Pruebas de anuencia: Aspectos éticos, sociales y culturales	26
Pruebas de aceptación: Sensibilización de los actores sociales	26
Pruebas de viabilidad: Selección del sitio	27
<i>Condiciones de receptividad</i>	27
<i>Condiciones epidemiológicas y entomológicas</i>	28

<i>Etapa 2: Liberación: introducción, diseminación y establecimiento</i>	30
Introducción: Implementación y monitoreo	30
Proceso de liberación (cómo, dónde, cuándo y cuántas veces)	31
<i>Etapa 3: Sustitución y mantenimiento</i>	32
Toma de decisiones para el escalamiento	34
Evaluación: medición de impacto	35
Guía para llevar a cabo estudios de eficacia de las intervenciones de control	37
Indicadores entomológicos	38
Evaluación de la interferencia en la infección	40
Estimación de los costos de las innovaciones de control	41
Consideraciones finales	43
Referencias	45
Anexo	53
Referencias	59

Agradecimientos

La presente edición del *Evaluación de las estrategias innovadoras para el control de Aedes aegypti: desafíos para su introducción y evaluación del impacto* fue redactado por el Dr. Héctor Gómez Dantés, del Instituto Nacional de Salud Pública de México, con la colaboración de los doctores Mario Henry Rodríguez y Ángel Betanzos Reyes. El Dr. Héctor Gómez Dantés también fue el responsable por la sistematización de las sugerencias aportadas al documento.

Quisiéramos expresar nuestra gratitud a los miembros del Grupo Evaluador Externo de Nuevas Tecnologías de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), que, durante la reunión llevada a cabo en la ciudad de Washington, Estados Unidos en diciembre de 2017, apoyaran con sus conocimientos especializados la revisión del presente documento: Amy Morrison (Universidad de California – Estados Unidos), Gonzalo Vázquez-Prokopec (Universidad de Emory – Estados Unidos), Maria Eugenia Grillet (Universidad Central de Venezuela), Angi Harris (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades – Puerto Rico), Fabiano Pimenta (Secretaria Municipal de Salud de Belo Horizonte - Brasil), Linda Lloyd (Consultora Independiente). Especiales agradecimientos al Dr. Azael Che Mendoza que actuó como relator de la referida reunión.

La edición y revisión final del documento estuvo a cargo de los doctores Giovanini Evelim Coelho y Haroldo Sérgio da Silva Bezerra, ambos de la OPS/OMS.

Esta publicación fue producida por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), gracias al apoyo financiero de la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional bajo el acuerdo nro. AID-LAC-IO-16-00002. Las opiniones expresadas por los autores en esta publicación no reflejan necesariamente los puntos de vista de la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional o el Gobierno de los Estados Unidos.

Síntesis ejecutiva

El control de vectores se ha convertido en una tarea compleja, dado el número de alternativas disponibles para los diferentes estadios de las poblaciones del mosquito, la diversidad de herramientas disponibles y los diferentes objetivos planteados por cada una de las estrategias. Si bien todas las estrategias de control vectorial responden a ese objetivo específico, no ha sido tan fácil evaluar su impacto sobre la carga de la enfermedad. La experiencia ha demostrado que no existe una “bala” o “canasta” mágica que sea efectiva, duradera, económica, fácil de implementar y sostenible en el tiempo.

Ante la posible incorporación de nuevas herramientas para el control de las infecciones transmitidas por *Aedes* (incluidas las vacunas), es indispensable contar con un documento que permita medir la capacidad de los programas locales para su introducción, implementación, escalamiento, monitoreo y evaluación de impacto. En esencia, esta guía revisa el amplio espectro de intervenciones disponibles, brinda los elementos científicos y técnicos que permiten comprender el potencial, las ventajas y limitaciones de las tecnologías, así como los posibles efectos en su conjunto, y propone los requisitos operacionales y de pertinencia para introducir cualquiera de las nuevas tecnologías a los programas de control vectorial de la Región.

Algunas innovaciones tecnológicas han demostrado su éxito en el control de pestes agrícolas y su aplicación en el campo de la salud pública ofrece buenas perspectivas (teóricas) de éxito y nuevas oportunidades para mejorar y fortalecer el desempeño de los programas de control. Sin embargo, también presentan desafíos técnicos y operativos que deben considerarse antes de incorporarlas al inventario de herramientas de control.¹

En el elenco de nuevas tecnologías propuestas, destacan los mosquitos manipulados genéticamente (MMG) y los manipulados biológicamente con *Wolbachia* (MBW) para el control de poblaciones de mosquitos vectores de enfermedades, ya sea para: 1) suprimir las

poblaciones silvestres con genes letales que limiten la reproducción o reduzcan la sobrevivencia de los mosquitos; y 2) reemplazar las poblaciones con mosquitos resistentes a infecciones virales (baja competencia vectorial).

En general, las innovaciones que implican manipulación de vectores se sustentan en dos estrategias que pueden organizarse de acuerdo con el resultado obtenido (eliminación o reemplazo de poblaciones) o la dinámica de aplicación (autosostenible o autolimitante). Cada una de ellas lleva implícitas muchas condiciones para garantizar su cobertura, dispersión, volumen de mosquitos y frecuencia de liberación, necesidades de monitoreo, costos, etc. (cuadro 1).

El objetivo es eliminar de forma sostenible la reproducción masiva del mosquito o reducir su potencial para transmitir las infecciones de interés en salud pública. Los efectos de las innovaciones tecnológicas sobre la capacidad reproductiva, la sobrevivencia del vector infectado y su interferencia en la competencia o capacidad vectorial han demostrado que las herramientas son prometedoras en el campo de la salud pública. Sin embargo, adjudicarles el potencial de eliminar el dengue y otras arbovirosis transmitidas por *Aedes aegypti* es una propuesta “prematura”, cuando no existen evidencias prácticas de la factibilidad de su escalamiento y eficacia en los niveles operativos donde se desea aplicarlas.²

Cuadro 1. Esquema de innovaciones en la manipulación genética de mosquitos (MMG) y la manipulación biológica con *Wolbachia* (MBW)

Resultado de la intervención	Dinámica de implementación	
	Autolimitante	Autosostenible
Supresión de poblaciones	Esterilización (TEI) Genes autolimitantes (RISL) Mosquitos feminicidas	Genes letales <i>Wolbachia</i> (incompatibilidad citoplasmática)
Reemplazo o sustitución de poblaciones (interferencia en la infección)	Transgenes de RNA Transposones (elementos genéticos móviles)	<i>Wolbachia</i> (interferencia en la infección) Reducción de la competencia vectorial

Puesto que los antecedentes operativos de innovaciones de esta naturaleza son incipientes, su introducción tendría que ser escalonada, mientras se prepara al personal responsable y a las comunidades destinatarias, se controlan los procesos de producción e introducción, se evalúan sus posibles repercusiones y se reconocen los problemas para su implantación

y escalamiento. La evaluación tiene que contemplar o incorporar parámetros de eficacia e impacto que no han sido incluidos o evaluados correctamente en las evaluaciones de otro tipo de intervenciones. Además, los programas de control de vectores que incorporen estas nuevas tecnologías tendrán que hacer ajustes importantes en su estructura, organización, enfoque y abordaje para poder desplegarlas de manera eficaz.

*Consideraciones para la introducción de innovaciones tecnológicas (biológicas y genéticas) para el control de *Aedes aegypti**

Las innovaciones que aquí se comentan son las que están en una fase de aplicación de campo y, aunque no todas cuentan con evidencias de impacto epidemiológico, es deseable que en poco tiempo avancen hacia la presentación de sus resultados de impacto sobre la carga de enfermedad.

Lejos de considerarlas como innovaciones sustitutas de las intervenciones ya existentes, deben contemplarse, cuando se introduzcan, como herramientas complementarias a los programas de control regionales, ya que existen fortalezas y limitaciones que deben atenderse para una adecuada aplicación a gran escala.

En los cuadros 2 y 3 se enumeran los requisitos básicos que deben reunir los programas locales de control para incorporar estas innovaciones en sus intervenciones de control.

El planteamiento de introducción de mosquitos modificados sugiere un proceso lineal de preparación, liberación, diseminación de poblaciones de mosquitos modificados genética o biológicamente y la sustitución de poblaciones silvestres por poblaciones infectadas o manipuladas. Sin embargo, en cada una de esas etapas existen situaciones que, aun estando bien controladas, deben ser rigurosamente monitoreadas y evaluadas para garantizar la continuidad de las etapas y el éxito final de las intervenciones (cuadro 4).

Cuadro 2. Requisitos para la adopción de las innovaciones tecnológicas

Infraestructura y programática	Estrategias de supresión (reducir vector)	Estrategias de reemplazo (bloquear la transmisión)
Antecedentes de uso de tecnologías similares para control de pestes agrícolas (esterilización de insectos y otras)	Deseable	Opcional
Marco normativo y legislativo para el uso de biotecnologías en salud: <ul style="list-style-type: none"> • Ambiental • Bioseguridad • Bioética 	Indispensable Indispensable Indispensable	Indispensable Indispensable Indispensable
Protocolos para la producción masiva de mosquitos manipulados	Indispensable	Indispensable
Portafolio de evidencias sobre seguridad, calidad y eficacia del producto (dosier)	Indispensable	Indispensable
Recomendación de la OPS por intermedio del Programa Regional de Entomología en salud Pública y Control de Vectores Grupo Asesor de Control de Vectores (VCAG)	Opcional	Opcional
Convenios de colaboración con ministerios de salud (nacional o federal; provincial o estatal; y municipal) acordes con el país	Indispensable (nacional)	Indispensable (nacional)
Plan de implementación <ul style="list-style-type: none"> • Fuentes de financiamiento aseguradas • Plan de financiamiento a largo plazo • Logística de insumos (producción, distribución, liberación, monitoreo y evaluación) 	Indispensable Deseable Indispensable	Indispensable Deseable Indispensable
Infraestructura física para producción de MMG/MBW <ul style="list-style-type: none"> • Insectario • Laboratorio (entomológico) • Recursos materiales para el monitoreo entomológico • Personal técnico capacitado asociado al programa de control de vectores 	Deseable Indispensable Opcional Indispensable Indispensable	Deseable Deseable Indispensable Indispensable indispensable
Grupo científico multidisciplinario de apoyo al personal de control de vectores (investigación-acción)	Deseable	Deseable
Sistema de vigilancia entomológica (capacidad para monitorear cambios espaciales, temporales y de impacto)	Indispensable	Deseable
Sistema de vigilancia epidemiológica (capacidad para monitorear cambios espaciales, temporales y de impacto, incluida la capacidad diagnóstica: serología, PCR, aislamiento)	Deseable	Indispensable
Diagnóstico situacional basal (entomológico y epidemiológico) donde se pondrán en práctica las innovaciones	Deseable	Indispensable
Campaña de sensibilización y comunicación estructurada (mensajes de impacto esperado): <ul style="list-style-type: none"> • responsables de tomar decisiones • personal técnico • ONG (grupos ambientales, sociedad civil) • medios de comunicación • comunidades (grupos comunitarios formales y no formales) 	Indispensable Sí Sí Sí Deseable Sí	Indispensable Sí Sí Deseable Deseable Sí
Acuerdos de participación con comunidades involucradas (consentimiento informado) según país	Indispensable	Indispensable

Cuadro 3. Requisitos para la implementación de las innovaciones

Implementación	Estrategias de supresión	Estrategias de reemplazo
Incorporación y participación de las comunidades en el diseño, organización y monitoreo de las innovaciones (contexto local)	Deseable	Deseable
Definición de criterios para seleccionar las áreas de intervención (entomológicos y epidemiológicos)	Indispensable	Indispensable
Integración con programas de control vectorial locales	Indispensable	Indispensable
Criterios de cobertura, frecuencia y magnitud de mosquitos liberados definidos	Indispensable	Indispensable
Monitoreo entomológico (frecuencia, cobertura, nivel de detalle)	Indispensable	Opcional
Vigilancia de casos (confirmados, hospitalizados)	Deseable	Indispensable
Vigilancia virológica-serología, PCR y serotipos	Deseable	Indispensable
Vigilancia viroentomológica (PCR en hembras), biología molecular (huella genética y biológica)	Opcional	Indispensable
Monitoreo entomológico tradicional: <ul style="list-style-type: none"> • encuestas larvarias • oviposición • pupas • adultos en las casas 	Indispensable Opcional Opcional Deseable	Indispensable Opcional Opcional Deseable
Monitoreo entomológico especializado (rango de vuelo, fecundidad, fertilidad, paridad, sobrevivencia, competencia vectorial) acorde con las capacidades locales	Opcional	Deseable
Monitoreo de desempeño y competitividad (calidad del producto)	Indispensable	Indispensable
Medición de impacto entomológico	Indispensable	Deseable
Medición de impacto epidemiológico	Indispensable	Indispensable
Monitoreo de penetración de la innovación (establecimiento y mantenimiento)	Indispensable	Indispensable
Comunicación de resultados a tomadores de decisiones, personal y comunidades	Indispensable	Indispensable
Medición de la aceptación y satisfacción en las comunidades	Deseable	Deseable

Cuadro 4. Procesos de introducción y evaluación de MMG y MBW

Etapas	Preliberación	Liberación de MMG o MBW		Sustitución y mantenimiento	Evaluación
Procesos y población blanco	Experimental y preparación	Introducción	Diseminación y establecimiento	Supresión o sustitución de poblaciones silvestres	Impactos poblacionales y transmisión
Poblaciones silvestres	Monitoreo de poblaciones: tipología de criaderos, densidades, estacionalidad			Invasión de especies, migración	Resistencia al reemplazo
Poblaciones infectadas / manipuladas	Producción masiva / Control del producto	Frecuencia y magnitud de liberación	Cobertura y sostenibilidad	Mantenimiento de competencia vectorial (fecundidad, sobrevida, dispersión)	Disminución de la competencia y la capacidad vectorial

La aplicación de todas estas herramientas conlleva la liberación masiva de mosquitos modificados biológica o genéticamente. Su efecto en la población del vector puede ser transitorio, al desaparecer cuando cesa la liberación de los insectos transgénicos, o permanente, cuando los mosquitos liberados reemplazan a la población blanco. La producción masiva, que ha sido una de las limitaciones más importantes, demuestra que se necesitan instalaciones especializadas para la producción controlada y vigilada en cuanto a la competencia de la especie modificada.

Estas innovaciones no pueden considerarse como panaceas y su inclusión en los programas de control debe valorarse a la luz de las capacidades locales y el uso integrado de otras herramientas de control. De hecho, como todas las herramientas disponibles, las técnicas de MMG y MBW deben utilizarse bajo un esquema de integración de herramientas (sinergia), con blancos (huevos, larvas y adultos) y momentos específicos, para que resulten más eficientes y permitan maximizar el efecto individual y combinado de las diferentes intervenciones de control.

Tampoco podemos pensar que estas tecnologías sirven para proteger específicamente a individuos, casas o barrios sino, por el contrario, a áreas extensas como ciudades o localidades de mayor riesgo. La escala de aplicación y el ritmo de escalamiento para cubrir áreas tan extensas es un tema pendiente, no solo por la dimensión de la tarea sino por los recursos necesarios para lograrla.

Un aspecto central a la incorporación de estas tecnologías es que los países afectados por el dengue y otras arbovirosis no cuentan, hoy en día, con la infraestructura necesaria, el personal capacitado ni el apoyo político (financiero) para implantar un programa de control genético o biológico, y menos para hacerlo en los grandes centros urbanos que generan la mayor carga de dengue, Zika y chikungunya. Los países de la Región necesitan invertir en el fortalecimiento de sus programas de control y de los recursos humanos dedicados al control vectorial. Así, estarán más preparados para implementar y evaluar las innovaciones tecnológicas disponibles en el corto, medio y largo plazo.

Objetivos y contenido

Este documento para la evaluación de las nuevas herramientas de control —como los mosquitos modificados genéticamente (MMG) y la manipulación biológica con *Wolbachia* (MBW)— presenta el estado del arte de estas innovaciones tecnológicas, los mecanismos organizativos necesarios para introducirlos y los indicadores indispensables para medir su efecto entomológico y epidemiológico a corto, medio y largo plazo.

La introducción de nuevas tecnologías para el control del *Aedes aegypti* exige contar con una infraestructura básica para llevarlas al campo y un plan que permita medir las fortalezas y debilidades que tienen los programas de control locales para su introducción, monitoreo, evaluación de impacto, escalamiento y sostenibilidad.

La evaluación tiene que contemplar o incorporar parámetros de eficacia e impacto que o bien no han sido incluidos en las evaluaciones de otras intervenciones o bien han sido evaluados de forma deficiente. Además, los programas de control de vectores que incorporen estas nuevas tecnologías tendrán que hacer ajustes importantes en su estructura, organización y abordaje para poder ponerlas en práctica y evaluarlas de manera eficaz.

El contenido del documento se basa en cuatro premisas que sirven como ejes rectores para la introducción de las nuevas tecnologías de control y presuponen que los programas locales de control de vectores cuentan con:

- las evidencias para determinar que son herramientas eficaces;
- las innovaciones tecnológicas para ser introducidas como herramientas complementarias;
- la capacidad para llevarlas a la práctica y evaluarlas;
- los elementos para decidir dónde y cuándo introducir o escalar la intervención.

El documento está organizado desde una perspectiva integral, esto es, no está diseñado para medir de forma exclusiva e independiente los mecanismos de introducción, ejecución y evaluación de las nuevas tecnologías, sino que parte de las experiencias previas en la evaluación de las diferentes herramientas disponibles para:

- 1) describir los desafíos técnicos y operativos que plantea su implementación;
- 2) generar las evidencias necesarias para garantizar su eficacia, efectividad y sostenibilidad;
- 3) proponer mecanismos que eviten los errores cometidos en el pasado en su implementación y evaluación;
- 4) buscar maneras de fortalecer las capacidades de los programas de control de vectores para viabilizar el seguimiento y dirigir eventuales ajustes a su aplicación efectiva.

El documento destaca la función que pueden tener las innovaciones tecnológicas para mejorar los programas de control de *A. aegypti* en la Región de las Américas y las necesidades de fortalecimiento y capacitación de los programas operativos.

Introducción

La historia del control de las enfermedades transmitidas por vectores en las Américas es muy extensa y las evidencias muestran lo exitosos que fueron varios programas en el pasado. El control de la fiebre amarilla y el paludismo en Cuba y Panamá bajo la dirección de William Gorgas (1901-1910), la eliminación de *Anopheles gambiae* en el Brasil (1940), la eliminación de *Aedes aegypti* entre 1950 y 1960 auspiciada por la OPS y dirigida por Fred Soper, la eliminación de la transmisión de la enfermedad de Chagas por *Triatoma infestans* en el Brasil y el Uruguay y la reciente eliminación de la oncocercosis de 11 de los 13 focos endémicos en Colombia, Ecuador, México y Guatemala (2013-2016) son ejemplos recientes de intervenciones que combinaron el uso de insecticidas, la ingeniería sanitaria y la disponibilidad de vacunas o medicamentos efectivos, apoyados por la participación comunitaria y otros métodos de control.

Muchos de estos logros pueden revertirse en el futuro cercano debido a la falta de compromiso de los gobiernos, la debilidad técnica de los programas, la insuficiencia de recursos humanos bien capacitados, la baja cobertura de las acciones, la resistencia a los insecticidas y otras determinantes que inciden sobre la epidemiología de las enfermedades transmitidas por vectores en el presente. Estos desafíos imponen la necesidad de mejorar la instrumentación de las herramientas actuales y la incorporación de innovaciones tecnológicas.

Las infecciones transmitidas por *A. aegypti* se han convertido en un problema creciente de salud pública en los países en vías de desarrollo y en un peligro latente para los países desarrollados, ya sea por la detección de casos importados o por los riesgos de introducción derivados de la existencia de vectores potenciales en su territorio. En las últimas décadas se registró un crecimiento importante en la comunicación de infecciones de los virus del dengue,³ el chikungunya⁴ y el Zika,⁵ además de la transmisión de la fiebre amarilla y otras arbovirosis a nivel urbano.^{6,7}

Hoy en día, se estima que cerca de la mitad de la población mundial vive en áreas en riesgo de dengue, más de 100 países tienen transmisión y se producen entre 300 y 500 millones de infecciones anuales, de las cuales 96 millones tienen manifestaciones clínicas y 500.000 son casos severos, con alrededor de 25.000 defunciones. La infección es endémica en las regiones de las Américas, Asia Sudoriental, Pacífico Occidental, África y Mediterráneo Oriental, y en los últimos 50 años se ha multiplicado por 30 la incidencia, sin señales de que se vaya a revertir dicha tendencia. El escenario epidemiológico nos muestra que el número de casos va en aumento, que hay una mayor duración y magnitud de los brotes y que las áreas afectadas y las poblaciones expuestas se encuentran en constante expansión.^{8,9} La meta de la OMS para el 2020 de reducir la mortalidad en un 50% y la morbilidad en un 25%¹⁰ se presenta como un desafío ante la carencia de buenos sistemas de vigilancia que cuantifiquen correctamente la carga de la enfermedad y las deficiencias de los programas de control vectorial en los países endémicos.

La dispersión geográfica del dengue —de 1970 a la fecha— pone de manifiesto las limitaciones de los programas de control para contener de forma efectiva su expansión. La reciente introducción de los virus del chikungunya y del Zika y su rápida dispersión por el continente también evidencian la escasa capacidad de respuesta de los programas y la limitada efectividad de las estrategias establecidas.

Entre los problemas identificados cabe mencionar:

- 1) la desvinculación entre el programa de eliminación y control vectorial y los servicios de salud, sobre todo de las áreas de vigilancia epidemiológica y atención médica de pacientes;
- 2) la dependencia del uso exclusivo e intensivo de insecticidas;
- 3) la falta de participación de todos los sectores involucrados en su control (comunidad, escuelas, autoridades municipales, servicios públicos, infraestructura urbana, etc.);
- 4) la baja cobertura de las áreas en riesgo junto con la baja intensidad o frecuencia de las acciones de control vectorial;
- 5) la homogeneidad de las acciones desplegadas frente a las diferentes situaciones de riesgo;
- 6) la breve duración del impacto de las intervenciones (efectividad limitada);
- 7) la movilidad del personal contratado (rotación y personal insuficiente) y la falta de capacitación del personal técnico de los programas;

- 8) la falta de financiamiento para modernizar el equipamiento y sostener el programa (sostenibilidad) fuera de las situaciones de riesgo críticas;
- 9) la falta de voluntad política de los gobiernos que no vislumbran la verdadera dimensión del problema^{11,12}

El control de *A. aegypti* nació como una ambiciosa campaña continental dirigida a eliminar el vector de la Región y se erigió como un programa de control “vertical” basado en una organización especializada y desvinculada de los servicios de salud, cuyo abordaje técnico fue el uso exclusivo de larvicidas e insecticidas. Después de muchas décadas trabajando bajo este enfoque, se fueron incorporando otros abordajes que acercaron esa estructura rígida y vertical a las visiones de las poblaciones afectadas (participación social y comunitaria), apoyándose en los cambios de conducta y la promoción de prácticas caseras para el control de criaderos. Gracias a este planteamiento de corresponsabilidad social, fue más fácil concebir un programa multisectorial, multidisciplinario, participativo, social y ecológicamente responsable.¹³ Sin embargo, la capacidad de los niveles locales para mantener esta estrategia de forma continuada es muy limitada y se fortalece casi exclusivamente en los momentos epidémicos

Las herramientas de control tradicionales, la participación social y la comunicación —entre otras— han llevado tiempo, se han aplicado de forma parcial o insuficiente y no han sido oportunas, continuas ni sostenibles, como tampoco se han evaluado bien. Por eso, la escasa efectividad que se les ha achacado obedece más a la manera de llevarlas a la práctica o evaluarlas que a su eficacia demostrada en ciertos contextos. Las nuevas tecnologías, además de demostrar su efectividad, deben incorporarse al manejo integrado de vectores (MIV)¹⁴ para mejorar las estrategias y ayudar a solucionar los desafíos operativos y organizativos comunes a todas las intervenciones tradicionales.¹

Intervenciones para el control de *Aedes aegypti*

Las intervenciones disponibles se pueden clasificar según el estadio del vector al cual están dirigidas (huevo, larva, pupa o adulto), el tipo de control o las opciones (físico-mecánico, ambiental, biológico, químico, conductual, genético, etc.), la forma de aplicación (aérea, terrestre, espacial, focal o dirigida) y el usuario (responsable) o nivel de aplicación (individual, familiar, vivienda, barrio, localidad, municipio).

La diversidad de contenedores de agua disponibles en ambientes urbanos ha generado una gama muy extensa de herramientas para acotar su función como criaderos de mosquitos: desde las medidas específicas, como la manipulación física (tapar, voltear, lavar o eliminar criaderos), las intervenciones biológicas (aplicación de peces, copépodos, bacterias, etc.) o la aplicación de larvicidas químicos, hasta medidas más integrales como las estrategias educativas (promoción de prácticas, cambio de conductas) y las modificaciones ambientales (campañas de limpieza, ingeniería sanitaria básica).

En el caso de las intervenciones dirigidas a la fase adulta, los insecticidas han sido la intervención de primera elección, si bien la capacidad de los profesionales de campo para aplicarlas de acuerdo con los requisitos técnicos ha sido limitada. No obstante, hay otras herramientas diseñadas para incidir sobre la oviposición (trampas), impedir la emergencia a la fase adulta (poliestireno, tapas o mallas en recipientes), evitar el contacto con el humano (repelentes, mallas y cortinas) o limitar su sobrevida (insecticidas). Todas ellas se han visto beneficiadas y fortalecidas con el componente de participación comunitaria y movilización social (figura 1).

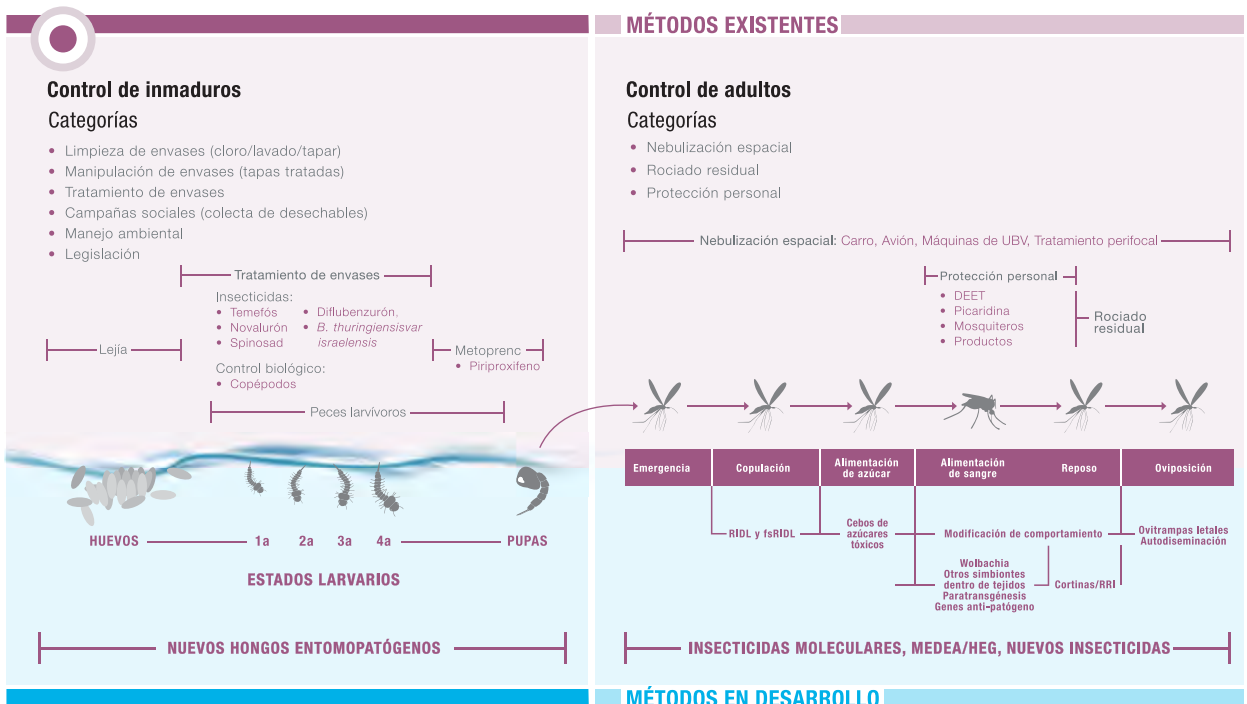
Innovaciones en la manipulación biológica y genética de mosquitos vectores

La modificación genética de insectos ha sido muy bien recibida en el campo de la agricultura por su impacto en el control de plagas que afectan a diferentes cultivos. A diferencia del uso intensivo de insecticidas, el inaparente impacto ecológico, su especificidad y la ausencia de

resistencia (no confirmada) las convierte en candidatas muy prometedoras para el control de vectores. No obstante, su transferencia al campo de la salud humana genera algunas inquietudes entre la comunidad científica y suscita dudas en las áreas de salud pública y en los programas de control de vectores. Por lo mismo, requiere de una estrategia de comunicación muy efectiva para dar a conocer las evidencias, los beneficios y los riesgos inherentes, a fin de prevenir el rechazo de las comunidades destinatarias.

El objetivo es eliminar de forma sostenible la reproducción masiva del mosquito o, por lo menos, su potencial para transmitir las infecciones de interés en salud pública. Con ello, se aspira a limitar el uso de intervenciones de control que operativamente son complicadas de llevar a cabo en extensión, frecuencia y oportunidad, intervenciones que, además, demandan presupuestos excesivos por la necesidad de repetirlas continuamente (es decir, no son sostenibles). Esto no implica que las innovaciones tecnológicas sean más económicas.

Figura 1. Intervenciones dirigidas contra los diferentes estadios del *Aedes aegypti*



Con el permiso de: Achee NL, Gould F, Perkins TA, Reiner RC Jr, Morrison AC, Ritchie SA, et al. A Critical Assessment of Vector Control for Dengue Prevention. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9 (5): e0003655.

Las técnicas de manipulación biológica y control genético de vectores, además, comparten varias características comunes que también las distinguen de las medidas tradicionales, entre las que cabe destacar:

- 1) dependen del mecanismo de transmisión vertical (materna) de los elementos heredables (genes de resistencia y *Wolbachia*);
- 2) afectan específicamente a una especie;
- 3) son respetuosas con el medio ambiente;
- 4) se caracterizan por desarrollarse de manera activa en la población tratada (busca activa del macho por la hembra para reproducirse);
- 5) no invaden el espacio doméstico;
- 6) deben ser aplicables a gran escala (indispensable).

Un desafío común entre las innovaciones de control y las medidas tradicionales es lograr las coberturas necesarias para que sean efectivas y sostenibles.

En general, estas innovaciones de manipulación de vectores se sustentan en dos estrategias que pueden organizarse de acuerdo con el resultado obtenido (supresión o reemplazo de poblaciones) o la dinámica de implantación (autosostenible o autolimitante). Cada una de ellas lleva implícitas muchas condiciones o riesgos para garantizar su eficacia; por ejemplo, los requisitos para una estrategia autolimitante serán muy diferentes de los de una autosostenible (permanente) en términos de cobertura, dispersión, volumen de mosquitos y frecuencia de liberación, necesidades de monitoreo, costos, etc. (cuadro 5).

Cuadro 5. Esquema de innovaciones en la manipulación genética de mosquitos (MMG) y manipulación biológica con *Wolbachia* (MBW)

Resultado de la intervención	Dinámica de implantación	
	Autolimitante	Autosostenible
Supresión de poblaciones (eliminación)	Esterilización (TEI) Genes autolimitantes (RISL)* Mosquitos feminicidas	Genes letales <i>Wolbachia</i> (IC)
Reemplazo o sustitución de poblaciones (interferencia o resistencia a la infección)	Transgenes de RNA Transposones (elementos genéticos móviles)	<i>Wolbachia</i> (reducción de la competencia vectorial)

*Antes conocidos como RIDL.

Supresión de poblaciones: Esta estrategia persigue actuar sobre la demografía de la población vectorial para reducirla a un nivel mínimo e impedir que mantenga la transmisión o eliminarla del entorno intervenido. Consiste en disminuir o suprimir poblaciones esterilizando a los machos (mediante radiación), induciendo anomalías que menoscaben la viabilidad de los huevecillos, la sobrevivencia de los estadios larvarios y adultos o la capacidad reproductiva de las poblaciones, por medio de la incompatibilidad citoplasmática (IC) producida por las bacterias *Wolbachia*, o incorporando genes letales dominantes que feminizan a los machos, reducen la fecundidad o matan a las hembras en etapas tempranas.

Sustitución o reemplazo de poblaciones: Esta estrategia busca reemplazar las poblaciones vectoras por poblaciones modificadas que sean resistentes a la infección viral. Uno de los mecanismos más novedosos es la transinfección con *Wolbachia*. Otros mecanismos consisten en incorporar transgenes que reducen indirectamente la competencia vectorial, al alterar la sobrevivencia, las funciones fisiológicas (vuelo, alimentación) o la susceptibilidad a la infección del vector (interferencia).

Estrategias autolimitantes: Estas estrategias implican la liberación abundante y repetida de mosquitos (inundación) para mantener el flujo del cambio genético en la población tratada. Es reversible cuando cesa la liberación.

Estrategias autosostenibles: Estas estrategias proponen la liberación repetida y suficiente de poblaciones de mosquitos modificados para establecerse como población dominante (reemplazo). Están planeadas para persistir en la población, por lo que puede haber riesgos imprevistos.

Intervenciones de control por supresión de las poblaciones de vectores

Las nuevas tecnologías se benefician de los avances recientes sobre la fisiología y biología molecular de insectos para su manipulación genética (MMG), que consisten en la inserción de genes en el genoma del mosquito o la transferencia de la infección por *Wolbachia*, ya sea para suprimir poblaciones vectoras (que no emergen, mueren de forma prematura, matan solo a las hembras o las vuelven inviábiles) o para inducir la resistencia a la infección por patógenos (inhiben la replicación viral, acortan la sobrevivencia) en los mosquitos infectados con *Wolbachia* o manipulados genéticamente¹⁵ (cuadro 6).

Técnicas de esterilización de insectos (TEI)

Las técnicas de esterilidad de insectos (TEI) engloban todos los métodos innovadores que anulan la capacidad reproductiva de los vectores.^{16,17} Si bien el término sugiere que no hay progenie (esterilidad por radiación), estos insectos sí son capaces de aparearse, pero su descendencia no es viable.

Radiación: La exposición de los mosquitos machos a radiaciones provoca mutaciones genéticas dominantes y letales para la descendencia de las hembras con las que copulan (los huevecillos mueren después de ser fertilizados).¹⁸ Las limitaciones de la radiación de los machos estériles son los efectos negativos (debilidad) que puede producir en su desempeño, como el apareamiento deficiente, la capacidad de vuelo (dispersión) en comparación con los mosquitos silvestres, la necesidad operativa de separar a las hembras de los machos antes de liberarlos y la liberación de enormes cantidades de machos estériles para competir con las especies silvestres (cuadro 6).^{19,20}

Cuadro 6. Innovaciones en el control genético y biológico de vectores, por tipo, población blanco y resultado

Tipo de manipulación	Población blanco		Resultado esperado	
	Macho modificado	Hembras silvestres	Macho	Hembra
Mosquitos estériles				
Irradiación	Machos estériles	(-)	Huevecillos no viables	
Gen autolimitante (RISL) (antes denominado “RIDL”: gen dominante letal)				
Promotor femenino (FsRISL)	Gen dominante inserto (+)	(-)	Gen dominante portador	Hembras sin capacidad de vuelo
Gen de letalidad Estadio específico	Letalidad prematura (+)	(-)	Larvas que no se desarrollan	
	Letalidad tardía (+)	(-)	Larvas que no se convierten en pupas	
Genes de inmunidad				
Genes de inmunidad RNAi	RNAi portador	(-)	RNAi portador	Resistentes a infección (DEN2)
<i>Wolbachia</i>: Intervenciones sin modificación genética				
Incompatibilidad citoplasmática (IC)	Portador de <i>Wolbachia</i>	(-)	Muerte embrionaria, ausencia de descendencia (disminuye la tasa de eclosión) o reducción de la sobrevida (capacidad vectorial)	
	<i>Wolbachia</i> (+) y (-)	<i>Wolbachia</i> (+) de diferente cepa		
	Portador de <i>Wolbachia</i>	<i>Wolbachia</i> (+) de la misma cepa	Descendencia viable	
Reducción de la sobrevida	(-)	Portador de <i>Wolbachia</i> (huevecillos)	Disminuye la sobrevida de los adultos, incide en la capacidad vectorial	
Inhibe la replicación viral (interferencia)	(-)	Portador de <i>Wolbachia</i> (huevecillos)		Disminuye la competencia vectorial

Adaptado de: Elizabeth A. McGraw, Scott L. O'Neill. Beyond insecticides: New thinking on an ancient problem. *Nature Reviews, Microbiology* 2013; 11 (3): 181-193.

Manipulación genética de vectores

Recombinación del DNA

Este tipo de reingeniería introduce mutaciones letales dominantes en el genoma del mosquito que hacen inviable a su descendencia. Otras estrategias consisten en liberar insectos portadores de un gen dominante que es letal para las hembras, es decir, producen una esterilidad condicionada o letalidad selectiva. Los machos liberados transmiten este gen a la prole de hembras silvestres, donde resulta letal para las hijas, reduciendo así la población de manera similar a la TEI. Este efecto es específico del sexo y solo las hembras mueren; por eso se denominan “mosquitos feminicidas” (*female killers*).²¹ Otra técnica se basa en la inclusión de genes de endonucleasa o HEG (del inglés *homing endonuclease genes*) que confieren resistencia a la infección, genes de fertilidad o genes determinantes del sexo, pero estas estrategias todavía están en desarrollo (cuadro 6).²²

La estrategia más avanzada de transgénesis —hoy conocida como RISL (*release of insects carrying a self-limiting gene*) y antes como RIDL (*release of insects carrying a dominant lethal gene*)— es la producción de mosquitos con un gen autolimitante en su genoma, que interrumpe el desarrollo del vector (letalidad prematura o tardía) y les impide llegar a la fase adulta. Así, estas estrategias permiten programar el momento del desarrollo que se quiere afectar.²³ Su aplicación en programas de control tendría como propósito abatir a las poblaciones silvestres mediante la liberación de mosquitos macho portadores del gen letal.^{24,25}

En cohortes de *A. aegypti* RISL-transgénicas los productos pueden ser letales solo para las hembras²⁶ y la expresión del gen afecta de manera específica a sus músculos alares; así, la prole de las hembras no puede volar (no sobrevive), con lo que disminuye la producción de mosquitos silvestres. Si la liberación de los machos FsRISL se mantiene, puede llegar a suprimir la población en un período de 10 a 20 semanas.^{27,28,29} Sin embargo, algunas pruebas de campo con machos FsRISL demuestran que pueden tener menor competitividad de apareamiento que los machos silvestres, lo que podría comportar supresiones poblacionales bajas (cuadro 6).

Los estudios llevados a cabo para probar la técnica de RIDL OX513A (RISL gen autolimitante) en *A. aegypti* han demostrado que la competitividad de los machos modificados fue menor que la de los machos silvestres.³⁰ Otra prueba experimental en Malasia³¹ demostró que la longevidad era equiparable a la de las especies silvestres, aunque su rango de dispersión fue menor. La supresión de poblaciones de *A. aegypti* en las Islas Caimán alcanzó el 80% (2010), mientras que en tres emplazamientos del Brasil (2010) la liberación sostenida durante un año logró una supresión del 95%³² (cuadro 7).

Estrategias de supresión de poblaciones de mosquitos infectados con *Wolbachia*

La introducción de *Wolbachia pipientis* se describió por primera vez en la década de 1920 y su potencial para controlar las plagas de insectos se conoce desde hace 50 años. Las bacterias del género *Wolbachia* poseen diversas propiedades que les permiten actuar como poderosa intervención de control biológico del dengue:

- 1) incrementan el desempeño reproductivo de las hembras infectadas, lo cual favorece su disseminación;
- 2) son compatibles con muchos hospederos y pueden infectar a especies genéticamente distantes;
- 3) producen una gran variedad de efectos (eliminación de poblaciones, disminución de la sobrevida, afectación de la transmisión de virus) que, bien canalizados, podrían mejorar el control de la transmisión y disminuir la carga de la enfermedad.³³

Las bacterias de *Wolbachia* están ampliamente distribuidas en poblaciones naturales de insectos y son capaces de infectar entre el 40% y el 76% de las especies; sin embargo, la infección natural no afecta al principal vector del dengue (*A. aegypti*), aunque sí al *A. albopictus*. No fue hasta el 2005 que se consiguió realizar la transinfección con *Wolbachia* del *A. albopictus* al *A. aegypti*.

El género *Wolbachia* está constituido por cuatro clados (A, B, C y D), pero solo dos infectan a los insectos vectores (el A y el B). En *A. albopictus*, se han encontrado infecciones con cepas de los clados A y B (*wAlbA* y *wAlbB*), mientras que la cepa *wMel* se encuentra distribuida en la *Drosophila* a nivel mundial. La posibilidad de transferir la infección por bacterias de *Wolbachia* provenientes de especies más lejanas (*Drosophila*) al *A. aegypti* permitió reducir la sobrevida del vector, limitando su capacidad para transmitir la infección por el virus del dengue (cuadro 7).³⁴

La infección con *Wolbachia* provoca en el huésped una serie de distorsiones reproductivas que se potencian por la transmisión materna (vertical) y se expresan de diversas maneras: induciendo la mortalidad prematura de embriones o huevos que no eclosionan; provocando la feminización de los machos (genotipo macho con fenotipo hembra);³⁵ modificando el esperma del macho para anular la fecundidad y la viabilidad de los huevos; ocasionando la eliminación o mortalidad de los machos (los machos infectados mueren y las hembras se infectan);³⁶ induciendo la partenogénesis de las hembras (reproducción de hembras sin esperma); y produciendo incompatibilidad citoplasmática (IC) cuando los machos infectados se aparean con hembras no infectadas, dando como resultado huevos inviables que no eclosionan y mueren.³⁷

Cuadro 7. Manipulación de mosquitos: tipo de intervención y efectos en *Aedes aegypti*

Tipo de manipulación genética y efectos sobre el vector	Genes letales				Wolbachia			
	Mosquitos irradiados (estériles)	RISL (antes RIDL)	Específicos del sexo	Genes móviles	wMel	wMelPop (popcorn)	wMelPop-Cla	wAlb A y B
Huevos y desarrollo larvario	No se producen	OX513A letalidad tardía		Mortalidad temprana o tardía	Disminuye el tiempo de desarrollo o muerte (90%)	El desarrollo del huevo dura menos; menor oviposición y viabilidad	Incrementa el metabolismo	
Incompatibilidad citoplasmática (IC)					Sí	Sí, menor fijación de la infección	Sí	Sí
Resistencia a infección o interferencia (competencia vectorial)				RNAi: Inhibe proteínas de membrana	Reduce susceptibilidad a los virus del dengue (70%-89%), del chikungunya, de la fiebre amarilla y de la encefalitis del Nilo Occidental. Menor interferencia, menores títulos virales en saliva y cuerpo	Dengue, chikungunya, fiebre amarilla y encefalitis del Nilo Occidental: incide sobre el período de incubación intrínseco (PEI) al disminuir la sobrevivencia. Reduce la susceptibilidad, mayor interferencia en saliva y cuerpo	Reducción importante del VDEN	VDEN: Reduce susceptibilidad, títulos virales en saliva y cuerpo
Fecundidad	Machos estériles	Esterilidad	Elimina hembras (feminicidas)	Esterilidad		Disminución	Reduce la tasa de eclosión en un 60%	Incremento
Apareamiento	Efectivo	FsRIDL (OX3604C) No vuela, afecta a los músculos torácicos	Eliminación	Efectivo	Efectivo	Similar a las especies silvestres	Disminución	Efectivo
Alimentación						Reduce la alimentación; machos más grandes	Reduce el número y el tamaño de las tomas de sangre. Proboscide flexible	
Dispersión		FsRIDL: No se alimenta ni vuela				Afecta a la locomoción		
Sobrevida		FsRIDL: Disminución		Sobrevida	Poco efecto: 10%	Reduce la sobrevivencia de los adultos un 50%	Reducción del 50% de los adultos y huevos	x
Sustitución de poblaciones					Infección en el 90% después de 3 años (Australia)		No es tan efectivo	x
Extinción o supresión de poblaciones	x	x	x	x				

Hay otros efectos sobre la oogénesis (generación de huevos), la alimentación y el desarrollo (sobrevida) de los vectores infectados, además del efecto más relevante, que es la interferencia en la infección por diversos patógenos.^{38,39} La diversidad de efectos se debe a que la infección por *Wolbachia* puede establecerse en tejidos como cerebro, tórax, glándulas salivales, músculos, abdomen, tejido graso, tejidos reproductivos y túbulos de Malpighi. La densidad de la infección depende de la cepa de *Wolbachia* y su ubicación estratégica en los tejidos del sistema digestivo (glándulas salivales e intestino medio) puede incidir sobre la competencia vectorial de las especies infectadas (cuadro 7).^{40,41,42,43}

Incompatibilidad citoplasmática

La incompatibilidad citoplasmática (IC) provoca la incompatibilidad entre los huevos y el esperma de la misma especie, lo cual conlleva la muerte de la progenie durante la etapa embrionaria. Las diferentes cepas y variantes de *Wolbachia* tienen capacidades diferentes para inducir la IC. Existen dos tipos de IC: por un lado, la que se produce entre el esperma infectado con *Wolbachia* y el huevo de hembra no infectada, que comporta la inviabilidad de los productos. Por el contrario, cuando el esperma infectado fertiliza un huevo infectado, la progenie es viable y la infección se transmite por vía transovárica, lo cual tiene mayor éxito reproductivo y una diseminación más rápida. Se cree que existe un umbral de infección bacteriana, pero este puede variar entre diferentes combinaciones de bacteria y hospedero: puede ser completa (toda la descendencia es inviable), como se supone que ocurre en los mosquitos, o parcial, como en las drosófilas (cuadro 6 y 7).⁴⁴

Un atributo fundamental para el éxito de esta infección es que los mosquitos machos liberados sean competitivos para superar a los machos silvestres. En estudios en *A. aegypti*, se observó que la infección con las cepas *wMel* y *wMelPop* de *Wolbachia* no reduce la competitividad de los machos criados en insectario, pero podrían aparecer efectos nocivos si la cepa de mosquitos liberados se adapta más a las condiciones de cría en el insectario que a las del lugar de liberación (naturales).

Intervenciones de reemplazo para promover la resistencia a la infección viral

Expresión de genes exógenos y modificación de genes propios

Las técnicas genéticas están diseñadas para inducir la expresión de genes exógenos o modificar genes propios (transgénesis), a fin de incrementar la respuesta inmune del vector o reemplazar a las poblaciones silvestres con mosquitos portadores del gen que les confiere resistencia a la infección (interferencia) de patógenos.⁴⁵

Las primeras estrategias empleaban elementos genéticos móviles (transposones) y los genes transformadores se incorporaban al genoma del mosquito.^{46,47} Una limitación importante de

las estrategias de transgénesis con genes virales es que las intervenciones de control efectivas deben inhibir todos los serotipos. Por otra parte, el gen transferido debe mantenerse, una vez introducido, en la población silvestre tratada.⁴⁸ Con fines experimentales, también se han generado mosquitos refractarios a la infección, insertándoles un transgén que modifica la fisiología de los tejidos infectados (glándulas salivales, hemolinfa, tubo digestivo, musculatura torácica o túbulos de Malpighi), con lo cual se inhibe o se restringe la reproducción del virus en los vectores.^{49,50}

Resistencia a la infección viral inducida con *Wolbachia*

La infección con *Wolbachia* en *A. aegypti* puede bloquear el desarrollo de los virus de RNA, como los virus del dengue (VDEN),⁵¹ el chikungunya (VCHIK),^{38,39} la fiebre de Zika (VZIK), la fiebre amarilla (VFA)⁵² y la encefalitis del Nilo Occidental (VNO).⁵³ Existe controversia sobre el mecanismo de acción de la infección bacteriana, ya que los genes de inmunidad inducidos por *Wolbachia* en el insecto no son los mismos que los inducidos por la infección viral. Los mecanismos fisiológicos que interfieren en la infección de patógenos en presencia de *Wolbachia* no están claros, aunque se han relacionado con la activación del sistema inmunitario del vector infectado, con una mayor melanización de la hemolinfa, que es responsable de encapsular los cuerpos extraños, y con la competencia de las células por los recursos necesarios para desempeñar diferentes funciones (ácidos grasos).⁵⁴

Existe variabilidad entre el efecto en la sobrevivencia del mosquito y la interferencia viral.⁵⁵ La cepa *wMelPop* tiene un efecto perjudicial en el desarrollo larvario, así como un buen efecto antiviral. Por el contrario, la cepa *wMel* tiene menor efecto sobre la calidad del mosquito y menor interferencia viral. Al parecer existe una correlación entre la densidad de la infección con *Wolbachia* y la resistencia a la infección viral, de modo que, para interferir en la transmisión de virus, la infección con *Wolbachia* debe alcanzar densidades altas en la población.⁵⁶ Las infecciones experimentales con *wMel* y *wMelPop* difieren en la densidad y distribución en los tejidos: *wMelPop* es la que alcanza mayores densidades y mayor inhibición de la infección por el VDEN.⁵⁷ La densidad de la infección con *Wolbachia* necesaria para bloquear la infección viral también puede tener efectos sobre la calidad del insecto, previniendo su diseminación en la población introducida.⁵⁸ Estas posibles limitaciones no parecen haberse producido en las intervenciones llevadas a cabo hasta ahora. En estudios con *wMel* en Australia, se observó que la reducción de la infección experimental en los tejidos fue similar en los mosquitos colectados en el campo que en los observados en el laboratorio e incluso que perdura cerca de dos años en las poblaciones infectadas.⁵⁹

La inducción de resistencia a las virosis gracias a la infección con varias cepas de *Wolbachia* transferidas de *Drosophila* a *Aedes* disminuye la sobrevivencia o suprime la infección con virus de RNA.^{60,61} También se han transferido *Wolbachia* del *A. albopictus* al *A. aegypti*, lo cual suprime

la replicación viral por otros mecanismos.⁶² Hasta ahora todas las cepas introducidas en *A. aegypti* han mostrado interferencia completa o casi completa y la transinfección de *A. aegypti* interfiere más con el patógeno que las infecciones naturales en *A. albopictus*.^{63,64}

Los efectos de *Wolbachia* sobre la competitividad de los mosquitos liberados puede disminuir la eficacia de las intervenciones, al prolongar el período de desarrollo o disminuir el tamaño de los adultos asociado a los cambios ambientales como la temperatura.⁶⁵ Las altas densidades y los períodos largos de sequía pueden incrementar los costos y el umbral de infección requerida para lograr la invasión de *wMelPop* en la población silvestre. La cepa *wMelPop* se disemina mejor en condiciones de desarrollo larvario rápido y a densidades bajas. De ahí, la importancia de contar con estudios de las características de los criaderos y de la dinámica poblacional de los mosquitos (cuadro 7).⁶⁶

Consideraciones para la introducción de innovaciones biológicas y genéticas para el control de *Aedes aegypti*

Las innovaciones tecnológicas (MMG y MBW) se han propuesto para el control de poblaciones de mosquitos que son vectores de enfermedades, como portadoras de genes para:

- 1) suprimir las poblaciones silvestres con genes letales;
- 2) reducir la sobrevivencia de los mosquitos;
- 3) reemplazar las poblaciones con mosquitos resistentes a las virosis.

El planteamiento de introducción propuesto para estas innovaciones sugiere un proceso lineal y simplificado de preparación, liberación, diseminación y sustitución de poblaciones silvestres por poblaciones manipuladas. Sin embargo, es importante destacar que en cada una de esas etapas existen procesos que, aun estando bien controlados, deben monitorearse y evaluarse rigurosamente para garantizar la continuidad de las etapas y el éxito final de las intervenciones. Dependiendo de la estrategia (supresión o reemplazo), los requisitos de monitoreo y evaluación se ajustarán a las características del producto (MMG o MBW) (cuadro 8).

Cuadro 8. Etapas de introducción y evaluación de MMG y MBW

Etapas	Preliberación	Liberación de MMG o MBW		Sustitución y mantenimiento	Evaluación
Procesos y población blanco	Experimental y preparación	Introducción	Diseminación y establecimiento	Supresión o sustitución de poblaciones silvestres	Impactos poblacionales y transmisión
Poblaciones silvestres	Monitoreo de poblaciones: tipología de criaderos, densidades, estacionalidad			Invasión de especies, migración	Resistencia al reemplazo
Poblaciones infectadas / manipuladas	Producción masiva / control del producto	Frecuencia y magnitud de liberación	Cobertura y sostenibilidad	Mantenimiento de la competencia vectorial (fecundidad, sobrevivencia, dispersión)	Disminución de la competencia y capacidad vectorial

Adaptado de: Ritchie S. Rear and release: a new paradigm for dengue control. *Austral Entomology* 2014; 53 (4): 363 367.

Etapa 1: Preliberación: experimental y preparación

En general, esta etapa se encuentra bien documentada y hay suficientes evidencias que permiten llevar estas innovaciones al campo y probar su efectividad en intervenciones de liberación masiva.⁶⁷ En esencia, ya existen los mecanismos para garantizar la generación de líneas de cepas seleccionadas como potencialmente útiles, con probados mecanismos de transfección de mosquitos y la definición de su potencial invasivo. Es indispensable sistematizar todas las evidencias sobre el desempeño del vector (*fitness*) manipulado o infectado, como tiempos de desarrollo, fecundidad, apareamiento, sobrevivencia, dispersión, etc., además de las evidencias que demuestran la interferencia con el patógeno en las poblaciones de especies introducidas.^{33,68,69}

Pruebas de eficacia: Evidencias para la toma de decisiones

Es indispensable que las industrias e instituciones de investigación promotoras de estas intervenciones cuenten ya con un dossier o portafolio que catalogue los métodos y procedimientos para sustentar estas innovaciones, que incluya los resultados de los estudios de bioseguridad y eficacia en el laboratorio bajo condiciones controladas, que describa los impactos y riesgos potenciales tanto en el ambiente como en la salud y que trace un plan de producción y aplicación, así como las estrategias de escalamiento y evaluación. En este plan debe señalarse el tipo de compromisos y el nivel de colaboración (técnica, académica, política) esperada con las autoridades nacionales, el financiamiento necesario y las agencias responsables de acompañar la introducción de dichas innovaciones. El proceso debe realizarse con transparencia y un plan de rendición de cuentas claras, que busquen ante todo ofrecer las evidencias, identificar los beneficios, señalar las limitaciones y proponer soluciones (cuadro 9).⁷⁰

Cuadro 9. Etapa de preliberación: actividades e indicadores

Experimental y preparación Procesos y actividades	Indicadores de proceso por tipo de actividad		
	Producción de MMG/MBW	Vigilancia entomológica	Vigilancia epidemiológica
	Programa de control	Servicios de salud	
Pruebas de eficacia, utilidad y logística Diagnóstico situacional	Capacidad producción masiva, logística de insumos Control de calidad de producto	Diagnóstico entomológico, monitoreo de densidades, estacionalidad, tipología y productividad de criaderos	Canal endémico por localidad, casos probables, confirmados, comunicados, serotipos y virus circulantes
Pruebas de seguridad: laboratorio	Infraestructura y capacitación del personal, plan de análisis, detección y manejo de riesgos	Vigilancia viroentomológica	Infraestructura y capacidad diagnóstica (NS1, IgM, IgG, PCR, aislamiento)
Pruebas de conveniencia, anuencia y aceptación	Legislación, regulación, sensibilización y aspectos éticos, culturales y sociales; convencimiento de actores Estrategia de comunicación	Percepción de riesgo, aceptación o resistencia de la comunidad	Percepción del riesgo de enfermedad Estudios de seroprevalencia
Pruebas de viabilidad: condiciones de receptividad	Selección de sitio y áreas de control, diseño y duración del estudio, aislamiento	Presencia del vector, condiciones de la población, morbimortalidad, coexistencia con programas de control, condiciones ambientales; modelos matemáticos	

Pruebas de logística: Capacidad de producción masiva

El proceso para iniciar la liberación de mosquitos (infectados con *Wolbachia* o manipulados genéticamente) empieza por su producción a gran escala. Para ello es indispensable que los países receptores estén en condiciones de financiar la técnica, incorporarla y adaptarla a su producción masiva. Dicho de otro modo, deben contar con un manual de procedimientos operativo, con la infraestructura y la tecnología necesarias (insectarios, laboratorios y fábricas de mosquitos) y con el equipamiento y el personal capacitado para producir, liberar, monitorear y evaluar el impacto de dichas intervenciones. Estas innovaciones exigen que el equipo esté integrado por varios especialistas, como entomólogos, epidemiólogos, científicos sociales, comunicólogos, biólogos moleculares, modeladores matemáticos y personal técnico de campo. Todos ellos deben estar vinculados a los programas locales de control de vectores, vigilancia epidemiológica y atención médica y a las comunidades receptoras (cuadro 9).

Logística de los insumos: Es indispensable definir la capacidad de producción de lotes de mosquitos y conocer las poblaciones de especies silvestres para estimar la razón de machos a liberar respecto a los machos silvestres contra los que van a competir. Esto requiere un trabajo entomológico previo incluido en el diagnóstico situacional de las áreas candidatas.

Pruebas de utilidad: Control de calidad del producto

La naturaleza dinámica de las innovaciones tecnológicas impone contar con mecanismos de control que evalúen continuamente el mantenimiento de los atributos biológicos o genéticos en las especies manipuladas, como también los cambios en las poblaciones de vectores silvestres. Esto será cada vez más importante a medida que se amplíe la escala de aplicación, cuando se requiera una mayor producción y los mecanismos de liberación se diversifiquen o intensifiquen en frecuencia. El tema central en este punto es que las intervenciones persiguen la modificación de una especie a nivel poblacional y para ello es preciso incorporar parámetros e indicadores que aseguren que los cambios poblacionales van en la dirección deseada (véase «Evaluación: medición de impacto»). No obstante, durante todo el proceso habrá que verificar la situación de control de la innovación (cuadro 9).

Pruebas de seguridad: Plan de análisis, detección y manejo de riesgos

A pesar de las bondades potenciales de estas innovaciones, es necesario diseñar un plan de análisis y monitoreo de riesgos, así como de manejo de contingencias, que se inicie desde el laboratorio, se lleve durante las pruebas de campo, incluya impactos ambientales y ecológicos adversos y considere la posición y percepción de las comunidades participantes. Este plan debe incluir los temas de detección y análisis del riesgo, desde la percepción de los usuarios (programas de control) o receptores (comunidades) hasta su prevención o gestión en caso de que aparezcan, pasando por la comunicación de las resoluciones tomadas al respecto. Para ello será necesario caracterizar los hechos que pueden desencadenar un efecto negativo, el nivel de exposición, el grado de incertidumbre sobre el efecto potencial, las acciones que deben tomarse para remediarlo y los mecanismos para mantener los riesgos dentro de lo aceptable (cuadro 9).⁷¹

Pruebas de conveniencia: Legislación y mecanismos normativos

De forma anticipada, debe establecerse que las nuevas estrategias se incluyan dentro del manejo integrado de vectores, es decir, que actúen en sinergia con las intervenciones tradicionales de disminución de criaderos, densidades larvianas y poblaciones adultas. Sin embargo, mientras que los procesos normativos para la introducción, la logística de aplicación, los diseños de evaluación y los aspectos de seguridad ya están establecidos y estandarizados para las intervenciones tradicionales, todas ellas necesitarían adaptarse o rediseñarse para las innovaciones en puerta.⁷² Si bien la mayoría de las innovaciones ya se encuentran listas para ser probadas sobre el terreno (fase III), existen consideraciones muy importantes en términos de la regulación necesaria⁷³ para aprobar la introducción de estas innovaciones y las que están por venir (cuadro 9).

Pruebas de anuencia: Aspectos éticos, sociales y culturales

Al introducir este tipo de innovaciones biotecnológicas, se corre el riesgo de pensar que los requisitos éticos se reducen al área de investigación (producto biológico) y que los aspectos sociales y culturales no son tan importantes, ya que los seres humanos no son el blanco directo de la intervención. Eso no excluye las responsabilidades éticas de los investigadores colaboradores con el proceso de aplicación y evaluación y con los residentes de las áreas a tratar.

El consentimiento informado de las personas que participen directa e indirectamente en la puesta en práctica de las innovaciones es un requisito mínimo, que debe ampliarse para atender las necesidades de las comunidades donde se lleven a cabo. Además, se deben cubrir ciertos requisitos sociales y culturales de las poblaciones con respecto a sus percepciones, expectativas y necesidades, no solo de información sino de evidencias y garantías de que su salud y la de sus familiares no se verán afectadas por la aplicación, el monitoreo y la evaluación de las innovaciones tecnológicas.⁷⁴

Si bien dichos aspectos están incluidos como elementos centrales de la fase de preparación, muchas de estas actividades tendrán que realizarse a lo largo del estudio e inclusive pueden ser más importantes a medida que avance la aplicación y se registren los resultados (cuadro 9).

Pruebas de aceptación: Sensibilización de los actores sociales

Un elemento central en la introducción de las innovaciones tecnológicas para el control de *A. aegypti* es romper con una larga trayectoria de campañas educativas e informativas y de esquemas de participación social que han promovido cambios (efectivos o no) en las prácticas individuales y comunitarias para eliminar, proteger o controlar la diversidad de criaderos del vector en los espacios domésticos y del entorno vecinal.

Convencer a los miembros de la comunidad de que ahora se van a liberar mosquitos encargados de hacer el “trabajo sucio”, cuando ya han interiorizado lo contrario, requiere de un extraordinario proceso de sensibilización y comunicación para hacerlos partícipes y colaboradores. La campaña de información y sensibilización debe explicar las características de las innovaciones (bondades y debilidades), los procedimientos de liberación (zonas, fechas, etc.), los riesgos potenciales y, sobre todo, las actividades donde la comunidad debe intervenir o participar (cuadro 9).

Esta campaña de sensibilización empieza por informar y entrenar a los diferentes actores de los distintos niveles (nacional o federal, estatal o provincial, municipal y local) y a los comunicadores responsables de replantear la estrategia de promoción de la salud y el portafolio de mensajes educativos, para incluir los beneficios del nuevo abordaje en el control. Se trata de una cuestión primordial, sobre todo si las innovaciones se introducen como

estrategias complementarias de las acciones promovidas por los programas tradicionales de control vectorial (eliminar y fumigar).

También se deben brindar distintas oportunidades para que la población plantee sus dudas y reciba respuestas, un paso fundamental para evitar la diseminación de rumores e información incorrecta.

Pruebas de viabilidad: Selección del sitio

El paso de las condiciones controladas en el laboratorio a las naturales, donde se espera lograr un desempeño similar al aplicado durante el desarrollo, exige demarcar las zonas más adecuadas para estimar los beneficios e impactos de las innovaciones tecnológicas, así como detectar los problemas operativos potenciales para la liberación, el monitoreo y la definición de éxito.⁷²

Existen dos condiciones generales para plantearse la introducción y evaluación de estas innovaciones en el campo:

- 1) condiciones de receptividad, que permitan introducir y evaluar las estrategias;
- 2) condiciones epidemiológicas, que permitan medir el efecto o impacto de las intervenciones propuestas, ya sean de supresión de las poblaciones del vector (entomológicas) o de interferencia sobre la infección o transmisión (epidemiológicas).

Dichas condiciones no son excluyentes, ya que ambas son necesarias para el buen desempeño de las intervenciones y la correcta evaluación del efecto.

Condiciones de receptividad

- Existencia de la población del vector blanco (*A. aegypti*) con nula o muy poca competencia por otra especie vectora (*A. albopictus*). En caso de que exista un vector secundario, el diseño de la evaluación deberá tener en cuenta su existencia y su función en la transmisión.
- Existencia de una estructura normativa oficial que avale la introducción de las nuevas herramientas de control vectorial.
- Compromiso político, financiero, académico y social para llevar a cabo las pruebas de campo.
- Infraestructura: personal bien capacitado, laboratorios de diagnóstico, insectario, insumos para la producción masiva y su distribución, liberación y monitoreo.
- Equipo de investigación local con experiencia (entomólogos, epidemiólogos, sociólogos, comunicólogos, etc.): una masa crítica comprometida para colaborar en la evaluación.
- Aprobación social e institucional que evite la resistencia a las pruebas de campo.
- Condiciones de seguridad local para garantizar el desarrollo de las investigaciones.

Condiciones epidemiológicas y entomológicas

Presencia del vector: Se requiere un diagnóstico actualizado y lo más preciso posible de las poblaciones del vector, los sitios de ovipostura, la productividad de los criaderos, la identificación de criaderos crípticos y más productivos, las densidades de huevos, larvas, pupas y adultos, sus variaciones estacionales, etc. En suma, es preciso disponer de un sistema de vigilancia e información entomológica continuo y bien organizado que permita monitorear los índices y variables entomológicas más importantes.

El grado de detalle necesario dependerá también del tipo de intervención (supresión o reemplazo). No obstante, se debe garantizar que, después de cierto tiempo, en ambos casos estemos identificando a la especie que nos interesa y que no haya migración de especies silvestres de las áreas colindantes cuando se mida la supresión de poblaciones, ni de vectores secundarios no afectados por la intervención cuando se valore el impacto en la transmisión.

Condiciones de la población: Es preciso estudiar las poblaciones humanas vulnerables a la infección en términos de distribución espacial (urbana o rural), pirámide poblacional (estructura por edad y sexo) y variables demográficas (densidad, educación, marginación, movilidad), así como el espacio que habitan (viviendas, saneamiento, ecología, etc.). Todas estas variables influyen en las condiciones necesarias para la proliferación del vector, aunque no vayan a verse modificadas por la intervención.

Presencia de la enfermedad: Partimos de la premisa de que las innovaciones tecnológicas propuestas tienen el objetivo de disminuir o eliminar la carga de morbilidad, por lo que es indispensable que las intervenciones se realicen en áreas endémicas y de alto riesgo a fin de poder estimar su impacto real. Para determinar un impacto en la transmisión (reemplazo de poblaciones), harán falta estudios de seroprevalencia previos o un sistema de vigilancia epidemiológica sólido que permita detectar oportunamente la presencia de casos en las diferentes situaciones de transmisión (antes, durante y después de la época de transmisión). La evaluación del impacto se complica si las áreas estudiadas son escenarios de transmisión de dengue donde coexisten o pueden introducirse el Zika y el chikungunya.

Una condición indispensable para medir los efectos en la transmisión es que el tamaño de la población intervenida sea muy grande (en extensión o densidad poblacional), para poder medir la repercusión sobre la enfermedad. El balance entre la densidad de población y los niveles de transmisión será determinante para definir el tipo de estudio, el tamaño muestral y el efecto esperado. Las áreas estudiadas (intervención y control) tienen que presentar niveles de transmisión importantes para poder medir el impacto. Estos elementos definen el nivel de cobertura que debe tener la intervención y la cantidad de mosquitos manipulados para cubrir el área, competir con las poblaciones silvestres, sobrevivir en el tiempo y eventualmente sustituir o suprimir a las poblaciones silvestres.

Duración de la intervención: Dependiendo del tipo de intervención (supresión o reemplazo) y el nivel de implantación (autolimitada o autosostenible), se debe definir una escala temporal para la duración del estudio. Si se trata de una intervención de supresión poblacional, se debe valorar: el tamaño del área a tratar; el tiempo necesario para liberar a la especie modificada y dejar que se establezca; y un período suficiente que permita medir la eliminación de la población silvestre del nicho que ocuparía la especie modificada. Una variable importante es la estacionalidad de las poblaciones silvestres, ya que pueden existir cambios importantes en la evaluación si no se tienen en cuenta, por ejemplo, los huevecillos en diapausa. De hecho, este aspecto es fundamental, ya que la intervención de supresión tendrá mayor repercusión si se aplica cuando las densidades son bajas, ya sea por estacionalidad o por los efectos de una intervención de control.

En el caso de una intervención que interfiera con la infección en el mosquito (reemplazo o interferencia), la medición del efecto en la transmisión exige un diseño apropiado al tipo de intervención que se desee medir. Ello implica, primero, contar con un área de control semejante al área tratada (en condiciones demográficas, epidemiológicas y ecológicas) y, segundo, conocer la inmunidad previa (seroprevalencia), la intensidad de transmisión que existe (estacionalidad) y los serotipos circulantes que puedan verse afectados con la innovación, ya sean MMG o MBW. Cabe esperar que este tipo de introducción incluya varios períodos de transmisión para su evaluación, no solo para contar con casos suficientes, sino para evaluar correctamente el impacto sostenido y que no se confunda con los ciclos de transmisión derivados de la inmunidad natural de la población.

Aislamiento: Esta condición geográfica es deseable tanto para las áreas intervenidas como para las de control, a fin de limitar las condiciones que confundan o contaminen los efectos deseados. En las estrategias de supresión de poblaciones a pequeña escala, se incrementa el impacto de la migración de especies silvestres, mientras que en estudios de mayor escala este efecto no sería tan notorio. En el caso de las estrategias de reemplazo (interferencia), además hay que valorar la movilidad de la población humana que pueda verse afectada (expuesta) fuera del área intervenida. Se puede plantear proteger las zonas intervenidas y de control con áreas de “amortiguamiento” (*buffer*), donde se realice un control vectorial dirigido para limitar la migración.

Coexistencia con programas de control locales: Dada la naturaleza endémica de las áreas a intervenir, es de esperar que, en situación de alerta epidemiológica, las acciones de control vectorial puedan enmascarar los efectos de la intervención, tanto de supresión como de reemplazo, ya que pueden alterar la sobrevivencia de las especies manipuladas biológica o genéticamente o incidir sobre la transmisión local. Las comunidades pueden haberse sensibilizado ya a las estrategias de control, y los programas no pueden mantenerse

indiferentes frente a una situación de alarma epidemiológica. Esta obligatoriedad debe estar establecida muy claramente antes de iniciar la intervención y tendrá que contemplarse tanto en las áreas intervenidas como en las áreas de control.

Condiciones ambientales adversas: En la medida de lo posible, a la hora de elegir la zona a tratar, se debe prestar atención a la presencia de fenómenos naturales (huracanes, inundaciones, etc.) o procesos migratorios que puedan alterar los resultados del estudio, así como a las condiciones de seguridad para el equipo de investigación (violencia, secuestros, etc.).

Modelaje matemático (pruebas de viabilidad): En vista de la poca información empírica disponible, será indispensable apoyarse en modelos matemáticos que describan escenarios y predigan el comportamiento de las poblaciones de mosquitos ante las estrategias de supresión o reemplazo de poblaciones y su vínculo con los parámetros entomológicos y epidemiológicos cuantificables.⁷⁵

Etapa 2: Liberación: introducción, diseminación y establecimiento

Introducción: Implementación y monitoreo

La introducción de estas innovaciones en el campo sería un proceso definido por el sitio seleccionado en términos de su tamaño geográfico y poblacional, el diseño de la evaluación y sus condiciones de aislamiento. La estrategia lógica de introducción sería escalonada en magnitud (áreas por cubrir), con la finalidad de ir calculando (controlando) los esfuerzos operativos y los requisitos de insumos, además de evaluar los efectos y las necesidades para un escalamiento mayor (cuadro 10).

Control vectorial previo a la intervención: El efecto de toda innovación tecnológica será mejor si se introduce cuando las densidades de la población son más bajas, ya sea por efecto estacional o por el rociado intensivo y extensivo. Esta ventaja operativa permite, además, liberar menos machos manipulados o infectados. Se propone programar la introducción momentos antes del efecto estacional o después de la intervención de control dirigida.^{15,76}

Cuadro 10. Introducción, diseminación y establecimiento: actividades e indicadores

Etapas	Indicadores de proceso por tipo de actividad		
	Producción de MMG o MBW	Vigilancia entomológica	Vigilancia epidemiológica
Introducción	Implementación	Monitoreo	
Intervención de control	Rociado y control previos a la intervención		Casos probables, confirmados, comunicados, brotes, serotipos circulantes
Cobertura (dónde)	Extensión y escalamiento	Encuestas entomológicas, pruebas de dispersión, ovipostura media, eclosión, tamaño, sobrevida Infección viral en adultos	
Estacionalidad (cuándo)	Oportunidad		
Frecuencia (cuántos)	Liberación masiva de mosquitos		
Monitoreo	Permanencia y continuidad de los MMG o MBW		
Cuestiones éticas, culturales y sociales	Indicadores de participación	Percepción de riesgo o protección con nuevas especies	Percepción del riesgo de enfermedad
Diseminación y establecimiento	Medición de impacto		
Rango de ocupación	Dispersión y longevidad (sobrevida) / densidades	Encuestas entomológicas, pruebas de dispersión, ovipostura media, eclosión, tamaño, sobrevida Infección viral en adultos	Casos probables, confirmados, comunicados, serotipos
Competitividad del mosquito	Apareamiento, fecundidad, interferencia		Número de conglomerados, número de casos por conglomerado, serotipos y virus circulantes
Reintroducción o invasión de especies silvestres	Expansión o liberación continua Permanencia y continuidad de los MMG o MBW		Seroconversión en cohortes, estudios de movilidad
Cuestiones éticas, culturales y sociales	Indicadores de participación	Percepción del riesgo con nuevas especies	Percepción del riesgo de enfermedad

Proceso de liberación (cómo, dónde, cuándo y cuántas veces)

Cada una de las estrategias señaladas requerirá de un número y una frecuencia de liberación diferentes, dependiendo de su potencial de penetración en las poblaciones silvestres y de su naturaleza autolimitante o autosostenible. Por ejemplo, las estrategias que alteran la proporción entre hembras y machos, producen esterilidad o inciden en la sobrevida requieren menos liberaciones que las que se establecen en el marco reproductivo de la población, como la infección con *Wolbachia*, las promotoras de la inmunidad, las que producen letalidad tardía o las que afectan a alguna función o al metabolismo del insecto (vuelo).¹

Para conocer el número necesario de mosquitos a liberar, es indispensable estimar el tamaño de las poblaciones silvestres, un parámetro no derivable de los indicadores entomológicos tradicionales. La razón de mosquitos macho manipulados respecto a los machos silvestres se puede calcular por densidad poblacional, área, viviendas o machos silvestres y dependerá también del modo de liberación (puntos de liberación fijos o aleatorios).^{31,77} No obstante, es un elemento que puede producir resistencia y falta de aceptación por parte de la comunidad, en vista de que su presencia como plaga (aún sin picar) sería más notable.

Otro parámetro importante es que la densidad de la infección con *Wolbachia* o del sistema reproductor del gen (*gene drive system*) en la población de mosquitos debe ser muy alta o estar bien establecida después de las liberaciones repetidas. Esto significa que la efectividad de la manipulación genética o de la infección con *Wolbachia* debe garantizar una rápida reproducción para suprimir o reemplazar a las poblaciones silvestres. Además, la liberación accidental de hembras debe ser baja (inferior al 2%) para no aumentar la transmisión viral.

También se puede optar por un equilibrio entre la densidad de mosquitos liberados, el tiempo necesario para su establecimiento (fijación) y el plazo definido para considerar que ha habido supresión o reemplazo. Todas estas condicionantes ameritan conocer la población de especies silvestres y los parámetros biológicos que no se encuentran disponibles para los programas de control.

Etapa 3: Sustitución y mantenimiento

El monitoreo continuo de las poblaciones vectoriales permitirá evaluar si los individuos introducidos se establecen y desplazan a las poblaciones silvestres. En las estrategias de supresión, el tiempo esperado debe empezar a visualizarse en meses y prolongarse para corroborar que las poblaciones hayan sido desplazadas, que no se hayan reintroducido por migración o invasión desde zonas aledañas y que ya no exista el vector dominante. En las estrategias de reemplazo, la situación se complica porque las poblaciones de mosquitos no desaparecen, sino que son sustituidas por otras que no son vectores eficientes. El parámetro de evaluación no es la presencia o ausencia del vector sino la capacidad de los mosquitos existentes de transmitir el dengue, el chikungunya y el Zika.

Esta evaluación requiere de diseños muy apropiados para medir el impacto en la transmisión, que incluyan, además, parámetros entomológicos como la dispersión de los vectores, la competitividad de los individuos en términos de apareamiento, las tasas de infección con *Wolbachia* o de la marca genética de resistencia a la infección, la invasión de cepas silvestres y la recuperación de poblaciones (cuadro 11).

Los efectos de las intervenciones con MMG o MBW no son inmediatos, ya que el abatimiento y, sobre todo, el reemplazo de poblaciones de mosquitos manipulados puede alcanzarse después de varias generaciones de mosquitos silvestres (semanas o meses), para luego mantenerse, lo cual requiere la liberación permanente del número adecuado de mosquitos modificados. Esto implica compromisos financieros a largo plazo para construir y mantener instalaciones e insumos de producción y para el personal administrativo y operativo.

La planeación administrativa, operativa y financiera deberá, pues, incluir consideraciones sobre la contribución esperada de la intervención en relación con las previsiones necesarias para mantener las otras intervenciones que se incluyan en el programa de manejo integral.

Cuadro 11. Etapa de sustitución o supresión: actividades e indicadores

Etapas	Indicadores de proceso por tipo de actividad		
	Producción de MMG o MBW	Vigilancia entomológica	Vigilancia epidemiológica
Sustitución o desvanecimiento		Medición de impacto	
Mantenimiento	Evolución de la efectividad	Encuestas entomológicas, pruebas de dispersión, oviposura media, eclosión, tamaño, sobrevida Infección viral en adultos	Casos probables, confirmados, comunicados, número de conglomerados y casos por conglomerado, serotipos, seroconversión en cohortes, estudios de movilidad
Reintroducción	Migración o densidades, permanencia, continuidad de los MMG o MBW		
Cuestiones éticas, culturales y sociales	Indicadores de aceptación, mensajes emitidos, etc.	Percepción de riesgo, protección con nuevas especies	Percepción de riesgo de enfermedad
Supresión			
Autosostenible o autolimitante	Análisis de efectividad, variación genética de densidades	Competencia vectorial, infección o marca genética en huevos y adultos,	Casos probables, confirmados, comunicados, número de localidades afectadas, serotipos
Cuestiones éticas, culturales y sociales	Indicadores de participación	Percepción de riesgo, satisfacción	Percepción del riesgo de enfermedad

Toma de decisiones para el escalamiento

Un elemento central durante todo el proceso de liberación y evaluación es la retroalimentación continua de los actores sociales y los responsables de tomar decisiones a nivel local. Los resultados del proceso de introducción, monitoreo y evaluación deberán ser compartidos (comunicados y avalados) por los responsables del programa y la comunidad. Del éxito de esta estrategia de comunicación dependerá la posibilidad de escalar las intervenciones a mayores niveles de aplicación.

Evaluación: medición de impacto

Las intervenciones en fase III de desarrollo necesitan demostrar que tienen valor en salud pública para poder ser recomendadas por la OMS. Es imperativo que se incluyan efectos epidemiológicos.⁷⁸

Las innovaciones que aquí se comentan son las que están en fase de aplicación de campo y, aunque no todas cuentan con evidencias de impacto epidemiológico, es deseable que en poco tiempo avancen hacia la presentación de sus resultados de impacto sobre la carga de enfermedad.

A pesar de que existen diversas revisiones sistemáticas sobre el efecto o impacto de un amplio espectro de intervenciones de control de *A. aegypti*, las conclusiones sobre su efectividad son contradictorias, mixtas o insuficientes. Esto se debe, entre otros factores, al blanco de la intervención, a la variedad de diseños de los estudios empleados, al tipo de intervención, su duración y cobertura, a la metodología utilizada para evaluarla y a los indicadores utilizados y su poco vínculo para medir el impacto en la reducción de la transmisión o incidencia de la enfermedad.

En muchos casos, las intervenciones evaluadas combinaron diferentes tipos de intervención con efectos diversos sobre las densidades vectoriales; sin embargo, las evidencias de impacto pocas veces están bien sustentadas o su calidad es cuestionable.^{79,80,81,82} Los problemas en común son la cobertura (espaciotemporal) insuficiente, la imprecisión de los procesos de medición y el tipo de evaluación de impacto, lo cual pone de manifiesto la urgente necesidad de mejorar los procesos para poder evaluar la introducción de nuevas intervenciones.⁷⁹

Los parámetros epidemiológicos más reconocidos son la incidencia de la enfermedad o infección, la mortalidad específica y la prevalencia de la infección en la población. En enfermedades como el dengue, con una proporción importante de casos asintomáticos y febriles inespecíficos, la seroconversión se considera un buen sustituto de infección o enfermedad en el pasado.⁸³ Es esencial contar con definiciones clínicas estandarizadas de caso y procedimientos de diagnóstico seroviroológico bien establecidos, que permitan comparar entre estudios y regiones.⁸⁴

Los indicadores entomológicos tradicionales no predicen bien el riesgo ni el impacto epidemiológico,⁸⁵ aunque son muy útiles para monitorear las densidades vectoriales, indispensables para evaluar las estrategias de supresión de poblaciones (TEI, mosquitos irradiados, IC por *Wolbachia*, genes letales) y, por lo mismo, debemos asegurar que la vigilancia entomológica tradicional esté bien cimentada en las zonas intervenidas. Dado que las encuestas larvianas no predicen bien las poblaciones de adultos (poca sensibilidad),⁸⁶ es necesario ampliar la gama de herramientas para incluir encuestas pupales⁸⁷ y densidades de adultos en las viviendas, complementando las lagunas en la información obtenida con los métodos tradicionales.^{88,89}

Una cuestión sustantiva es que, tratándose de intervenciones poblacionales (no individuales), sus efectos deben evaluarse a nivel poblacional. A diferencia de las intervenciones tradicionales, que actúan sobre diferentes poblaciones (individuos, familias, viviendas, barrios), las innovaciones tienen otro nivel de aplicación y, por lo mismo, se espera otro nivel de impacto.

De manera simplificada, el efecto de la intervención debe medirse en el nivel de aplicación realizado (efectos directos expuestos y no expuestos a la intervención), ya sean los individuos, la vivienda o el barrio. Las intervenciones poblacionales deben medir los efectos directos en el mismo nivel de aplicación (viviendas protegidas y no protegidas, áreas rociadas y no rociadas, etc.), aunque algunas pueden tener efectos indirectos de protección si la cobertura poblacional es muy extensa (cuadro 12).

A continuación se describen los estudios propuestos para evaluar el efecto sobre la transmisión.

Ensayos aleatorizados de conglomerados: Los ensayos de conglomerados (*clusters*) son la mejor opción metodológica, pero las poblaciones estudiadas tienen que ser grandes, el área geográfica tiene que ser amplia y la duración tiene que ser significativa para poder medir el efecto en la transmisión (dos ciclos de transmisión). Estos estudios son muy caros y exigen la conjunción de equipos de trabajo especializados. Se puede optar por la incorporación escalonada de la intervención en las áreas control (*step-wedge design*)⁹⁰ o por otras opciones de estudios observacionales que se complementen en conjunto y permitan contar con una evaluación más integrada del efecto de las intervenciones propuestas.^{91,92}

Cuadro 12. Nivel de aplicación de las intervenciones de control de *Aedes aegypti*

Tipo de intervención		Nivel de aplicación e impacto			
		Individuo	Vivienda	Barrio o colonia	Localidad
Físicas	Descacharrización		x	x	
	Saneamiento básico		x	x	x
	Promoción de la salud	x	x		
	Barreras físicas: mosquiteros, cortinas		x		
Químicas	Larvicidas químicos		x		
	Repelentes (individual o espacial)	x	x		
	Rociado intradomiciliario		x		
	Nebulizaciones		x	x	
Combinadas/insecticidas	Mallas y cortinas		x		
	Ropa	x			
Biológicas	Copépodos		x	x	
	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>		x	x	
	Peces		x	x	
	<i>Wolbachia</i>				x
Mosquitos manipulados	Modificados genéticamente				x
	Mosquitos irradiados				x

Guía para llevar a cabo estudios de eficacia de las intervenciones de control

La OMS ha confeccionado una guía detallada para evaluar la eficacia de las medidas de control.⁷⁸ A continuación se desglosan (adaptan) los principales pasos para evaluar las innovaciones tecnológicas propuestas. Aunque no es una guía exhaustiva, sí se incluyen los pasos que deben seguirse para evaluar las innovaciones de supresión y de reemplazo o interferencia de la infección (cuadro 13).

Cuadro 13. Evaluación de la eficacia de la innovaciones para el control del *Aedes aegypti*

Pasos	Supresión	Reemplazo o interferencia de la infección
Registrar el protocolo y garantizar la revisión ética y administrativa	Indispensable	Indispensable
Seleccionar la estrategia de control	Tipo de intervención, población (intervenida y control) con las medidas de resultados entomológicas	Tipo de intervención, población (intervenida y control) con las medidas epidemiológicas y entomológicas
Unidades de análisis	Nivel de aplicación (barrio, localidad)	Localidad, área geográfica
Diseño de estudio	<i>Pre-post</i> , series de tiempo, transversales, ecológicos	Ensayos aleatorizados controlados (conglomerados), incorporación escalonada, cohortes, series de tiempo
Tamaño muestral	Según la localidad seleccionada	Áreas extensas de alta transmisión para medir el impacto en la enfermedad o infección
Control de variables externas	Invasión desde áreas aledañas, migración de especies	Movilidad humana y migración de especies
Implementación	Producción, liberación y mantenimiento de la especie manipulada	Introducción, reemplazo, mantenimiento y evaluación en transmisión
Cómo medir resultados	Indicadores entomológicos, frecuencia y número de mosquitos liberados, seguimiento	Indicadores entomológicos y epidemiológicos, monitoreo de efecto durante dos ciclos de transmisión
Sistema de información	Sistema de vigilancia entomológica	Sistema de vigilancia entomológica y epidemiológica
Infraestructura	Insectarios, laboratorio de entomología y diagnóstico (PCR en mosquitos, biología molecular)	Laboratorio diagnóstico (serología, aislamiento viral, PCR y biología molecular)
Personal	Entomología y personal técnico de campo bien capacitado	Epidemiología, entomología y personal médico, paramédico y técnico de campo bien capacitado

Adaptado de: Wilson A, Lindsay S, et al. *How to design vector control efficacy trials: Guidance on phase III vector control field trial design provided by the Vector Control Advisory Group*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2017.

Indicadores entomológicos

En el caso de las estrategias de supresión de poblaciones, los parámetros entomológicos serán los más prominentes para medir el ritmo de la eliminación y su mantenimiento en el tiempo. Por otro lado, la evaluación tendrá que ser poblacional (densidad de huevos, larvas y adultos en el tiempo), pero también específica de los estadios, dependiendo del tipo de manipulación genética o biológica: esterilidad, letalidad temprana o tardía, dispersión (vuelo), alimentación, etc.

Si solo se alcanza la reducción de las poblaciones de vectores, debemos medir el umbral de densidad vectorial que no permita la transmisión de la infección por VDEN o que permita estimar las tasas de reducción de la infección en las poblaciones intervenidas, en comparación con las áreas de control (cuadro 14).⁹³

Cuadro 14. Evaluación de las estrategias de supresión y reemplazo de poblaciones de *Aedes aegypti* (indicadores entomológicos)

Fase o estadio biológico-funcional Competencia vectorial	Indicadores	Estrategia	
		Supresión / eliminación	Reemplazo / interferencia infección
Entomología tradicional			
Huevo	Oviposición	Deseable	Opcional
Larva	IR, IV, IB, índices de 3.º y 4.º estadios	Indispensable	Indispensable
Pupa	Encuestas pupales por individuo, vivienda, área	Deseable	Opcional
Adulto	Índice de adultos por vivienda (<i>A. aegypti</i>) Hembras por vivienda	Opcional	Deseable
Entomología proactiva			
Tasa de paridad	Razón nulíparas / multíparas	Deseable	Opcional
Fecundidad (producción)	Media de huevecillos por hembra	Deseable	Opcional
Fertilidad (eclosión)	Porcentaje de huevos que eclosionan por unidad de tiempo	Deseable	Opcional
Sobrevida	Media de edad (días)	-	Deseable
Dispersión	Competitividad (rango de vuelo)	Deseable	Opcional
Competencia vectorial			
Tasa de infección viral Vía intratorácica o alimentados con sangre infectada	Porcentaje de mosquitos hembra infectados	-	Indispensable
Densidad de infección con <i>Wolbachia</i>	Porcentaje de huevos o adultos infectados	Deseable	Indispensable
Marca genética	Porcentaje de huevos o adultos con marca genética	Deseable	Indispensable

Evaluación de la interferencia en la infección

Para evaluar las estrategias de reemplazo, serán necesarios ambos indicadores: entomológicos y epidemiológicos. En el caso de los primeros, no es suficiente contabilizar la presencia o ausencia ni la densidad de huevos, larvas, pupas o adultos, sino que habrá que investigar la progenie o las cepas de donde provienen dichas poblaciones (silvestres o manipuladas) y su nivel de penetración en la población, así como su desempeño en términos de ovipostura, eclosión de huevecillos, tamaño de larvas y pupas, apareamiento con especies silvestres, fecundidad, rango de dispersión, edad (sobrevida), tasa de picadura, competencia vectorial (infección de hembras adultas o huevecillos), etc.

Si se propone el reemplazo o interferencia en la infección, se necesitan parámetros entomológicos que midan la competencia vectorial, para lo cual también se requiere de un buen laboratorio que realice las pruebas de biología molecular que demuestren la infección en las hembras adultas (cuadros 14 y 15).

Cuadro 15. Intervenciones de control e indicadores de impacto epidemiológico según el tipo de vigilancia epidemiológica

Tipo de vigilancia		Pasiva		Activa		Proactiva	
Tipo de intervención		Casos probables	Casos positivos	Casos secundarios en familias de casos positivos	Clusters de casos positivos	Seroconversión (cohortes)	Virus en mosquitos
Físicas	Descacharrización	x	x				
	Saneamiento básico	x	x				
	Promoción de la salud	x	x				
	Barreras físicas: mosquiteros, cortinas	x	x	x			
Químicas	Temefós	x	x	x			
	Repelentes	x	x (individual)	x (espacial)			
	Rociado intradomiciliario	x	x	x	x		x
	Nebulizaciones	x	x	x	x		x
Combinadas/ insecticidas	Mallas y cortinas	x	x	x			x
	Ropa	x	x				
Biológicas	Copéodos	x	x	x			
	<i>B. thuringiensis var. israelensis</i>	x	x	x			
	Peces	x	x	x			
	<i>Wolbachia</i>	x	x	x	x	x	x
Manipulación de mosquitos	Modificados genéticamente	x	x	x	x	x	x
	Mosquitos irradiados	x	x	x	x	x	x

Estimación de los costos de las innovaciones de control

La estimación de los costos de las intervenciones de control contra el *Aedes aegypti* es una tarea compleja, atendiendo a la diversidad de opciones de control (físicas, biológicas, químicas, educativas), los recursos técnicos y humanos involucrados, la cobertura geográfica, la necesidad de repetir su aplicación y la efectividad heterogénea debida a los efectos transitorios de cada una de las intervenciones.

Por otro lado, el costo de los programas de control ha aumentado debido al incremento en la plantilla de brigadistas, técnicos de programa, insumos para el control vectorial y requisitos para sostener los sistemas de vigilancia entomológica y epidemiológica necesarios para monitorear el impacto deseado.

En las últimas décadas se han publicado numerosos estudios de los costos asociados a la carga del dengue a diferentes niveles (local, nacional, regional⁹⁴ o global⁹⁵), que utilizan diferentes métricas de daño (casos de dengue ambulatorios⁹⁶ u hospitalizados) y de costos (directos e indirectos). Las estimaciones son variables debido a los métodos de cálculo y el peso que se otorga a los casos existentes (infectados o comunicados),⁹⁷ el infrarregistro estimado, la severidad de la enfermedad y la discapacidad asociada.^{98,99}

En América Latina, se han realizado ejercicios de estimación de costos en el Brasil,¹⁰⁰ Cuba,¹⁰¹ Nicaragua,¹⁰² Panamá,¹⁰³ Puerto Rico¹⁰⁴ y México,¹⁰⁵ que se concentran en la estimación de los costos directos e indirectos de la enfermedad, pero pocos incluyen los costos asociados a la prevención, la vigilancia y, sobre todo, las medidas de control.

Las aproximaciones se limitan a estimar el costo de las epidemias en una localidad o país, que puede oscilar entre US\$ 0,3 millones (en Santiago de Cuba) y US\$ 103 millones (en todo el país), y de US\$ 299 a US\$ 594 por caso,¹⁰⁶ mientras que en Nicaragua el costo de una epidemia se estimó en US\$ 2,7 millones y el costo por caso en US\$ 44. En Puerto Rico, los costos de la epidemia fueron de US\$ 1,2 millones y entre US\$ 23 y US\$ 36 por caso.

En Panamá, los costos directos e indirectos de la epidemia —incluyendo los servicios de vigilancia, prevención y control— fueron de US\$ 16,9 millones, con un costo aproximado de US\$ 332 por caso ambulatorio y US\$ 1.065 por caso hospitalizado.

La experiencia demuestra que estos estudios, por lo general, no estiman la operación de los programas de control vectorial, que implica un costo sustantivo. Algunas evidencias apuntan a que incorporar la vigilancia, la prevención y el control del vector puede incrementar los costos en un 39% en Tailandia, un 43% en Panamá y hasta un 49% en Puerto Rico.¹⁰⁷

Para el caso de las innovaciones tecnológicas sustentadas en la manipulación genética o en *Wolbachia*, se incorporan nuevas variantes para la estimación del costo: la construcción de las fábricas para producir en masa estos insectos; los materiales y recursos para su liberación repetida; el monitoreo continuo de su penetración y del reemplazo de poblaciones nativas; y la evaluación del impacto epidemiológico.

El costo medio estimado de producir los mosquitos irradiados o con genes letales, por ejemplo, es de US\$ 813 por millón de insectos liberados, mientras que el costo por caso prevenido es de entre US\$ 20 y US\$ 30 si la razón de mosquitos liberados por persona es de 10 : 1. Estas estimaciones asumen que la letalidad y la competitividad de los mosquitos liberados son muy altas y sostenidas durante el período de intervención, y que los descensos en estos parámetros implicarían la necesidad de liberaciones mayores, lo que necesariamente incrementaría los costos. Tampoco se incluye la vigilancia entomológica necesaria para monitorear el impacto. En contraste, en el estudio de Suaya et al. (2009), el costo medio de la atención de un caso de dengue varía de US\$ 86 a US\$ 190 y puede ascender, en los casos más severos, a entre US\$ 357 y US\$ 793.²⁵

Estos datos sugieren que las innovaciones tecnológicas pueden contener los costos de intervención de manera sustantiva. Sin embargo, los modelos necesitan ajustarse a los contextos de países que carecen de la infraestructura básica para lograr los niveles requeridos de producción masiva de mosquitos y no cuentan con una plantilla de profesionistas especializados para monitorear y evaluar estas intervenciones.

Los países que decidan incorporar estas innovaciones tecnológicas a sus programas de control tendrán que asumir estos costos adicionales (que no serán bajos) y mantenerlos en paralelo a los costos del programa de control vectorial tradicional. En vista de que estas intervenciones se consideran un complemento y no un sustituto del programa de control, será muy importante, además, generar la información epidemiológica, entomológica y económica relevante para definir los escenarios donde se puedan implementar, escalar, monitorear y evaluar adecuadamente.

Estas necesidades de información también llevan implícitos costos adicionales para los países y no se encuentran disponibles todavía en ningún modelo de aplicación de estas innovaciones.

Consideraciones finales

Los beneficios asociados a estas innovaciones son diversos:

- son respetuosas con el ambiente, ya que, a diferencia de los insecticidas, no dejan residuos tóxicos;
- su especificidad las hace más efectivas, ya que afectan a un vector dominante en la transmisión de una infección;
- son relativamente fáciles de producir a gran escala;
- su sostenibilidad en el tiempo y la ausencia de resistencia las coloca en una posición ventajosa con respecto a las herramientas tradicionales de control;
- no requieren del acceso a las viviendas (no son invasivas), a diferencia de las demás intervenciones, cosa que las hace todavía más competitivas para el control.

La liberación de machos adultos modificados genéticamente o infectados tiene un beneficio adicional, ya que no pican a la población, no molestan ni transmiten la infección.

La introducción de otras innovaciones tecnológicas que prometen mayor cobertura, impacto y sostenibilidad son propuestas para mejorar la efectividad y durabilidad de las intervenciones. Estas innovaciones también plantean dificultades de organización y capacidad operativa que deben atenderse antes, durante y después de su introducción como medidas de control.

Un problema adicional es la combinación de estrategias (no aún su integración) y la evaluación diferenciada de su impacto, ya que la intervención puede modificar la disponibilidad física de los criaderos (descacharrización) pero quizá no incida sobre la disminución de las densidades vectoriales ni controle necesariamente los criaderos más estables y productivos.

Por otro lado, no está demostrado que la disminución de las densidades de huevecillos o larvas lograda con las intervenciones disponibles se correlacione con el descenso de la transmisión. No obstante, el uso combinado de viejas estrategias y la incorporación de nuevas herramientas de control vectorial impone varios desafíos:

- 1) la utilización de indicadores que midan de forma específica la densidad de mosquitos en todas sus etapas de desarrollo (huevo, larva, pupa o adulto), para evaluar de forma concreta las intervenciones disponibles;
- 2) la definición de los umbrales de riesgo;
- 3) la capacidad técnica de los programas (recursos humanos, equipamiento, financiamiento) para llevarlas a cabo con la frecuencia y cobertura necesarias para su correcta valoración.^{108,109}

Las evidencias apuntan a considerar las innovaciones tecnológicas como herramientas complementarias a los programas de control vectorial, cuya introducción sería escalonada y en emplazamientos bien seleccionados, hasta recoger las evidencias de impacto sostenido y reducir los riesgos potenciales en la evolución de la especie manipulada y de la marca genética o biológica introducida.

Conviene analizar y definir la función de cada una de las estrategias disponibles y de las innovaciones tecnológicas, su nivel de participación y los mecanismos de evaluación para su introducción, monitoreo y evaluación. Siguiendo la propuesta de los ejes rectores del documento técnico, podríamos concluir:

- Contamos con las evidencias para determinar que son herramientas eficaces: las evidencias no son concluyentes pero sí son sugestivas de su potencial.
- Las innovaciones tecnológicas serán herramientas complementarias: el problema es definir cómo se integran a los programas tradicionales de control.
- Los programas de control deben tener la capacidad de ponerlas en práctica y evaluarlas: hay amplias necesidades de capacitación, organización y operación para incorporarlas en situaciones específicas.
- Dónde y cuándo debe valorarse su introducción y escalamiento: se necesitan muchas condiciones para garantizar su aplicación satisfactoria, desde el compromiso político hasta la aceptación de las comunidades. Hay muchos aspectos técnicos y operativos que deben garantizarse antes de pensar en su introducción.

Referencias

1. McGraw EA, O'Neill SL. Beyond insecticides: new thinking on an ancient problem. *Nature Reviews, Microbiology* 2013; 11 (3): 181-193.
2. Scott TW, Takken W, Knols BG, Boëte C. The ecology of genetically modified mosquitoes. *Science* 2002; 298 (5591): 117-119.
3. Stanaway JD, Shepard DS, Undurraga EA, Halasa YA, Coffeng LE, et al. The global burden of dengue: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Infect Dis* 2016; 16 (6): 712-723.
4. Weaver S, Forrester NL. Chikungunya: Evolutionary history and recent epidemic spread. *Antiviral Research* 2015; 120: 32-39.
5. Bogoch II, Brady OJ, Kraemer MUG, German M, Creatore MI, Kulkarni MA, et al. Anticipating the international spread of Zika virus from Brazil. *Lancet* 2016; 387 (10016): 335-336.
6. Vasconcelos PF, Calisher CH. Emergence of Human Arboviral Diseases in the Americas, 2000-2016. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2016; 16 (5): 295-301.
7. Hotez PJ, Murray KO. Dengue, West Nile virus, chikungunya, Zika — and now Mayaro? *PLoS Negl Trop Dis* 2017; 11 (8): e0005462.
8. Slosek J. *Aedes aegypti* mosquitoes in the Americas: a review of their interactions with the human population. *Soc Sci Med* 1986; 23 (3): 249-257.
9. Messina JP, Brady OJ, Scott TW, Zou C, Pigott DM, Duda KA, et al. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *Trends Microbiol* 2014; 22 (3): 138-146.
10. Organización Mundial de la Salud. *Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: Second WHO report on neglected diseases*. Ginebra: OMS; 2013. <http://www.who.int/iris/handle/10665/77950>
11. Organización Panamericana de la Salud. The feasibility of eradicating *Aedes aegypti* in the Americas. *Rev Panam Salud Publica* 1997; 1 (1): 381-388.
12. Brathwaite Dick O, San Martín JL, Montoya RH, Del Diego J, Zambrano B, Dayan GH. Review: The History of Dengue Outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg* 2012; 87 (4): 584-593.

13. Spiegel J, Bennett S, Hattersley L, Hayden M, Kittayapong P, Nalim S, et al. Barriers and Bridges to Prevention and Control of Dengue: The Need for a Social-Ecological Approach. *EcoHealth* 2005; 2 (4): 273-290.
14. Organización Mundial de la Salud. *Global Strategic Framework for Integrated Vector Management*. Ginebra: OMS; 2004. http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_CDS_CPE_PVC_2004_10.pdf
15. Wilke AB, Marrelli MT. Genetic Control of Mosquitoes: population suppression strategies. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2012; 54 (5): 287-292.
16. Knippling EF. Possibilities of Insect Control or Eradication Through the Use of Sexually Sterile Males. *Parasitology* 1955; 32 (3): 207-218.
17. Alphey L, Benedict M, Bellini R, Clark GG, Dame DA, Service MW, et al. Sterile-insect methods for control of mosquito-borne diseases: an analysis. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010; 10 (3): 295-311.
18. Bakri A, Mehta K, Lance DR. Sterilizing insects with ionizing radiation. En: Dyck VA, Hendrichs J, Robinson AS (eds.). *Sterile insect technique. Principles and practice in area-wide integrated pest management*. Países Bajos: Springer; 2005; pp. 233-68.
19. Andreasen MH, Curtis CF. Optimal life stage for radiation sterilization of *Anopheles* males and their fitness for release. *Med Vet Entomol* 2005; 19 (3): 238-244.
20. Helinski ME, Knols BG. Mating competitiveness of male *Anopheles arabiensis* mosquitoes irradiated with a partially or fully sterilizing dose in small and large laboratory cages. *J Med Entomol* 2008; 45 (4): 698-705.
21. Windbichler N, Papathanos PA, Crisanti A. Targeting the X chromosome during spermatogenesis induces Y chromosome transmission ratio distortion and early dominant embryo lethality in *Anopheles gambiae*. *PLoS Genet* 2008; 4 (12): e1000291.
22. Deredec A, Burt A, Godfray HC. Population genetics of using homing endonuclease genes in vector and pest management. *Genetics* 2008; 179 (4): 2013-2026.
23. Phuc HK, Andreasen MH, Burton RS, Vass C, Epton MJ, Pape G, et al. Late-acting dominant lethal genetic systems and mosquito control. *BMC Biol* 2007; 5: 11.
24. Thomas DD, Donnelly CA, Wood RJ, Alphey LS. Insect population control using a dominant, repressible, lethal genetic system. *Science* 2000; 287 (5462): 2474-2476.
25. Alphey N, Alphey L, Bonsall MB. A Model Framework to Estimate Impact and Cost of Genetics-Based Sterile Insect Methods for Dengue Vector Control. *PLoS ONE* 2011; 6 (10): e25384.
26. Schliekelman P, Gould F. Pest control by the release of insects carrying a female-killing allele on multiple loci. *J Econ Entomol* 2000; 93 (6): 1566-1579.
27. Labbé GM, Scaife S, Morgan SA, Curtis ZH, Alphey L. Female-specific flightless (fsRIDL) phenotype for control of *Aedes albopictus*. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6 (7): e1724.
28. Fu G, Lees RS, Nimmo D, Aw D, Jin L, Gray P, et al. Female-specific flightless phenotype for mosquito control. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107 (10): 4550-4554.

29. Wise de Valdez MR, Nimmo D, Betz J, Hong-Fei G, James A, Alphey L, et al. Genetic elimination of dengue vector mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 (12): 4772-4775.
30. Harris AF, Nimmo D, McKemey AR, Kelly N, Scaife S, Donnelly CA, et al. Field performance of engineered male mosquitoes. *Nat Biotechnol* 2011; 29: 1034-1037.
31. Lacroix R, McKemey AR, Raduan N, Kwee Wee L, Hong Ming W, et al. Open Field Release of Genetically Engineered Sterile Male *Aedes aegypti* in Malaysia. *PLoS ONE* 2012; 7 (8): e42771.
32. Carvalho DO, McKemey AR, Garziera L, Lacroix R, Donnelly CA, Alphey L, et al. Suppression of a Field Population of *Aedes aegypti* in Brazil by Sustained Release of Transgenic Male Mosquitoes. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9 (7): e0003864.
33. Caragata EP, Dutra HLC, Moreira LA. Exploiting Intimate Relationships: Controlling Mosquito-Transmitted Disease with Wolbachia. *Trends in Parasitology* 2016; 32 (3): 207-218.
34. Werren JH, Zhang W, Guo LR. Evolution and phylogeny of Wolbachia: reproductive parasites of arthropods. *Proc Biol Sci* 1995; 261 (1360): 55-63.
35. Rousset F, Bouchon D, Pintureau B, Juchault P, Solignac M. Wolbachia endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Proc Biol Sci* 1992; 250 (1328): 91-98.
36. Jiggins FM, Hurst GDD, Majerus MEN. Sex ratio distortion in *Acraea encedon* is caused by a male-killing bacterium. *Heredity* 1998; 81: 87-91.
37. Hurst GDD. Wolbachia, cytoplasmic incompatibility, and the evolution of eusociality. *J Theor Biol* 1997; 184: 99-100.
38. Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, et al. A Wolbachia symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. *Cell* 2009; 24; 139 (7): 1268-1278.
39. Aliota MT, Walker EC, Uribe Yepes A, Dario Velez I, Christensen BM, Osorio JE. The wMel Strain of Wolbachia Reduces Transmission of Chikungunya Virus in *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10 (4): e0004677.
40. Stouthamer R1, Breeuwer JA, Hurst GD. Wolbachia pipientis: microbial manipulator of arthropod reproduction. *Annu Rev Microbiol* 1999; 53: 71-102.
41. Ritchie S. Rear and release: a new paradigm for dengue control. *Austral Entomology* 2014; 53 (4): 363-367.
42. Rainey SM, Shah P, Kohl A, Dietrich I. Understanding the Wolbachia-mediated inhibition of arboviruses in mosquitoes: progress and challenges. *J Gen Virol* 2014; 95 (Pt 3): 517-530.
43. Joubert DA, Walker T, Carrington LB, De Bruyne JT, Kien DHT, Hoang NLT, et al. Establishment of a Wolbachia Superinfection in *Aedes aegypti* Mosquitoes as a Potential Approach for Future Resistance Management. *PLoS Pathog* 2016; 12 (2): e1005434.
44. Iturbe-Ormaetxe I, Walker T, O'Neill S. Wolbachia and the biological control of mosquito-borne disease, *EMBO Reports* 2011; 12 (6): 508-518.

45. Olson KE, Adelman ZN, Travanty EA, Sánchez-Vargas I, Beaty BJ, Blair CD. Developing arbovirus resistance in mosquitoes. *Insect Biochem Mol Biol* 2002; 32 (10): 1333-1343.
46. Franz AW, Sánchez-Vargas I, Adelman ZN, Blair CD, Beaty BJ, James AA, et al. Engineering RNA interference-based resistance to dengue virus type 2 in genetically modified *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103 (11): 4198-4203.
47. Mathur G, Sánchez-Vargas I, Álvarez D, Olson KE, Marinotti O, James AA. Transgene-mediated suppression of dengue viruses in the salivary glands of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol* 2010; 19: 753-763.
48. Franz AW, Sánchez-Vargas I, Piper J, Smith MR, Khoo CC, James AA, et al. Stability and loss of a virus resistance phenotype over time in transgenic mosquitoes harbouring an antiviral effector gene. *Insect Mol Biol* 2009; 18 (5): 661-672.
49. Sperança MA, Capurro ML. Perspectives in the control of infectious diseases by transgenic mosquitoes in the post-genomic era – a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102 (4): 425-433.
50. Raikhel AS, Kokoza VA, Zhu J, Martin D, Wang SF, Li C, et al. Molecular biology of mosquito vitellogenesis: from basic studies to genetic engineering of antipathogen immunity. *Insect Biochem Mol Biol* 2002; 32 (10): 1275-1286.
51. Frentiu FD, Zakir T, Walker T, Popovici J, Pyke AT, Van den Hurk A, et al. Limited Dengue Virus Replication in Field-Collected *Aedes aegypti* Mosquitoes Infected with *Wolbachia*. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8 (2): e2688.
52. Van den Hurk AF, Hall-Mendelin S, Pyke AT, Frentiu FD, McElroy K, et al. Impact of *Wolbachia* on Infection with Chikungunya and Yellow Fever Viruses in the Mosquito Vector *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6 (11): e1892.
53. Glaser RL, Meola MA. The native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila melanogaster* and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to West Nile virus infection. *PLoS ONE* 2010; 5 (8): e11977.
54. Rance E, Ye YH, Woolfit M, McGraw EA, O'Neill SL. The Relative Importance of Innate Immune Priming in *Wolbachia*-Mediated Dengue Interference. *PLoS Pathog* 2012; 8(2): e1002548.
55. Segoli M, Hoffmann AA, Lloyd J, Omodei GJ, Ritchie SA. The Effect of Virus-Blocking *Wolbachia* on Male Competitiveness of the Dengue Vector Mosquito, *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8 (12): e3294.
56. Lu P, Bian G, Pan X, Xi Z (2012). *Wolbachia* Induces Density-Dependent Inhibition to Dengue Virus in Mosquito Cells. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6 (7): e1754.
57. Blagrove MS, Arias-Goeta C, Failloux AB, Sinkins SP. *Wolbachia* strain wMel induces cytoplasmic incompatibility and blocks dengue transmission in *Aedes albopictus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109 (1): 255-260.
58. Martínez J, Longdon B, Bauer S, Chan YS, Miller WJ, et al. Symbionts Commonly Provide Broad Spectrum Resistance to Viruses in Insects: A Comparative Analysis of *Wolbachia* Strains. *PLoS Pathog* 2014; 10 (9): e1004369.

59. Hoffmann AA, Iturbe-Ormaetxe I, Callahan AG, Phillips BL, Billington K, et al. Stability of the wMel *Wolbachia* Infection following Invasion into *Aedes aegypti* Populations. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8 (9): e3115.
60. McMeniman CJ, Lane RV, Cass BN, Fong AW, Sidhu M, Wang YF, et al. Stable Introduction of a Life-Shortening *Wolbachia* Infection into the Mosquito *Aedes aegypti*. *Science* 2009; 323 (5910): 141-144.
61. Kambris Z, Cook PE, Phuc HK, Sinkins SP. Immune activation by life-shortening *Wolbachia* and reduced filarial competence in mosquitoes. *Science* 2009; 326 (5949): 134-136.
62. Pan X, Zhou G, Wu J, Bian G, Lu P, Raikhel AS, et al. *Wolbachia* induces reactive oxygen species (ROS)-dependent activation of the Toll pathway to control dengue virus in the mosquito *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109 (1): E23-31.
63. Xi Z, Khoo CCH, Dobson SL. Interspecific transfer of *Wolbachia* into the mosquito disease vector *Aedes albopictus*. *Proc Biol Sci* 2006; 273 (1592): 1317-1322.
64. Yeap HL, Mee P, Walker T, Weeks AR, O'Neill SL, Johnson P, et al. Dynamics of the “popcorn” *Wolbachia* infection in outbred *Aedes aegypti* informs prospects for mosquito vector control. *Genetics* 2011; 187 (2): 583-595.
65. Ross PA, Wiwatanaratnabutr I, Axford JK, White VL, Endersby-Harshman NM, Hoffmann AA. *Wolbachia* Infections in *Aedes aegypti* Differ Markedly in Their Response to Cyclical Heat Stress. *PLoS Pathog* 2017; 13 (1): e1006006.
66. Yeap HL, Axford JK, Popovici J, Endersby NM, Iturbe-Ormaetxe I, Ritchie SA et al. Assessing quality of life-shortening *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* mosquitoes in the field based on capture rates and morphometric assessments. *Parasites & Vectors* 2014, 7: 58.
67. Benedict M, D'Abbs P, Dobson S, Gottlieb M, Harrington L, Higgs S, et al. Guidance for Contained Field Trials of Vector Mosquitoes Engineered to Contain a Gene Drive System: Recommendations of a Scientific Working Group. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008; 8 (2): 127-166.
68. James AA. Gene drive systems in mosquitoes: rules of the road. *Trends in Parasitology* 2005; 21 (2): 64-67.
69. Marshall J. The effect of gene drive on containment of transgenic mosquitoes. *J Theor Biol* 2009; 258 (2): 250-265.
70. Reeves RG, Denton JA, Santucci F, Bryk J, Reed FA. Scientific Standards and the Regulation of Genetically Modified Insects. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6 (1): e1502.
71. Murray JV, Jansen CC, De Barro P. Risk Associated with the Release of *Wolbachia* Infected *Aedes aegypti* Mosquitoes into the Environment in an Effort to Control Dengue. *Front Public Health* 2016; 4: 43.
72. Brown DM, Alphey LS, McKemey A, Beech C, James AA. Criteria for Identifying and Evaluating Candidate Sites for Open-Field Trials of Genetically Engineered Mosquitoes. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014; 14 (4): 291-299.

73. Ramsey JM, Bond JG, Macotela ME, Facchinelli L, Valerio L, Brown DM, et al. A Regulatory Structure for Working with Genetically Modified Mosquitoes: Lessons from Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8 (3): e2623.
74. Lavery JV, Harrington LC, Scott TW. Ethical, social, and cultural considerations for site selection for research with genetically modified mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79 (3): 312-318.
75. Ferguson NM, Kien DT, Clapham H, Aguas R, Trung VT, Chau TN, et al. Modeling the impact on virus transmission of *Wolbachia*-mediated blocking of dengue virus infection of *Aedes aegypti*. *Science Translational Medicine* 2015; 7 (279): 279ra37.
76. Alphey L, McKemey A, Nimmo D, Neira Oviedo M, Lacroix R, Matzen K, et al. Genetic control of *Aedes* mosquitoes. *Pathogens and Global Health* 2013; 107 (4): 170-177.
77. Benedict MQ, Robinson AS. The first releases of transgenic mosquitoes: an argument for the sterile insect technique. *Trends Parasitol* 2003; 19 (8): 349-355.
78. Wilson A, Lindsay S, et al. *How to design vector control efficacy trials: Guidance on phase III vector control field trial design provided by the Vector Control Advisory Group*. WHO_HTM_NTD_WEM_2017.03. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2017.
79. Bouzid M, Brainard J, Hooper L, Hunter PR. Public Health Interventions for *Aedes* Control in the Time of Zikavirus – A Meta-Review on Effectiveness of Vector Control Strategies. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10 (12): e0005176.
80. Bowman LR, Donegan S, McCall PJ. Is Dengue Vector Control Deficient in Effectiveness or Evidence? Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10 (3): e0004551.
81. Alvarado Castro V, Paredes Solís S, Nava Aguilera E, Morales Pérez A, Alarcón Morales L, Balderas Vargas NA, et al. Assessing the effects of interventions for *Aedes aegypti* control: systematic review and meta-analysis of cluster randomised controlled trials. *BMC Public Health* 2017; 17 (Suppl 1): 384.
82. Pereira Lima E, Oliveira Fonseca Goulart M, Leite Rolim Neto M. Meta-analysis of studies on chemical, physical and biological agents in the control of *Aedes aegypti*. *BMC Public Health* 2015; 15: 858.
83. Morrison AC, Minnick SL, Rocha C, Forshey BM, Stoddard ST, Getis A, et al. Epidemiology of dengue virus in Iquitos, Peru, 1999 to 2005: interepidemic and epidemic patterns of transmission. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4 (5): e670.
84. Organización Mundial de la Salud y Programa Especial de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales (TDR). *Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2009.
85. Bowman L, Runge-Ranzinger S, McCall P. Assessing the relationship between vector indices and dengue transmission: a systematic review of the evidence. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8 (5): e2848.
86. Focks DA y Programa Especial de Investigaciones y Enseñanzas sobre Enfermedades Tropicales (TDR). *A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2004. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68575/1/TDR_IDE_DEN_03.1.pdf

87. 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.
88. Focks DA, Brenner RJ, Hayes J, Daniels E. Transmission thresholds for dengue in terms of *Aedes aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62 (1): 11-18.
89. Focks DA, Alexander N. *Multicountry study of Aedes aegypti pupal productivity survey methodology: findings and recommendations*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2006. https://extranet.who.int/iris/restricted/bitstream/10665/69354/1/TDR_IRM_DEN_06.1_eng.pdf
90. Brown CA, Lilford RJ. The stepped wedge trial design: a systematic review. *BMC Medical Research Methodology* 2006; 6: 54.
91. Reiner RC Jr, Achee N, Barrera R, Burkot TR, Chadee DD, Devine GJ, et al. Quantifying the Epidemiological Impact of Vector Control on Dengue. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10 (5): e0004588.
92. Lambrechts L, Ferguson NM, Harris E, Holmes EC, McGraw EA, O'Neill SL, et al. Assessing the epidemiological effect of *wolbachia* for dengue control. *Lancet Infect Dis* 2015; 15 (7): 862-866.
93. Lambrechts L. Predicting *Wolbachia* potential to knock down dengue virus transmission. *Annals of Translational Medicine* 2015; 3 (19): 288.
94. Suaya JA, Shepard DS, Siqueira JB, et al. Cost of dengue cases in eight countries in the Americas and Asia: a prospective study. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80 (5): 846-855.
95. Gubler DJ, Meltzer M. Impact of dengue/dengue hemorrhagic fever on the developing world. *Adv Virus Res* 1999; 53: 35-70.
96. Huy R, Wichmann O, Beatty M, Ngan C, Duong S, Margolis HS, et al. Cost of dengue and other febrile illnesses to households in rural Cambodia: a prospective community-based case-control study. *BMC Public Health* 2009; 9: 155.
97. Garg P, Nagpal J, Khairnar P, Seneviratne SL. Economic burden of dengue infections in India. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102 (6): 570-577.
98. Meltzer MI, Rigau-Perez JG, Clark GG, Reiter P, Gubler DJ. Using disability-adjusted life years to assess the economic impact of dengue in Puerto Rico: 1984-1994. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59 (2): 265-271.
99. Lum LC, Suaya JA, Tan LH, Sah BK, Shepard DS. Quality of life of dengue patients. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78 (6): 862-867.
100. Luz PM, Grinsztejn B, Galvani AP. Disability adjusted life years lost to dengue in Brazil. *Trop Med Int Health* 2009; 14 (2): 237-246.
101. Valdes LG, Mizrahi JV, Guzman MG. Impacto económico de la epidemia de dengue 2 en Santiago de Cuba, 1997. *Rev Cubana Med Trop* 2002; 54 (3): 220-227.
102. Ferrando J. *Estimate of the costs of the dengue epidemic in 1994 in Nicaragua*. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 1995.

103. Armien B, Suaya JA, Quiroz E, Sah BK, Bayard V, Marchena L, et al. Clinical characteristics and national economic cost of the 2005 dengue epidemic in Panama. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79 (3): 364-371.
104. Von Allmen SD, López Correa RH, Woodall JP, Morens DM, Chiriboga J, Casta Vélez A. Epidemic dengue fever in Puerto Rico, 1977: a cost analysis. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28 (6): 1040-1044.
105. Undurraga EA, Betancourt Cravioto M, Ramos Castañeda J, Martínez Vega R, Méndez Galván J, Gubler D J, et al. Economic and Disease Burden of Dengue in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9 (3): e0003547.
106. Guzmán MG, Triana C, Bravo J, Kourí G. The estimation of the economic damages caused as a consequence of the epidemic of hemorrhagic dengue in Cuba in 1981. *Rev Cubana Med Trop* 1992; 44 (1): 13-7.
107. Shepard DS. Aggregate economic cost of dengue in Puerto Rico. LVIII Congreso Anual de la Sociedad Estadounidense de Higiene y Medicina Tropical (ASTMH). Washington, 2009.
108. Morrison AC, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med* 2008; 5 (3): e68.
109. Achee NL, Gould F, Perkins TA, Reiner RC Jr, Morrison AC, Ritchie SA, et al. A Critical Assessment of Vector Control for Dengue Prevention. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9 (5): e0003655.

Anexo

Menú de intervenciones para el control del vector

Manejo ambiental

El manejo ambiental tiene como objetivo modificar el entorno donde se desarrolla y vive el mosquito *Aedes aegypti*.^{1,2,3} Las acciones de manejo ambiental pueden ser de tres tipos⁴:

Modificación ambiental: Cambios estructurales permanentes para reducir los hábitats larvarios de *Aedes*, por ejemplo: instalación y distribución de agua potable entubada en las comunidades y viviendas.

Manipulación ambiental: Barreras físicas temporales en los hábitats de *Aedes*, por ejemplo: eliminación de los criaderos (descacharrización) o su manejo adecuado (tapar, voltear y lavar), además del reciclaje de criaderos específicos como las llantas. La manipulación ambiental está orientada a reducir la densidad y positividad de criaderos (campañas de descacharrización o limpieza) y generalmente se acompaña de estrategias de participación comunitaria y campañas educativas que promueven los cambios conductuales necesarios para modificar las prácticas domésticas de control.^{5,6,7,8,9}

Cambios en la vivienda: Barreras físicas duraderas para reducir el contacto *Aedes*-humano, por ejemplo: instalación de mallas mosquiteras o uso de materiales impregnados con insecticidas, como cortinas y mallas en puertas y ventanas, para lograr una protección más efectiva de las personas o de la vivienda.¹⁰ El empleo de materiales impregnados con insecticidas puede producir una reducción marcada y prolongada en las poblaciones del vector evaluadas con los índices de Breteau, de casas positivas y de pupas por persona. Sin embargo, no queda claro cómo influyen en la abundancia de poblaciones adultas del mosquito ni en el contacto vector-humano.

Mobilización social y participación comunitaria

La ineffectividad de los programas de control ha puesto en evidencia la necesidad de contar con una movilización y comunicación social efectivas para lograr cambios en la comunidad, más que en los individuos, y promover la sostenibilidad de las estrategias de control.¹¹ De ahí que se hayan propuesto las modificaciones conductuales y la movilización social como los motores de cambio.¹²

Guiados por las ciencias sociales y de la comunicación, se ha demostrado que, para que las intervenciones sean sostenibles y tengan éxito, es necesaria la participación inicial de la comunidad en su diseño y operación. También ahora se reconoce que movilizar las redes sociales más que a los individuos,¹³ involucrar a diferentes miembros y sectores de las comunidades y promover el cambio en el personal operativo, en la organización de los programas y en la legislación son elementos importantes para el éxito.^{14,15,16}

Las estrategias de participación comunitaria y movilización social surgen como alternativas para el control, pero con diferentes niveles de expresión en la intensidad, duración y cobertura de la población blanco o receptora. Por lo general, las experiencias se enfocan hacia la movilización masiva pero de corta duración (campañas de limpieza y eliminación de criaderos, los “días del dengue”, etc.). También pueden ser más duraderas pero selectivas en cuanto a los grupos involucrados (escuelas,¹⁷ comités de salud, grupos sociales, grupos ambientales, municipales, etc.) o el blanco de la movilización (criaderos más productivos, manejo de llantas, etc.). Por el contrario, los programas tradicionales se interesan por la continuidad de las acciones y no por su sustentabilidad; favorecen la repetición y no el reforzamiento ni la retroalimentación.¹⁸

La falta de indicadores apropiados para evaluar los cambios de comportamiento de los miembros de las comunidades endémicas limita la capacidad de los programas para monitorear y evaluar la eficacia de las estrategias empleadas. Los estudios difieren en el tipo de intervención, el comportamiento a modificar, la población blanco y los indicadores de resultado, lo que dificulta determinar los factores sobre los que realmente actúan.

En general, las conclusiones sobre el impacto de las medidas de participación comunitaria como intervención única o combinada con otras acciones no son muy favorables, sobre todo porque no queda muy claro cómo se miden las conductas humanas y su relación con los indicadores de impacto entomológico o epidemiológico.^{19,20}

Intervenciones educativas

Las intervenciones de este tipo están dirigidas a modificar las prácticas domiciliarias y ambientales urbanas (manejo de desechos) para lograr un impacto positivo en el control de las densidades larvarias. Sin embargo, es muy diferente lo que se aprende a través de la intervención educativa y lo que se hace con ese aprendizaje, cuánto tiempo dura el conocimiento y cada cuánto hay que reforzarlo. Una revisión sistemática sugiere que el impacto puede durar hasta 24 meses cuando se inserta en una intervención comunitaria, aunque no se distingue el efecto por el tipo de material educativo que se utiliza.²¹

Protección personal

El contacto *Aedes*-humano también puede prevenirse con repelentes químicos de aplicación individual²² o espacial, de manera activa (p. ej., espirales, placas) o pasiva (en tiras de papel).^{23,24} El empleo de repelentes espaciales pasivos en combinación con ovitrampas letales o materiales impregnados con insecticidas puede constituir una estrategia efectiva contra el contacto *Aedes*-humano, que puede complementarse con el empleo racional de insecticidas.

Control biológico

El control biológico consiste en introducir organismos patógenos, parásitos o depredadores en los hábitats de crianza de las etapas inmaduras del mosquito, para reducir sus poblaciones. Entre los agentes de control biológico se encuentran las bacterias mosquitocidas *Bacillus thuringiensis israelensis*, los peces larvívoros de los géneros *Gambusia* y *Poecilia*,²⁵ las tilapias y ciertas especies de copépodos depredadores (*Mesocyclops longisetus*).^{26,27,28}

El *B. thuringiensis israelensis* reduce las densidades larvarias hasta cuatro semanas, por lo que no es recomendable como medida aislada o a largo plazo.²⁹ En el caso de los peces larvívoros, su impacto sobre las densidades larvarias puede ser importante (hasta dos años) pero varía según el tipo de pez, su longevidad en el recipiente (tanque, piletas) y la aceptación de los miembros de la comunidad. Aunque se ha descrito una mayor efectividad en comparación con el *B. thuringiensis* y el rociado intradomiciliario, las evidencias no son concluyentes.³⁰

También existen sustancias de efecto selectivo sobre el *Aedes*, que normalmente se asemejan a un metabolito esencial o una toxina y presentan un riesgo bajo para el humano, la vida silvestre y el ambiente, como los análogos de los reguladores del crecimiento de los insectos.

Control larvario químico

El uso de larvicidas para prevenir el desarrollo de larvas en los depósitos de agua es un componente esencial de la gran mayoría de los programas nacionales en la Región de las Américas.

El enfoque tradicional consiste en eliminar los criaderos del medio ambiente (descartarlos) o inutilizarlos con un larvicida, cuya aplicación requiere el recorrido de amplias zonas urbanas en busca de recipientes y contenedores de agua, para aplicarlo con frecuencia variable indistintamente de su tamaño, capacidad o potencial productivo, estabilidad estacional y aceptación de la comunidad (resistencia).

Las intervenciones con temefós reducen las densidades larvarias, aunque no son sostenibles en el tiempo. La efectividad a nivel comunitario está determinada por la calidad de la aplicación, el uso y el tipo de agua en el recipiente (consumo, limpieza, acumulación) y los factores ambientales (temperatura, disponibilidad de alimento, exposición a la luz). La efectividad de estas intervenciones se ve limitada por la necesidad de aplicar varias veces el ingrediente, la resistencia de la comunidad a utilizarlo en agua para consumo humano y los problemas operativos de cobertura, oportunidad, tiempo necesario y costos para la aplicación extensiva a todos los recipientes potenciales. Además, su efecto sobre la transmisión no es evidente.^{31,32}

Un abordaje novedoso consiste en focalizar los esfuerzos hacia los criaderos más productivos, no sólo de larvas sino de los estadios más avanzados (pupas), ya que los criaderos varían en tamaño, capacidad, permanencia, productividad y alternativas de control.^{33,34}

Como efecto indeseable, la aplicación continua de sustancias químicas por parte del personal de control de vectores refuerza la percepción de las comunidades de que el gobierno es responsable de todos los aspectos del control de vectores y de que los residentes tienen poca o ninguna responsabilidad.³⁵

Control del adulto y protección del contacto vector-humano

La mayoría de los programas nacionales de prevención y control del dengue recurren a los insecticidas para controlar las larvas y los mosquitos adultos. El control químico de adultos de *A. aegypti* se basa en el empleo de insecticidas con la finalidad de afectar, de manera inmediata, la densidad y sobrevivencia de sus poblaciones y así detener la transmisión de los virus al disminuir el contacto vector-humano.

Normalmente, los presupuestos de programas asignan la mayor parte de los fondos a los salarios del personal, la adquisición de productos químicos y la compra de equipo para aplicarlos. En un programa integrado de prevención y control, los productos químicos tienen una función importante, aunque se deben evaluar críticamente los niveles de susceptibilidad de los mosquitos locales al producto seleccionado y cómo, cuándo y dónde se utiliza cada producto antes de emplearlo. El monitoreo rutinario de la susceptibilidad a los insecticidas es una actividad que debería formar parte del control químico.³⁶

Los adulticidas se aplican de las siguientes maneras:

Rociados espaciales. Los rociados espaciales se aplican en formulación no residual a ultrabajo volumen (UVB), en neblina fría o nebulización térmica en áreas y espacios abiertos, ya sea desde tierra con equipos pesados montados en vehículos o desde el aire con avionetas y helicópteros. De igual forma, pueden aplicarse con moto-mochilas para el rociado rápido a bajo volumen en interiores de casas, habitaciones, edificios y locales cerrados, incidiendo sobre los refugios naturales de *Aedes*. No existe recomendación alguna para utilizarlo en forma única como control efectivo, aunque en combinación con otras medidas de control puede ofrecer resultados variables.^{37,38,39}

Tratamientos residuales. Los tratamientos residuales son aplicaciones por aspersión de insecticidas de acción residual: *a)* con bombas de compresión manual para el rociado tradicional; o *b)* con moto-mochilas para el rociado en las superficies (paredes y techos) de las viviendas y sus anexos.

Recientemente se ha propuesto su aplicación en ovitrampas con atrayentes (como una estrategia de “atracción fatal”)^{40,41,42} y en materiales impregnados con insecticida, como cortinas en puertas y ventanas,⁴³ tapas de criaderos y mosquiteros. Teóricamente, en ambos casos se ve afectada la sobrevivencia de los adultos, al tener contacto con las superficies tratadas con insecticida. El uso de mallas impregnadas con permetrina también ha demostrado su efecto en la disminución de *A. aegypti* por varios meses e inclusive repercutió en la transmisión del dengue.⁴⁴

En su mayoría, las intervenciones de control de adultos consisten en la aplicación de insecticidas en espacios abiertos, mediante equipos pesados montados en vehículos. Las intervenciones de rociado manual a UVB desde vehículo terrestre o aéreo han tenido una efectividad alta (cerca al 100%) en los bioensayos.^{45,46,47,48,49} Sin embargo, su eficacia disminuye considerablemente si se evalúa con indicadores entomológicos basados en colectas de campo, por ejemplo la presencia y el número de huevos colectados con ovitrampas o de hembras en reposo dentro de las casas.⁵⁰

La fumigación ambiental es relativamente ineficaz como estrategia de control rutinario⁵¹ y debería reservarse únicamente para emergencias ante los brotes. Esta práctica tiene una eficacia variable, posiblemente porque la sustancia en aerosol no penetra en los espacios interiores donde reposan los mosquitos adultos; además, el procedimiento de aplicación es costoso.⁵² Sin embargo, al disminuir las poblaciones en el peridomicilio, indirectamente se ve afectada la proporción de adultos que entran a las casas a reposar.³⁹ Los factores a tener en cuenta son que el efecto letal es transitorio y que normalmente las poblaciones de mosquitos se recuperan en una o dos semanas.

Referencias

1. Organización Panamericana de la Salud (OPS). *Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: guidelines for prevention and control*. Washington DC: OPS; 1994.
2. Organización Mundial de la Salud (OMS). *Manual on environmental management for mosquito control with special emphasis on malaria vectors*. Ginebra: OMS; 1982.
3. Erlanger T, Keiser J, Utzinger J. Effect of dengue vector control interventions on entomological parameters in developing countries: a systematic review and meta-analysis. *Medical and Veterinary Entomology* 2008; 22 (3): 203-221.
4. Keiser J, Singer BH, Utzinger J. Reducing the burden of malaria in different eco-epidemiological settings with environmental management: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2005; 5 (11): 695-708.
5. Leontsini E, Gil E, Kendall C, Clark G. Effect of a community-based *Aedes aegypti* control programme on mosquito larval production sites in El Progreso, Honduras. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg* 1993; 87 (3): 267-271 .
6. Fernández EA, Leontsini E, Sherman C, Chan AS, Reyes CE, Lozano RC, et al. Trial of a community-based intervention to decrease infestation of *Aedes aegypti* mosquitoes in cement washbasins in El Progreso, Honduras. *Acta Tropica* 1998; 70 (2): 171-183.
7. De Caires P. *Aedes aegypti* control in the absence of a piped water potable water supply. *American Journal of Tropical Medicine* 1947; 27 (6): 733-743.
8. Winch PJ, Leontsini E, Rigau Pérez JG, Ruiz Pérez M, Clark GG, Gubler DJ. Community-based dengue prevention programs in Puerto Rico: impact on knowledge, behaviour, and residential mosquito infestation. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67 (4): 363-370.
9. Sánchez L, Pérez D, Pérez T, Sosa T, Cruz G, Kourí G, et al. Intersectoral coordination in *Aedes aegypti* control. A pilot project in Havana City, Cuba. *Trop Med Int Health* 2005; 10 (1): 82-91.
10. Ogoma SB, Lweitojira DW, Ngonyani H, Furer B, Russell TL, Mukabana WR, et al. Screening mosquito house entry points as a potential method for integrated control of endophagic filariasis, arbovirus and malaria vectors. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4 (8): e773.

11. Gómez Dantés H. Documenting inputs and outputs and learning from ecohealth projects: Dengue, IDRC technical report. Mayo del 2007.
12. Winch PJ. Social and cultural responses to emerging vector-borne diseases. *Journal of Vector Ecology* 1998; 23 (1): 47-53.
13. Winch PJ, Lloyd LS, Hoemeke L, Leontsini E. Vector control at the household level: an analysis of its impact on women. *Acta Tropica* 1994; 56 (4): 327-339.
14. Parks WJ, Lloyd LS, Nathan MB, Hosein E, Odugleh A, et al. International Experiences in Social Mobilization and Communication for Dengue Prevention and Control. *Dengue Bulletin* 28; 2004 (supl.): 1-7.
15. Lloyd LS, Winch P, Ortega-Canto J, Kendall C. The design of a community-based health education intervention for the control of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50 (4): 401-411.
16. Rosenbaum J, Nathan MB, Ragoonansingh R, Rawlins S, Gayle C, Chadee DD, et al. Community participation in dengue prevention and control: a survey of knowledge, attitudes, and practice in Trinidad and Tobago. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 53 (2): 111-117.
17. Ávila Montes G, Martínez M, Sherman C, Fernández Cerna E. Evaluación de un módulo escolar sobre dengue y *Aedes aegypti* dirigido a escolares en Honduras. *Rev Panam Salud Publica* 2004; 16 (2): 84-94.
18. Ribeiro Montiani CH, Gutemberg C. Movilización social de residentes de una ciudad para el control del dengue. En: Lloyd L. *Mejores prácticas para la prevención y el control del Dengue en las Américas*. Environmental Health Project; 2003; pp. 58-65.
19. Heinze C, Garrido MV, Kroeger A. What do community-based dengue control programmes achieve? A systematic review of published evaluations. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007; 101 (4): 317-325.
20. Elder J, Ballenger-Browning K. Community involvement in dengue vector control. Is effective but the contribution of human behavior needs to be defined. *BMJ* 2009; 338: b1023.
21. Al-Muhandis N, Hunter PR. The Value of Educational Messages Embedded in a Community-Based Approach to Combat Dengue Fever: A Systematic Review and Meta Regression Analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5 (8): e1278.
22. Katz T, Miller J, Hebert A. Insect repellents: Historical perspectives and new developments. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58 (5): 865-871.
23. Kawada H, Yen NT, Hoa NT, Sang TM, Van Dan N, Takagi M. Field evaluation of spatial repellency of metofluthrin impregnated plastic strips against mosquitoes in Hai Phong City, Vietnam. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 73 (2): 350-353.
24. Kawada H, Maekawa Y, Takagi M. Field trial on the spatial repellency of metofluthrin impregnated plastic strips for mosquitoes in shelters without walls (beruga) in Lombok, Indonesia. *J Vector Ecol* 2005; 30 (2): 181-185.
25. Seng CM, Setha T, Nealon J, Socheat D, Chantha N, Nathan MB. Community-based use of the larvivorous fish *Poecilia reticulata* to control the dengue vector *Aedes aegypti* in domestic water storage containers in rural Cambodia. *J Vector Ecol* 2008; 33 (1): 139-144.

26. Gorrochotegui Escalante N, Fernández Salas I, Gómez Dantés H. Field evaluation of *Mesocyclops longisetus* (Copepoda: Cyclopoidea) for the control of larval *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in northeastern Mexico. *J Med Entomol* 1998; 35 (5): 699-703.
27. Martínez Ibarra JA, Guillén Y, Arredondo Jiménez JI, Rodríguez López MH. Indigenous fish species for the control of *Aedes aegypti* in water storage tanks in southern Mexico. *Biocontrol* 2002; 47 (4): 481-486.
28. Suárez Rubio M, Suárez M. The use of the copepod *Mesocyclops longisetus* as a biological control agent for *Aedes aegypti* in Cali, Colombia. *J Am Mosq Control Assoc* 2004; 20 (4): 401-404.
29. Boyce R, Lenhart A, Kroeger A, Velayudhan R, Roberts B, Horstick O. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) for the control of dengue vectors: systematic literature review. *Trop Med Int Health* 2013; 18 (5): 564-577.
30. Han WW, Lazaro A, McCall PJ, George L, Runge-Ranzinger S, Toledo J, et al. Efficacy and community effectiveness of larvivoracious fish for dengue vector control. *Trop Med Int Health* 2015; 20 (9): 1239-1256.
31. George L, Lenhart A, Toledo J, Lazaro A, Han WW, Velayudhan R, et al. Community Effectiveness of Temephos for Dengue Vector Control: A Systematic Literature Review. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; 9 (9): e0004006.
32. Mir S, Mulla, Usavadee Thavara I, Tawatsin A, Chompoonsri J. Procedures for the evaluation of field efficacy of slow-release formulations of larvicides against *Aedes aegypti* in water-storage containers. *J Am Mosq Control Assoc* 2004; 20 (1): 64-73.
33. Romero-Vivas C, Wheeler J, Falconar A. 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 (1): 40-46.
34. Tun-Lin W, Lenhart A, Nam VS, Rebollar Téllez E, Morrison AC, Barbazan P, et al. Reducing costs and operational constraints of dengue vector control by targeting productive breeding places: a multi-country non-inferiority randomized trial. *Trop Med Int Health* 2009; 14 (9): 1143-1153.
35. Spiegel J, Bennett S, Hattersley L, Hayden M, Kittayapong P, Nalim S, et al. Barriers and Bridges to Prevention and Control of Dengue: The Need for a Social-Ecological Approach. *EcoHealth* 2005; 2 (4): 273-290.
36. Reiter P, Nathan M. *Guidelines for assessing the efficacy of insecticide space sprays for control of the dengue vector Aedes aegypti*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2001.
37. Hudson J. The emergency ultra-low-volume spray campaign against *Aedes aegypti* adults in Paramaribo, Suriname, 1982. *Bulletin of the Pan American Health Organization* 1986; 20 (3): 292-301.
38. Manrique-Saide P, Coleman P, Davies C, Rebollar Téllez E, Che Mendoza A, Dzul Manzanilla F. Entomological evaluation of ground-vehicle-mounted ULV spraying on *Ae. aegypti* in residential areas of Merida, Mexico. LXXIII Congreso Anual de la Asociación Estadounidense de Control de Mosquitos (AMCA), Orlando (Florida, Estados Unidos), 1 a 5 de abril del 2007.

39. Esu E, Lenhart A, Smith L, Horstick O. Effectiveness of peridomestic space spraying with insecticide on dengue transmission; systematic review. *Trop Med Int Health* 2010; 15 (5): 619-631.
40. Williams C, Ritchie S, Long S, Dennison N, Russell R. Impact of a bifenthrin treated lethal ovitrap on *Aedes aegypti* oviposition and mortality in north Queensland, Australia. *J Med Entomol* 2007; 44 (2): 256-262.
41. McCall P, Kittayapong P. *Control of Dengue Vectors: Tools and Strategies*. Report of the Scientific Working Group Meeting on Dengue. Ginebra: 1 a 5 de octubre del 2006; pp. 110-119.
42. Morrison AC, Zielinski-Gutiérrez E, Scott T, Rosenberg R. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med* 2008; 5 (3): e68.
43. Kroeger A, Lenhart A, Ochoa M, Villegas E, Levy M, Alexander N, et al. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in Mexico and Venezuela: cluster randomized trials. *BMJ* 2006; 332 (7552): 1247-1250.
44. Igarashi, Akira. Impact of dengue virus infection and its control. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 1997; 18 (4): 291-300.
45. Echevers G, Moura-Lima M, Miranda-Franco R, Calheiros L. Results of spraying with ultra-low-volume malathion at ground level in Panama City. *Bulletin of the Pan American Health Organization* 1975; 9 (3): 232-237.
46. Uribe L, Garrido G, Nelson M, Tinker M, Moquillaza J. Experimental aerial spraying with ultra-low-volume (ULV) malathion to control *Aedes aegypti* in Buga, Colombia. *Bulletin of the Pan American Health Organization* 1984; 18 (1): 43-57.
47. Perich MJ, Rocha NO, Castro AL, Alfaro AW, Platt KB, Solano T, et al. Evaluation of the efficacy of lambda-cyhalothrin applied by three spray application methods for emergency control of *Aedes aegypti* in Costa Rica. *J Am Mosq Control Assoc* 2003; 19 (1): 58-62.
48. Arredondo Jiménez J, Arvizu H. New technique of space treatments with the use of mist blowers for the control of *Aedes aegypti* in Mexico. LXXIII Congreso Anual de la Asociación Estadounidense de Control de Mosquitos (AMCA), Orlando (Florida, Estados Unidos), 1 a 5 de abril del 2007.
49. Arredondo Jiménez J, Rivero N. Space treatments of insecticide for control of dengue virus vector *Aedes aegypti* in southern Mexico. I. Baseline penetration trials in open field and houses. *J Am Mosq Control Assoc* 2006; 22 (2): 301-305.
50. Newton EAC, Reiter P. A model of the transmission of dengue fever with the evaluation of the impact of ultra-low volume (ULV) insecticide applications on dengue epidemics. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47 (6): 709-720.
51. Perich M, Tidwell M, Williams D, Sardelis M, Pena C, Mandeville D, et al. Comparison of ground and aerial ultra-low volume applications of malathion against *Aedes aegypti* in Santo Domingo, Dominican Republic. *J Am Mosq Control Assoc* 1990; 6 (1): 1-6.
52. Gubler D. The emergence of epidemic dengue fever and dengue hemorrhagic fever in the Americas: a case of failed public health policy. *Rev Panam Salud Publica* 2005; 17 (4): 221-4.



Organización
Panamericana
de la Salud



Organización
Mundial de la Salud
OFICINA REGIONAL PARA LAS Américas

525 23rd St NW,
Washington, DC 20037
+1 (202) 974-3000
www.paho.org

