

Efecto Larvicida de *Gliricidia sepium* sobre

Aedes aegypti L. y *Aedes albopictus*

Antonio Juan Cortés-Guzmán

antocortes5501@yahoo.com.mx

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,
Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro),
Universitaria Sur, Chilpancingo, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0000-0002-5629-2183>

Deifilia Mendoza-Benjamin

Princess_deyfi@hotmail.com

Escuela Superior de Ciencias Naturales.
Universidad Autónoma de Guerrero,
Las Petaquillas, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0009-0000-6645-4695>

Sofía Miranda-Juárez

sofimj_1965@yahoo.com.mx

Facultad de Ciencias Químico-Biológicas,
Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro),
Universitaria Sur, Chilpancingo, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0000-0002-6549-2339>

Mairel Valle-De la Paz

15965@uagro.mx

Escuela Superior de Ciencias Naturales.
Universidad Autónoma de Guerrero,
Las Petaquillas, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0000-0002-5411-1481>

Eivar Yumil Miranda-Zamora

eivmiranda03@gmail.com

Escuela Superior de Ciencias Naturales.
Universidad Autónoma de Guerrero,
Las Petaquillas, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0009-0000-8268-5602>

Mireya Maruris-Reducindo

maruris16@hotmail.com

Escuela Superior de Ciencias Naturales.
Universidad Autónoma de Guerrero,
Las Petaquillas, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0009-0000-5626-4644>

Flaviano Godínez-Jaimes

08835@uagro.mx

Facultad de Matemáticas
Universidad Autónoma de Guerrero,
Chilpancingo, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0000-0001-5531-8989>

Roxana Reyes Ríos

rreyes@uagro.mx

Escuela Superior de Ciencias Naturales.
Universidad Autónoma de Guerrero,
Las Petaquillas, Guerrero, México.

<https://orcid.org/0000-0003-4376-4687>

RESUMEN

Se evaluó in vitro el efecto larvicida del extracto etanólico de *Gliricidia sepium* (Cacahuananche) sobre larvas del tercer estadio de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Las variables de estudio fueron: mortalidad de larvas de tercer instar con concentración del extracto al 4 y 5%. Se obtuvo 60% de mortalidad en larvas de *Ae. aegypti* y 64% en *Ae. albopictus* en la concentración de 4%, mientras que con la concentración del 5% se obtuvo 100% de mortalidad en ambas especies. En el presente estudio no se analizaron las variables de precio, residualidad y toxicidad de los extractos.

Palabras clave: efecto larvicida; *gliricidia sepium*¹; *aedes aegypti* l; *aedes albopictus*

Larvicidal effect of *Gliricidia sepium* on *Aedes aegypti* L. and *Aedes albopictus*

ABSTRACT

It's was evaluated in vitro the larvicidal effect of the ethanolic extract of *Gliricidia sepium* against third instar larvae of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. We evaluated larval mortality, extract concentration at 4 and 5%. We obtained 60% larval mortality in *Ae. Aegypti*, and 64% in *Ae. albopictus* at the 4% concentration, and 100% at 5% concentration. In the present study, the variables of price, residuality and toxicity of the extracts were not analyzed.

Keywords: *efecto larvicida; gliricidia sepium; aedes aegypti l; aedes albopictus*

Artículo recibido 15 febrero 2023

Aceptado para publicación: 15 marzo 2023

INTRODUCCION

En el continente americano el mosquito *Ae. aegypti* es considerado como el vector primario de los virus del dengue, chikungunya, fiebre amarilla, y Zika (Pan American Health Organization 2016). En México existen los cuatro serotipos del virus del dengue (Castrillón *et al.*, 2015). *Ae. albopictus* se ha implicado en la transmisión del virus del dengue en varios países, entre ellos México (Ibáñez *et al.*, 1997), Colombia (Méndez *et al.*, 2006) y Brasil (De Figueiredo *et al.*, 2010). De todas las especies de mosquitos conocidas de importancia en salud pública, *Ae. aegypti* es la más peligrosa por tener la capacidad de transmitir al humano el mayor número de enfermedades arbovirales y ser altamente eficiente como vector debido a su alta antropofilia, ya que requiere picar a varios humanos antes de completar su ciclo gonotrófico (Harrington *et al.*, 2014). Las hembras de *Ae. aegypti* son consideradas las más eficientes de los mosquitos vectores por sus marcados hábitos domésticos (Thirión-Icaza 2003), mientras que *Ae. albopictus* establece sus criaderos principalmente en hábitats rurales y preferentemente selváticos (Higa 2011). En Guerrero hasta la semana epidemiológica 52 del 2019 se confirmaron 906 casos de dengue, con una tasa de incidencia de 24.8 por 100 mil habitantes, posicionándola como una enfermedad endémica (Secretaría de Salud 2019). Hasta el 26 de julio de 2021, se reportaron 175 casos de dengue, con una tasa de incidencia de 4.77 por 100 mil habitantes (Secretaría de Salud 2021); y el último reporte del 28 de junio del 2021, se habían confirmado por laboratorio cinco casos de síndrome congénito asociado a Zika + microcelia (Dirección General de Epidemiología 2021).

En Guerrero las medidas de control de adultos de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, se realiza principalmente con insecticidas sintéticos; sin embargo, este tipo de control tiene un impacto negativo a la salud ambiental y humana, por lo que resulta necesario el desarrollo de insecticidas con alta especificidad sin la afectación de fauna benéfica, por lo que los plaguicidas botánicos, obtenidos con extractos vegetales, representan una vía alternativa para el control de plagas tanto por su efectividad y que no contaminan el ambiente (Enan, Beigler y Kende, 1998; Martin *et al.*, 2003; Mehlhorn, Schmahl y Schmidt, 2005; Elango, Bagavan, Kamaraj, Abduz y Abdul, 2009; Rahuman *et al.*, 2009) además, de ser biodegradables y de fácil producción (Martin *et al.*, 2003, Dharmagadda, Naik, Mitta y Vasudevan,

2005). De acuerdo con lo anterior el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto larvicida del extracto etanólico de hojas de *G. sepium* sobre larvas de tercer estadio de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas y en el laboratorio de investigación de la Escuela Superior de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Guerrero. Se evaluaron dos concentraciones de extractos etanólicos de las hojas de *Gliricidia sepium* sobre larvas del tercer estadio de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* para determinar su efecto larvicida. Las variables medidas fueron: mortalidad por especie de mosquito, concentración del extracto, tiempo y temperatura del agua. Para la recolecta de *Aedes*, se utilizaron 30 ovitrampas de plástico color negro de un litro de capacidad. La parte interna de las ovitrampas se cubrió con tela pellón F-1600 (12 x 35 cm). Se ubicaron entre plantas y alejadas de otros posibles criaderos de mosquitos para evitar competencia. Posteriormente se agregaron 500 mL de agua procedente de criaderos activos, asegurando que no tuvieran cloro ni larvicidas. La preparación e instalación de las ovitrampas se llevó a cabo con base en los lineamientos establecidos en la Guía Metodológica para la Vigilancia Entomológica con Ovitrapas y el Manual para la Colecta, Cría e Instalación de insectario para *Ae. aegypti* del Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE 2015a, CENAPRECE 2015b). Las ovitrampas se revisaron cada semana para el conteo de huevos. Las papeletas con huevos se observaron en un microscopio estereoscópico. La tela pellón que contenía los huevos se sumergió en agua, en recipientes de 1,470 mL a una temperatura de 37°C, para activar la embriogénesis y obtener uniformidad en la eclosión. Cuando la temperatura ambiental era muy baja se colocaron focos de 40 watts, para mantener dicha temperatura.

Para el pie de cría se utilizaron jaulas de 0.024 m³ (29x29x29 cm). En una jaula se mantuvo a *Ae. aegypti* y en otra a *Ae. albopictus*. Después de la emergencia de los adultos y antes de alimentar a las hembras durante 48 h, hembras y machos permanecieron en contacto para la copulación, y así lograr cada ciclo gonadotrófico. Las hembras se alimentaron de sangre humana mediante la técnica de alimentación directa que consiste en introducir el brazo de una persona a la jaula que contenía los

mosquitos, por un periodo de 10 a 15 min, durante los primeros tres días para obtener más generaciones y los machos se alimentaron con agua glucosada al 10%. Se introdujeron en cada jaula dos ovitrampas para estimular a las hembras a la ovipostura. Las tiras de papel pellón se sustituyeron en las ovitrampas cada semana, se ventilaron por 48 h y se mantuvieron en refrigeración a -20°C para utilizarlas posteriormente en la eclosión de los huevos. Las larvas se mantuvieron con alimento para peces triturado. Las pupas se retiraron con pipetas Pasteur de 3 ml y se colocaron en un eclosionador cilíndrico para la emergencia de adultos.

La planta de *G. sepium* fue identificada y depositada con número de voucher 34760 por el MC Gabriel Flores Franco, del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Las hojas de *G. sepium* fueron recolectadas en San Luis Acatlán, Guerrero, ubicada a 264 msnm (16°48'24" N, 98°44'3" O), con clima tropical seco (García 1990), y fueron colocadas en una prensa de madera entre hojas de papel periódico para el secado a la sombra, a temperatura ambiente durante 15 días. Se pesaron 150 g de hojas, se maceraron en un mortero, hasta obtener un polvo fino, al cual se adicionaron 500 mL de etanol de 96°. El frasco conservador fue forrado con papel aluminio, colocándolo en una bolsa de plástico color negro para protegerlo de la luz y almacenarlo, después se dejó reposando en un lugar oscuro durante 20 d. Posteriormente, el producto se filtró utilizando papel filtro del número 1. Para los bioensayos la determinación de las concentraciones resultó de una prueba piloto, en la que se probaron concentraciones de 0.5, 2, 3, 4 y 5% del extracto preparado, obteniendo los porcentajes de mortalidad de 0, 13 y 38% para las primeras tres concentraciones. En las concentraciones de 4 y 5%, hubo una mortalidad mayor al 50%, razón por la que se utilizaron estas dos últimas para llevar a cabo los bioensayos.

El procedimiento para los bioensayos se basó en la Guía para determinar la susceptibilidad y/o resistencia de mosquitos a insecticidas (CENAPRECE 2015c). En cada bioensayo se distribuyeron 140 larvas del tercer estadio de *Ae. aegypti* y de *Ae. albopictus*. Se realizaron 5 repeticiones para cada concentración de 4 y 5%, más un testigo positivo (*Bacillus thuringiensis israelensis*) y un testigo negativo (agua destilada) que se muestran en el Cuadro 2. En cada repetición se utilizaron 7 recipientes de 414 mL. En cinco recipientes se aplicaron los extractos etanólicos y en dos más los testigos positivo y negativo. En cada vaso se colocaron 20 larvas del tercer estadio y se anotó la

temperatura del agua al inicio de cada bioensayo. La lectura de mortalidad se registró a las 24 h. La variable respuesta fue el porcentaje de mortalidad (PM) a las 24 h. Para investigar el efecto de los dos factores de interés, concentración (4 y 5%), Especie (*Ae. albopictus* y *Ae. aegypti*), y su interacción, se usó un diseño factorial completamente al azar de efectos fijos. Debido a que el modelo ajustado no cumplió el supuesto de normalidad, ni de homogeneidad de varianzas, se usó un enfoque no paramétrico basado en la transformación de rangos alineados. Para considerar también el efecto de los Testigos en el PM se usó un diseño completamente al azar desbalanceado en el que se analizaron ocho tratamientos estadísticos (Cuadro 2). El modelo ajustado no cumplió los supuestos de normalidad ni de homogeneidad de varianzas por lo que se usó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. El análisis estadístico se realizó con el software R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los datos del diseño factorial la media general del porcentaje de mortalidad (PM) fue 81.2% ($s^2=24$). Las mayores medias del PM correspondieron a *Ae. albopictus* con 82.0% y la concentración de 5% con 100% de mortalidad. Los tratamientos 5%-*Ae.aegypti* y 5%-*Ae. albopictus* son los que tienen mayores medias del PM del 100% (Cuadro 1). El análisis de varianza (ANOVA) del diseño factorial con transformación de rangos alineados indica que en el PM hubo efecto de la concentración ($F_{1, 16} = 20.13, p<0.01$), pero no hubo efecto de la especie ($F_{1, 16} = 3.27, p=0.09$) y tampoco de la interacción ($F_{1, 16} = 3.27, p=0.09$). Es evidente que la concentración del 5% es más letal que la concentración de 4% debido a que causa mayor PM.

Cuadro 1. Medias y Varianzas Muestrales del Porcentaje de Mortalidad de Larvas del Tercer Estadio de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* y de sus Rangos Alineados.

Table 1. Sample Means and Variances of the Mortality Percentage of Larvae of the Third Stage of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* and its Aligned Ranks.

		Valores originales		Rangos alineados
		Media	Varianza	Media
Concentración	4%	62.3% ^b	461	6.5 ^b
	5%	100.0% ^a	000	14.5 ^a
Especie	<i>Ae. aegypti</i>	80.3% ^a	804	8.2 ^a
	<i>Ae. albopictus</i>	82.0% ^a	444	12.8 ^a
Tratamientos	4%- <i>Ae. aegypti</i>	60.6%	840	9.4
	4%- <i>Ae. albopictus</i>	64.0%	190	13.6
	5%- <i>Ae. aegypti</i>	100.0%	000	12.0
	5%- <i>Ae. albopictus</i>	100.0%	000	7.0

Medias dentro de cada columna con la misma letra son estadísticamente iguales

La concentración de 5% del extracto etanólico de *G. sepium* tuvo 100% de mortalidad en larvas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* a las 24 h, en comparación con la concentración de 4% que fue del 60% de mortalidad para *Ae. aegypti* y 64% para *Ae. albopictus*, mayor que la que reporta Álvarez *et al.*, (2016), de 6.7% de mortalidad para *Ae. aegypti* y 13.3% para *Ae. albopictus*, utilizando extractos etanólicos de hoja de *G. sepium* al 5%. Otros investigadores han usado estos extractos como Sharma *et al.*, (1998) quienes demostraron que los extractos de hoja seca de *G. sepium* son efectivos contra larvas del tercer estadio de *Ae. aegypti* a concentraciones de 4,000 ppm produjo 16% y en la misma dosis usando hojas frescas produjo un 80% de mortalidad.

La media muestral general del PM fue 72.2% ($s^2 = 1357$). Los tratamientos TP- *Ae. aegypti*, 5%- *Ae. aegypti* y 5%- *Ae. albopictus* tienen la mayor media posible del PM (100%) y los tratamientos TN- *Ae. aegypti* y TN- *Ae. albopictus* tienen la menor media posible (0%). Cinco de los tratamientos tuvieron varianza muestral de cero (Cuadro 2).

La prueba de Kruskal-Wallis encontró que hay efecto de los tratamientos en el PM ($\chi^2_{7}=23.2, p<0.01$). Hay tres grupos de medias del PM estadísticamente diferentes (columna 4 del Cuadro 2). El grupo con las mayores medias del PM (100%) contiene los tratamientos TP-*Ae. aegypti*, 5%-*Ae. aegypti*, 5%-*Ae. albopictus* y TP-*Ae. albopictus*.

Cuadro 2. Medias y Varianzas Muestrales del Porcentaje de Mortalidad de Larvas del Tercer Estadio de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* y de sus Rangos.

Table 2. Sample Means and Variances of the Mortality Percentage of Larvae of the Third Stage of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* and its Ranges.

Tratamiento	Valores originales		Rangos
	Media	Varianza	Media
TN- <i>Ae. aegypti</i>	00.0% ^c	000	2.50 ^c
TN- <i>Ae. albopictus</i>	00.0% ^c	000	2.50 ^c
TP- <i>Ae. aegypti</i>	100.0% ^a	000	21.50 ^a
TP - <i>Ae. albopictus</i>	98.5% ^a	004	17.75 ^a
4%- <i>Ae. aegypti</i>	60.6% ^b	840	10.90 ^b
4%- <i>Ae. albopictus</i>	64.0% ^b	190	9.60 ^b
5%- <i>Ae. Aegypti</i>	100.0% ^a	000	21.50 ^a
5%- <i>Ae. Albopictus</i>	100.0% ^a	000	21.50 ^a

TN= Testigo Negativo utilizando agua destilada. TP= Testigo positivo utilizando *Bacillus thuringiensis israelensis*. Medias dentro de cada columna con la misma letra son estadísticamente iguales.

En la presente investigación, cuando se realizó la prueba piloto (no se muestran los datos) se presentó el efecto knock down en la concentración de 4% en ambas especies, cuando se realizaron las dos primeras lecturas (3 y 6 horas) por tal motivo solo se reporta la lectura de 24 h. Otros investigadores han observado este efecto en sus experimentos, por lo que se recomienda realizar observaciones por un tiempo más prolongado cuando se requiere evaluar la mortalidad, ya que es frecuente confundir el knock down con la mortalidad (Palomino *et al.*, 2007).

Este estudio confirma que el uso del extracto etanólico de *G. sepium* puede ser utilizado como una alternativa para el control de larvas del tercer estadio de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al MC Gabriel Flores Franco, del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por su colaboración en la identificación de *G. sepium*.

REFERENCIAS CITADAS

Álvarez, M. R., F. Heralde, and N. Quiming. 2016. Screening for larvicidal activity of ethanolic and aqueous extracts of selected plants against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. *Journal of CoastalLife Medicine* 4(2): 143-147.

- Castrillón, J. C., J. C. Castaño, y S. Urcuqui. 2015. Dengue en Colombia: diez años de evolución. *Revista chilena de infectología* 32(2): 142-149.
- CENAPRECE (Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades). 2015a. Guía metodológica para la vigilancia entomológica con ovitrampas. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. México <https://www.gob.mx/salud/documentos/guiametodologica-para-la-vigilancia-entomologica-con-ovitrampas-17940>; fecha de consulta: 20-V-2020.
- CENAPRECE (Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades). 2015b. Manual para la colecta, cría e instalación de insectario para *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. México. <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/GuiaInstalacionMantenimientoInsectarioAedesAegypti.pdf>; fecha de consulta: 20-05-2020.
- CENAPRECE (Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades). 2015c. Guía para determinar la susceptibilidad y/o resistencia de mosquitos a insecticida. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. México. <https://www.gob.mx/salud/documentos/guia-para-determinar-lasusceptibilidad-y-o-resistencia-de-mosquitos-a-insecticidas>; fecha de consulta: 20-05-2020. De Figueiredo, M. L., A. de C. Gomes, A. A. Amarilla, A. de S Leandro, A. de S Orrico, R. F. De Araujo, and L. T. Figueiredo. 2010. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. *Virology journal*, 7(1): 1-5.
- Dharmagadda, V. S. S., Naik, S. N., Mittal, P. K., & Vasudevan, P. (2005). Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Bioresource Technology*, 96(11), 1235-1240.
- Dirección General de Epidemiología. 2021. Casos confirmados por laboratorio de Síndrome Congénito asociado a Zika, México 2016–2021. en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/652543/Cuadro_SCAZ_CONFIRMADO_S_Laboratorio_28junio2021.pdf; fecha de consulta: 2-VIII-2021.

- Elango, G., Bagavan, A., Kamaraj, C., Abdus Zahir, A., & Abdul Rahuman, A. 2009. Oviposition-deterrent, ovicidal, and repellent activities of indigenous plant extracts against *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*,105(6), 1567-1576.
- Enan E, Beigler M, Kende A. 1998. Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effect on octopamine receptors. Paper presented at the International Symposium on Plant Protection, Gent, Belgium.
- García, E. 1990. Climas 1: 4000 000. IV.4.10 (A). Atlas Nacional de México. Vol. II. Instituto de Geografía, UNAM. México. <http://www.conabio.gob.mx/biotica/cms/Descargas/Biotica41/Capitulo12.pdf>; fecha de consulta: 10-III-2020.
- Harrington, L. C., A. Fleisher, D. Ruiz-Moreno, F. Vermeulen, C. V. Wa, R. L. Poulson, and T. W. Scott. 2014. Heterogeneous feeding patterns of the dengue vector, *Aedes aegypti*, on individual human hosts in rural Thailand. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 8(8), e3048.
- Higa, Y. 2011. Dengue vectors and their spatial distribution. *Tropical medicine and health*,39 (4SUPPLEMENT), S17-S27. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/658459/Pano_dengue_29_2021.pdf
- Ibáñez, B. S., B. Briseno, J. P. Mutebi, E. Argot, G. Rodríguez, C. C. Martínez, and A. Flisser. 1997. First record in America of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus during the 1995 outbreak at Reynosa, México. *Medical and veterinary entomology*, 11(4): 305-309.
- Martin de la G, A., T. A. González M, T. A. A. Marrero, H. V. Milián, C. H. Campañá, R. G. Iglesias. 2003. Obtención de un extracto plaguicida de *Gliricidia sepium* (Jaq.) ex Steud bajo la irradiación con microondas. *Rev. Cubana Plantas Medicinales*, 8(3): versión On-line ISSN 1028-4796.
- Méndez, F., M. Barreto, J. F. Arias, G. Rengifo, J. Munoz, M. E. Burbano, and B. Parra. 2006. Human and mosquito infections by dengue viruses during and after epidemics in a dengue–endemic region of Colombia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74(4): 678-683.
- Pan American Health Organization. 2016. Key messages for individuals and families regarding surveillance and control of *Aedes aegypti*: transmitter of dengue, chikungunya, Zika and other arbovirus diseases in the Americas. Washington DC. Pan American Health Organization. pp3.

- Palomino, M., W. León, P. Valencia, F. Cárdenas, J. Ancca. 2007. Evaluación de campo del efecto residual de la deltametrina sobre la mortalidad y knockdown en *Triatoma infestans*, según tipo de superficie en Arequipa, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica, 24(2): 136-143.
- Sharma, N., Qadry, J. S., Subramanium, B., Verghese, T., Rahman, S. J., Sharma, S. K., & Jalees, S. (1998). Larvicidal activity of *Gliricidia sepium* against mosquito larvae of *Anopheles stephansi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Pharm Biol, 36(1), 3-7.
- Secretaria de Salud. 2019. Panorama Epidemiológico de Dengue. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/524262/Pano_dengue_52_2019.pdf. Fecha de consulta: 21-X-2020.
- Secretaria de Salud. 2021. Panorama epidemiológico de dengue. Semana epidemiológica 29 de 2021. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/658459/Pano_dengue_29_2021.pdf. Fecha de consulta: 21-II-2021.
- Thirión- Icaza, J. 2003. El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México. México: Bayer Environmental Science. 137 p.