



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA MARÍTIMA, CIENCIAS BIOLÓGICAS,
OCEÁNICAS Y RECURSOS NATURALES**

**“ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LA VARIABILIDAD OCÉANO-
ATMOSFÉRICA LOCAL Y CASOS DE DENGUE EN LA PROVINCIA DE EL
ORO (ECUADOR)”**

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título:

INGENIERO OCEÁNICO Y CIENCIAS AMBIENTALES

Presentado por:

MARTHA GABRIELA BARAHONA SÁNCHEZ

GUAYAQUIL – ECUADOR

2015

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía y mi fuerza en el trayecto de mi vida. A mis padres, por su apoyo moral, económico y emocional, en cada etapa de mi vida. A mis profesores, por haber compartido sus conocimientos y experiencias. Y sobre todo a Bonny Bayot, Ph.D., mi directora de tesis, que ha sido una amiga y un apoyo en todas las fases tanto académicas como personales, brindándome su tiempo y consejos oportunos.

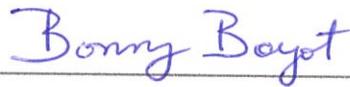
DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a los amores de mi vida, a mi hija que ha sido la fuerza en todo este trayecto, a mis padres por ser mi ejemplo de lucha, a mi hermana por siempre haber confiado en mí, Carmen por ser mi segunda madre y sobre todo a mis tres angelitos mi sobrina Amira y mis abuelitos María y Jorge.

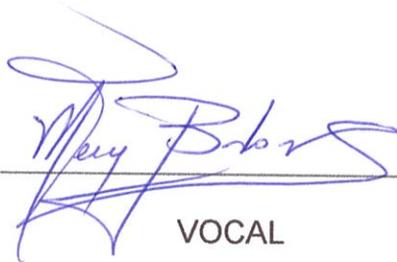
TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN



PRESIDENTE (e)
Ing. Eduardo Cervantes



DIRECTOR DE TESIS
Bonny Bayot, Ph.D.



VOCAL
Mercy Borbor, Ph. D.

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral".

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).



Martha Gabriela Barahona Sánchez

RESUMEN

La fiebre del dengue es la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante, de más rápida propagación, y de mayor preocupación mundial, y en Ecuador es desde 1990 una enfermedad de notificación obligatoria.

Al momento no existen vacunas efectivas contra el dengue, por lo que el único método de control son las campañas de fumigación del *Aedes aegypti*, principal mosquito vector de la enfermedad. Sin embargo, existe mucha controversia acerca de su efectividad, por lo que es necesario contar con herramientas adicionales de control y prevención. En esta tesis se evaluó si las condiciones oceanográficas locales interactúan localmente con el El Niño-Oscilación del Sur (ENOS) para influir en el clima local y por consiguiente en la transmisión del dengue en la provincia de El Oro (1995-2013). Utilizando modelos de regresión binomial negativa se encontró que las variables significativamente asociadas con la razón de morbilidad estandarizada (RME) de dengue fueron: climatología de RME (1 mes de adelanto), temperatura mínima del aire en Machala (1 mes de adelanto), precipitación en Machala, índice ONI 3.4 y temperatura subsuperficial del mar (5 m) en la Estación El Pelado, localizada en la costa central del Ecuador. El análisis de datos mostraron que el riesgo de la ocurrencia de dengue en la provincia de El Oro está significativamente asociado a las variables atmosféricas y

oceanográficas remotas, tal como ha sido reportado previamente en otros estudios, pero adicionalmente se encontró que las variables oceanográficas locales contribuyen al riesgo de la ocurrencia de dengue. Los resultados de esta tesis contribuyen al desarrollo de nuevas herramientas en la lucha contra el dengue, proporcionando un modelo estadístico de predicción de casos de dengue basado en datos históricos de variables epidemiológicas, oceánicas y atmosféricas.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO.....	II
DEDICATORIA.....	I
TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	I
DECLARACIÓN EXPRESA	I
RESUMEN.....	II
INDICE GENERAL.....	IV
LISTA DE TABLAS.....	VII
LISTA DE FIGURAS	VIII
ABREVIATURAS.....	XIII
INTRODUCCION	1
CAPÍTULO 1	5
ANTECEDENTES	5
1.1. Características del Dengue	5
1.1.1. Epidemiología del Dengue	5
1.1.2. Carga de la enfermedad (Global Burden of Disease, GBD).....	7
1.1.3. Transmisión.....	9
1.1.3.1. Virus.....	9

1.1.3.2.	Vector.....	10
1.1.3.3.	Mecanismos de transmisión	14
1.1.4.	Manejo clínico de la enfermedad.....	16
1.1.5.	Métodos de control vectoriales	17
1.1.6.	Método de Diagnostico	18
1.1.7.	Control y Vigilancia del Dengue.....	19
1.1.8.	Dengue en el Ecuador	21
1.2.	Oceanografía de la región Ecuatorial.....	23
1.2.1.	El Niño - Oscilación del Sur	23
1.2.2.	Variabilidad Oceanográfica en el Ecuador	25
1.3.	Asociación entre Dengue y Variabilidad Climática.....	27
CAPÍTULO 2		29
MATERIALES Y MÉTODOS.....		29
2.1.	Extensión geográfica del Estudio y Marco Conceptual.....	29
2.2.	Variables de estudio	32
2.2.1.	Variables oceanográficas.....	32
2.2.2.	Variables atmosféricas.....	33
2.2.3.	Variables epidemiológicas	34
2.2.4.	Variables entomológicas.....	37
2.3.	Análisis estadísticos de datos: Series de Tiempo	37
CAPÍTULO 3		45
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE DATOS		45
3.1.	Estacionalidad casos de Dengue y abundancia de vectores.....	45

3.2.	Interanualidad de los casos de Dengue y abundancia de vectores	54
3.3.	Modelos de regresión	58
3.3.1.	Resultados del análisis exploratorio	58
3.3.2.	Resultados de los modelos de regresión.....	61
CAPITULO 4		72
DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		72
4.1.	Discusión	72
4.2.	Conclusiones	78
4.3.	Recomendaciones	83
ANEXOS.....		85
BIBLIOGRAFÍA		86

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Resumen anual de los casos observados de dengue en la provincia de El Oro.	49
Tabla II. Resumen mensual de los casos observados de dengue en la provincia de El Oro (Periodo base 1995-2013).....	50
Tabla III. Resultado del análisis exploratorio bivariado de correlación cruzada entre las variables explicativas (atmosféricas y oceanográficas) versus el log de RME de dengue, donde las variables explicativas fueron adelantadas entre 0 y 6 meses (lags). Se destaca en negritas las correlaciones significativas en el análisis de correlación cruzada.	60
Tabla IV. Resultado del modelo de regresión binomial negativa que presentó el mejor ajuste para predecir la RME de dengue.	62

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Tomada de Kuhn et al., 2002: Crio-microscopía electrónica (cryo-EM) mostrando la estructura del virus dengue 2 (DENV-2). (A) Estructura icosaedro de 1 virión, la barra de escala representa 100 Å. (B) Corte del virión mostrando cuatro cubiertas esféricas del virión: la más externa (r4) consistente con la proteína E, la siguiente cubierta (r3) consistente con la proteína M, en el interior de estas proteínas externas se encuentran 2 capas concéntricas (r2) consistente con una bicapa lipídica, y más al interior se encuentra la nucleocápside conteniendo el genoma de ARN (r1), la barra de escala representa 175 Å.10
- Figura 2. Esquema del polipéptido completo transcripto por el ARN genómico de DENV, conformado por: tres proteínas estructurales: proteína C (cápside), proteína M (membrana) y proteína E (envoltura); y siete proteínas no estructurales: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5. Tomado del repositorio del Banco de Datos de Proteínas (PDB), disponible en línea: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1p58>.10
- Figura 3. Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti*.
- Fuente: <https://deleonscarlett.wordpress.com/2012/11/25/ciclo-de-vida-del-aedes-aegypti-2/>.....13
- Figura 4. Casos anuales de dengue en los tres cantones más poblados de la provincia de El Oro (Machala, Pasaje y Santa Rosa). Fuente de datos: SNEM.23

Figura 5. Interacción de las principales corrientes y masas de agua frente a las costas de Ecuador. Fuente: Johnny Chavarria. Centro Nacional de Acuicultura e Investigación Marina (CENAIM – ESPOL).	26
Figura 6. Mapa central: Área de estudio, mostrando los 14 cantones de la Provincia de El Oro y zoom de la ciudad de Machala (cantón Machala). Mapa localizador: Ubicación del área de estudio en el Ecuador. Mapa Regiones “El Niño”: regiones oceánicas de El Niño 3.4 y 1+2 utilizadas para la vigilancia de las condiciones ENOS y ubicación del Ecuador en el océano Pacífico Tropical. Fuente de datos espaciales: SNI, 2015 - http://www.sni.gob.ec . Sistema de referencia de coordenadas: UTM zona 17S, datum WGS 84.	30
Figura 7. Marco conceptual usado en la investigación. El Pelado (Estación Oceanográfica CENAIM: 1° 55' 53"S, 80° 0' 4.92" W, Provincia de Santa Elena); Machala (Estación INAMHI: 3° 17' 26" S, 79° 54' 5" W, Provincia El Oro); Puerto Bolívar (Estación Costera INOCAR: 3° 15' 34.77" S, 80° 0' 0.73" W, Provincia El Oro). Siglas: RME: Radio de Mortalidad Estandarizada, ONI: Índice Oceánico de El Niño, Temp: Temperatura, TSM: Temperatura Superficial del Mar, Ocean: Oceanográfica.	31
Figura 8. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para el periodo 1995-2013.	46
Figura 9. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para los años 1995, 1996, 1997, 1998, 1999 y 2000.	47

Figura 10. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para los años 2001, 2002, 2003, 2004, 2005 y 2006.	47
Figura 11. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para los años 2007, 2008, 2009, 2011, 2012 y 2013.	48
Figura 12. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para el 2010.....	48
Figura 13. Climatología de casos observados de dengue en la provincia de El Oro (Periodo base 1995-2013).	51
Figura 14. Climatología de la razón de morbilidad estandarizada (RME) de dengue en la provincia de El Oro (Periodo base 1995-2013).	51
Figura 15. Climatología trimestral de los índices entomológicos de casa y de Breteau y casos observados de dengue para la ciudad de Machala (Periodo base 2003-2011).	52
Figura 16. Serie de tiempo trimestral de los índices entomológicos de casa y de Breteau.....	53
Figura 17. Serie de tiempo mensual de anomalías estandarizadas de casos observados de dengue en la provincia El Oro.	55
Figura 18. Serie de tiempo mensual de la razón de morbilidad estandarizada (RME) de dengue en la provincia El Oro.	56
Figura 19. Serie de tiempo trimestral de anomalías estandarizadas de los índices entomológicos de casa y de Breteau (datos colectados en Machala),	

y serie de tiempo trimestral de anomalías estandarizadas de los casos observados de dengue en El Oro.	57
Figura 20. Series de tiempo de log de RME observado y log de RME predicho, este último obtenido con el mejor modelo de regresión binomial negativa.	64
Figura 21. Correlación lineal entre los casos predichos y casos observados de dengue. B: Correlación lineal entre el log de RME predicho y log de RME observado de dengue. En ambos casos, los valores predichos fueron obtenidos con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV.	65
Figura 22. Series de tiempo mensual de casos observados y casos predichos de dengue, este último obtenido con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV.	66
Figura 23. Series de tiempo mensual de log de RME observado y log de RME predicho, este último obtenido con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV, mostrando los 2 mayores valores de log de RME predichos para 1998 y 2010.	68
Figura 24. Series de tiempo mensual de casos observados y predichos, este último obtenido con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV, mostrando los 2 mayores valores de log de RME predichos para 1998 y 2010.	69

Figura 25. Series de tiempo mensual de anomalías estandarizadas de las variables explicativas significativamente asociadas al RME de dengue. Las series de tiempo explicativas están adelantadas: temperatura mínima del aire (1 mes de adelanto), precipitación (0 mes de adelanto), temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad (0 mes de adelanto) y temperatura superficial del mar en la región ONI 3.4 (3 meses de adelanto).
70

Figura 26. Climatología de las variables explicativas significativamente asociadas al RME de dengue: Temperatura mínima del aire (1 mes de adelanto), precipitación (0 meses de adelanto) y temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad (0 mes de adelanto).71

Figura 27. Serie de tiempo mensual de anomalías estandarizadas de la temperatura a 5 m de profundidad y casos observados de dengue para el periodo 1995-2013.77

Figura 28. Índice ONI región El Niño 3.4.85

Figura 29. Índice ONI región El Niño 1+2.85

ABREVIATURAS

AIC:	Criterio de Información de Akaike.
ARN:	Ácido Ribonucleico.
CENAIM:	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas.
CPC:	Climate Prediction Center.
DC:	Dengue Clásico.
DENV:	Dengue Virus.
DH:	Dengue Hemorrágico.
ENOS:	El Niño/Oscilación del Sur (El Niño/Southern Oscillation).
ESPOL:	Escuela Superior Politécnica del Litoral.
GBD:	Global Burden of Disease (Carga Global de una Enfermedad).
GLM:	Modelo Lineal Generalizado.
INAMHI:	Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología.
INEC:	Instituto Nacional de Estadística y Censos.
INOCAR:	Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador.
INSPI:	Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación.
MSP:	Ministerio de Salud Pública.
NOAA:	Natural Oceanic and Atmospheric Administration.
OMS:	Organización Mundial de la Salud.
ONI:	Índice Oceánico de El Niño (Oceanic Niño Index).

PDB:	Banco de Datos de Proteína.
PRNT:	Prueba de Neutralización por Reducción de Placas.
RME:	Razón de Mortalidad Estandarizada.
RR:	Riesgo Relativo.
RT-PCR:	Pruebas en Reacción en Cadena de la Polimerasa en Transcripción Reversa.
SAT:	Sistema de Alerta Temprana.
SCD:	Síndrome de Choque por Dengue.
SIVE ALERTA:	Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica Componente Alerta Acción.
SNEM:	Servicio Nacional de Control de Enfermedades Transmitidas por Vectores Artrópodos.
SNI:	Sistema Nacional de Información.
TSM:	Temperatura Superficial del Mar.
TSM:	Temperatura Superficial del Mar.
VIEPI:	Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública Ecuador.

INTRODUCCION

La fiebre del dengue es la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante, de más rápida propagación, y de mayor preocupación mundial [1]. El dengue es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las enfermedades desatendidas [1], y en Ecuador es desde 1990 una de las enfermedades de notificación obligatoria al Servicio de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública [2]. Aunque la transmisión ocurre principalmente en los trópicos, la enfermedad se ha reportado en países no tropicales como, Estados Unidos, Francia, Croacia, Portugal, China, entre otros, por lo que se estima que la tasa anual de casos nuevos de dengue puede ocurrir en un rango entre 50 y 100 millones de personas [1].

Al momento no existen vacunas efectivas contra el dengue y el único método de control mundialmente usado son las campañas de fumigación del mosquito vector de la enfermedad. Sin embargo, la aplicación extendida de esta práctica no ha impedido la extensa propagación mundial de la enfermedad [3]. Dada la controversia acerca de la efectividad del control de los mosquitos es necesario contar con herramientas adicionales que permitan a los tomadores de decisión, implementar, evaluar y refinar

localmente las estrategias apropiadas de control y prevención. Al respecto, la OMS recomienda el desarrollo de sistemas de alerta temprana (SAT) para las enfermedades donde el clima es un disparador de las epidemias. Se ha identificado que el dengue y otras trece enfermedades están relacionadas con el clima (cólera, malaria, meningitis, virus del Nilo, influenza, tripanosomiasis, leishmaniasis, fiebre amarilla, entre otras) [4]. Para estas enfermedades se recomienda el desarrollo de modelos predictivos de riesgo/ocurrencia basados en variables climáticas, los cuales al ser incorporados a los SAT pueden constituirse en métodos de prevención y control de la enfermedad [5].

Las variables climáticas: temperatura, humedad y precipitación juegan un rol importante en la disponibilidad del hábitat de las etapas larvarias del mosquito *Aedes aegypti*, principal vector de la enfermedad [6], ciclo de vida [7], ciclo gonotrófico [8], actividad de picadura [6] [12] y replicación viral en el mosquito [9]. Se ha comprobado la relación entre la variabilidad climática interanual El Niño/Oscilación del Sur (El Niño/Southern Oscillation - ENOS) [10] y las epidemias de dengue en algunos países [11], incluyendo en Ecuador [12]. Incluso, la relación estadística significativa entre los índices oceánicos remotos de la región Niño 3.4 y dengue ha sido aprovechada para la construcción de un SAT en Brasil que al momento está en etapa

experimental [11].

Recientemente, se desarrolló un modelo estadístico para explicar la variación de dengue en la provincia de El Oro, en función de variables climáticas (oceánicas y atmosféricas) y no climáticas [1]. La variable oceanográfica en el mencionado modelo es el índice oceánico de El Niño en la región oceánica 3.4 (ONI), el cual muestra una aceptable habilidad para predecir casos de dengue. Las variables climáticas usadas en tales modelos presentan un adelanto de algunos meses con respecto a la ocurrencia de casos de dengue [12]. Por tanto, tales modelos predictivos pueden proporcionar un tiempo de reacción para que los tomadores de decisión ejecuten planes de prevención, y con ello mitiguen las consecuencias de una epidemia.

A pesar que la señal ENOS en el Océano Pacífico Tropical Occidental y Central influye significativamente en la variabilidad interanual del Pacífico Tropical Oriental, la señal observada en las dos primeras regiones no se observa necesariamente en el Pacífico Oriental (en magnitud y ocurrencia). Ciertas condiciones oceanográficas locales, tales como la invasión de masas de agua más cálidas de la Bahía de Panamá y el fortalecimiento de la Corriente fría de Humboldt, interactúan a nivel local en Ecuador e influyen el clima en las provincias costeras a escala estacional e interanual.

Considerando que, la oceanografía local, influye en el clima de la costa ecuatoriana a ambas variabilidades (estacionales e interanuales), se plantea como hipótesis de esta tesis que existen indicadores oceánicos locales que explican parte de la incidencia de dengue en la Provincia de El Oro. Para probar esta hipótesis se estudió la correlación estadística entre la ocurrencia de dengue en la provincia de El Oro y las variables oceanográficas remotas y locales. Los resultados de este estudio pueden ayudar a refinar los modelos predictivos de dengue desarrollados para Ecuador y puede ser una contribución a una posterior iniciativa nacional de implementar un SAT para dengue.



CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1. Características del Dengue

1.1.1. Epidemiología del Dengue

El dengue es una enfermedad de creciente preocupación mundial. Recientemente, un exhaustivo análisis de la distribución mundial del dengue estimó una tasa anual de infección de 390 millones de personas [16]. Esta cantidad es tres veces superior a la cifra oficial reportada por la OMS (entre 50 y 100 millones de casos anuales nuevos de dengue) [34], lo cual muestra

la extensión del problema. Así, para el 2001, se reportó la ocurrencia de dengue en 69 países [55]. La enfermedad se ha dispersado inclusive a islas remotas como Isla de Pascua, Islas Galápagos, entre otras, donde no se conocía de reportes previos, lo que aparentemente está relacionado a la globalización mundial [55]. Para el 2014, la incidencia promedio en América fue de 161.3 x 100,000 habitantes [34]. Concomitantemente, los cuatro serotipos causantes de la enfermedad están circulando en todo el mundo, lo cual agrava su control. En Ecuador, como en algunos países americanos, circulan los 4 serotipos [34]. La forma más común está caracterizada por fiebres, intenso malestar general y duración limitada entre 5 y 6 días. Existen formas más severas y letales de la enfermedad (dengue con complicaciones).

El dengue es una enfermedad multifactorial con varios determinantes que complican su manejo. La temperatura, humedad y precipitación (factores climáticos) juegan un rol importante en la ecología del mosquito vector del dengue, y por tanto influyen la densidad poblacional del mosquito y la transmisión del virus del dengue (factores entomológicos) [26]. Se ha estimado que el riesgo de contraer dengue por efecto del cambio climático se incrementará significativamente, pudiendo afectar entre 5 y 6 billones de personas (50-60% de la población proyectada) para el 2085 [34]. El impacto económico provocado por el dengue sería del mismo orden de magnitud que

el provocado por otras enfermedades infecciosas (malaria, tuberculosis e infecciones transmitidas sexualmente excluyendo el SIDA) que tradicionalmente han recibido más ayuda financiera que el dengue [35]. El *Ae. Aegypti* prefiere habitar en los centros urbanos dada su preferencia por picar a los humanos y desovar en recipientes que contiene agua. Por tanto, la enfermedad también está fuertemente asociada al comportamiento humano, principalmente a los factores demográficos (crecimiento de la población mundial y urbanización que conlleva una insuficiente provisión de agua potable y de recolección de residuos sólidos) e; incremento de las movilizaciones humanas que facilita el transporte de los cuatro serotipos del dengue; factores socio-económicos/culturales (prácticas de almacenamiento de agua, nivel socioeconómico de la familia) y; factores espaciales (vegetación/espacio público, etc.).

1.1.2. Carga de la enfermedad (Global Burden of Disease, GBD)

La carga global de una enfermedad (GBD, por sus siglas en inglés) es la cuantificación de las pérdidas económicas causadas por la morbilidad y mortalidad de la enfermedad en lugares y tiempos específicos [13]. Particularmente, se han reportado altos valores de GBD para el caso del dengue. Por ejemplo, en el 2009 Argentina experimentó una epidemia de dengue, reportándose 27,000 casos sospechosos y un gasto total de entre

US\$ 6 y 9 millones de dólares [14]. Los costos para un caso ambulatorio no fatal y un caso con hospitalización no fatal han sido estimados en US\$ 514 y US\$ 1491, respectivamente [15]. Mientras que, el costo total promedio de un caso de dengue (cálculo considerando un promedio de los casos ambulatorios, los de hospitalización y aquellos en los que ocurre la muerte de la persona) ha sido estimado en alrededor de US\$ 828 [12]. Aunque, el costo total estimado por Suaya et al. no incluye a Ecuador, si considera el costo en otros países latinoamericanos (Brasil, El Salvador, Guatemala, Panamá y Venezuela), así como otros tres países en Asia (Camboya, Malasia y Tailandia), y por tanto a falta de cifras oficiales en el país, se considera en esta tesis que puede ser un estimado de referencia para el Ecuador.

Tomando en consideración que, en el 2014 se reportó en el Ecuador 15,446 casos de dengue [17]; el gasto estimado para el 2014 ocasionado por el dengue fue de US\$ 13 millones. Los gastos durante años de mayor transmisión viral serán superiores al estimado en el 2014. Por ejemplo en el 2010, cuando se reportó 18,130 casos de dengue en todo el país (17% más casos de dengue en el 2010, comparado con el 2014) el GBD provocado por el dengue puede ser estimado en US\$ 15 millones. No obstante, el GBD sería en realidad más alto, dado que para el cálculo no se ha considerado los costos generados por las actividades del gobierno, lo cual incluye costo por las actividades de prevención y promoción, control, vigilancia y costos

adicionales en casos de brotes epidémicos.

1.1.3. Transmisión

1.1.3.1. Virus

El virus del dengue (DENV, por sus siglas en inglés) es el agente causal del dengue. DENV es uno de los virus del género *Flavivirus*, familia *Flaviridae* [1]. Este género comprende mayoritariamente a los virus transmitidos por artrópodos (arbovirus). DENV es un virus icosaedro de 50 nm y comprende cuatro serotipos distintos, pero estrechamente relacionados (DENV-1 a DENV-4) que causan indistintamente la enfermedad del dengue [17] [18]. El virus tiene un genoma de ácido ribonucleico (ARN) de una sola cadena de sentido positivo, con una longitud de aproximadamente 10,700 nucleótidos y un único marco de lectura que traduce un polipéptido completo [4]. El genoma transcribe tres proteínas estructurales que forman la cubierta del virus y liberan el ARN a las células del hospedero: proteína C (cápside), proteína M (membrana) y proteína E (envoltura); y siete proteínas no estructurales, que están implicadas en la replicación del genoma y el ensamblaje viral: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5 (Figuras 1 y 2) [4] [19].

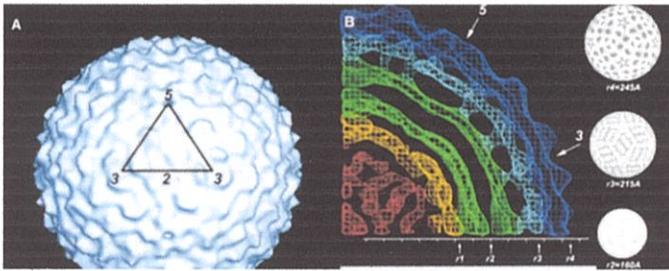


Figura 1. Tomada de Kuhn et al., 2002: Crio-microscopía electrónica (cryo-EM) mostrando la estructura del virus dengue 2 (DENV-2). (A) Estructura icosaedro de 1 virión, la barra de escala representa 100 Å. (B) Corte del virión mostrando cuatro cubiertas esféricas del virión: la más externa (r4) consistente con la proteína E, la siguiente cubierta (r3) consistente con la proteína M, en el interior de estas proteínas externas se encuentran 2 capas concéntricas (r2) consistente con una bicapa lipídica, y más al interior se encuentra la nucleocápside conteniendo el genoma de ARN (r1), la barra de escala representa 175 Å.



Figura 2. Esquema del polipéptido completo transcrito por el ARN genómico de DENV, conformado por: tres proteínas estructurales: proteína C (cápside), proteína M (membrana) y proteína E (envoltura); y siete proteínas no estructurales: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5. Tomado del repositorio del Banco de Datos de Proteínas (PDB), disponible en línea: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1p58>.

1.1.3.2. Vector

La enfermedad es transmitida por los mosquitos *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti* [1]. El principal vector urbano del dengue es el mosquito *Ae. Aegypti* [20], y

en Ecuador es el único vector conocido de la enfermedad [21]. El *Ae. aegypti* es una especie de mosquito que habita en climas tropicales y subtropicales, especialmente entre las latitudes 35 °N y 35 °S; sin embargo, su distribución en el mundo es muy amplia [1]. Es poco probable encontrar este mosquito en alturas mayores a los 1,200 metros sobre el nivel del mar, aunque existen reportes de ocurrencia de esta especie de mosquito en África, a altitudes cercanas a 2,400 m [22].

Sólo la hembra es hematófaga, actividad que es necesaria para metabolizar las proteínas necesarias para la formación de los huevos. El mosquito pica de día, con mayor actividad hematófaga dos horas después del amanecer y varias horas antes de la caída del sol [22].

El ciclo de vida del *Ae. aegypti* tiene dos etapas bien diferenciadas (Figura 3): (1) *fase acuática*, durante el cual evoluciona cronológicamente en tres formas (huevo, larva y pupa) y (2) *fase aérea*, que es el periodo de adultez (imago). El ciclo de vida se inicia cuando la hembra pone los huevos (aproximadamente 120 huevos por ovoposición) en las superficies verticales de los depósitos de agua (criaderos) [24] (Figura 3). Después de 2 a 3, días el huevo se convierte en larva, midiendo aproximadamente 1 mm [22], y tarda entre 5 y 7 días en pasar por cuatro estadios larvarios, llegando a alcanzar una longitud de 8 mm [6]. La larva se transforma en pupa (animalitos

en forma de coma que nadan en el criadero), permaneciendo en esta etapa sin comer, entre 2 y 3 días, después de los cuales emergen como adultos [22]. Las pupas necesitan entre 25 y 30 °C para emerger como mosquito adultos [22]. La hembra se alimenta por primera vez entre las 20 y 72 horas posteriores desde que se convierte a mosquito [22]. Los mosquitos viven un promedio de 15 a 30 días, dependiendo de las características de su hábitat [22]. Los huevos pueden permanecer viables por varios meses, si estos no cuentan con los medios adecuados para eclosionar, siendo resistentes a sequias, bajas temperaturas y al viaje de grandes distancias [7] [22]. La hembra es fecundada una sola vez en su vida, lo cual se da entre las 24 a 48 horas de haber emergido como adulto [22]. La alimentación del macho consiste en líquidos con azúcares (frutos, flores, etc.) [22]. El ciclo gonotrófico ocurre en un periodo de tiempo comprendido entre la ingesta de sangre humana, la digestión de la sangre, la maduración de los oocitos, la deposición de huevos (ovopostura) y la nueva ingesta de sangre [8]. Generalmente, el periodo entre la ingesta y la deposición de huevos dura aproximadamente 3 días, mientras que el ciclo gonotrófico puede hasta 20 días [8]. El ciclo de vida de los mosquitos está estrechamente relacionado con las condiciones ambientales (temperatura, humedad y precipitación). Los mosquitos no sobreviven a temperaturas menores a 4 °C y mayores a 40 °C [8].

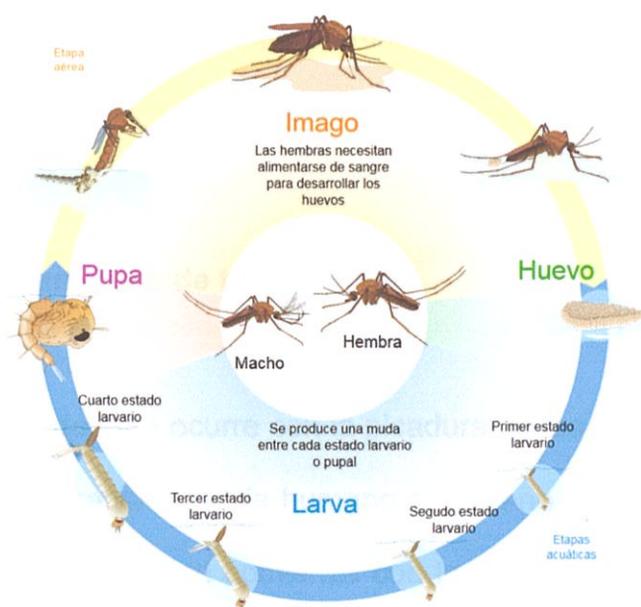


Figura 3. Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti*.

Fuente: <https://deleonscarlett.wordpress.com/2012/11/25/ciclo-de-vida-del-aedes-aegypti-2/>

La estimación de la población de *Ae. aegypti* se realiza cuantificando los estadios inmaduros del mosquito (larvas y pupas) con la ayuda de índices larvarios que usan los números de contenedores que contienen larvas y pupas en las casas examinadas. Los índices entomológicos más comunes son el *índice de Casa*, que es cuantificado como el porcentaje de casas inspeccionadas (con sus periferias) que contienen larvas o pupas en por lo menos un depósito; mientras que, el *índice de Breteau*, es cuantificado como el número total de depósitos que contienen larvas o pupas por cada 100 casas inspeccionadas. El uso de los índices entomológicos es controversial ya que se ha determinado que la misma hembra usa varios contenedores a la vez para la ovoposición, dejando en cada contenedor un aproximado de 10

a 11 huevos de los 120 huevos que aproximadamente coloca la hembra por ovopostura [24].

1.1.3.3. Mecanismos de transmisión

La transmisión del dengue ocurre con la picadura de los mosquitos *Aedes*. El virus no puede ser transmitido de humano a humano [6] [25] [2]. El ciclo de transmisión de la enfermedad comienza con la picadura del mosquito a una persona sana y la consiguiente inoculación de la saliva del mosquito conteniendo las partículas víricas [1] [2]. Durante un lapso aproximado de 5 días (periodo de viremia), el virus se replica en los órganos diana de la persona sana (nódulos linfáticos locales/hígado), luego infecta los leucocitos y otros tejidos linfáticos [2]. Posteriormente, el virus es liberado y circula en la sangre; este último periodo dura aproximadamente 7 días y es conocido como periodo de incubación intrínseco, sucediendo entre 1 día antes y 6 días después de la aparición de los síntomas [1] [22]. En este periodo, además de la aparición de los síntomas, como la fiebre, ocurre el periodo de transmisibilidad del virus de la persona al mosquito [9]. El ciclo de transmisión continúa cuando un segundo mosquito pica a la persona infectada en este periodo [9]. El DENV que se encuentra en la sangre del ser humano es ingerido por el mosquito durante su alimentación, multiplicándose en el intestino, ovarios, tejido nervioso y cuerpo graso de este [9]. Luego de

este periodo, el virus migra y se replica en las glándulas salivales [9]. Este periodo tiene una duración aproximada de 8 a 12 días luego de haber picado a la persona y corresponde al período de incubación extrínseco del virus [6]. Luego de este periodo, el mosquito se vuelve infectante, permaneciendo asintomático el resto de su vida [25].

Los factores climáticos inciden directamente en la transmisión viral [26]. La precipitación es una variable directamente relacionada con la densidad poblacional del *Ae. aegypti* [6]. El *Ae. aegypti* deposita los huevos en recipientes con agua limpia (llantas de carro, latas vacías o contenedores localizados generalmente en los patios de las casas), lo cual proporciona el hábitat adecuado para el desarrollo de los huevos y etapas larvales del mosquito [27]. El mosquito *Ae. aegypti* deja de depositar huevos (ovoposición) cuando la temperatura es menor igual a 17 °C [28]. A pesar de esto, las actividades de ingesta de sangre del mosquito continúan con temperaturas entre 13 y 15 °C [28]. La temperatura influye en el metabolismo de la hembra, la digestión de la sangre y el desarrollo de los ovarios, provocando que la ovopostura se realice en periodos mayores o menores. Así, a 26 °C la ovopostura sucede en un periodo de 3 días luego de la ingesta de la sangre [8]. A 32 °C la ovopostura se acorta y ocurre en un periodo de 2 días [8]. En el mismo sentido, a menor humedad ambiental, la maduración de los ovarios se retrasa [8]. Por otro lado, los huevos eclosionan

en un periodo de entre 6 y 10 días, a una temperatura aproximada de 25 °C y con un 70% a 80% de humedad relativa. La temperatura es un factor decisivo en la actividad de picadura del mosquito, la temperatura ideal para esto va entre 25 y 35 °C, pero tiende a rezagarse con temperaturas menores a 25 °C [6]. La temperatura ambiental también incide en la replicación viral en el mosquito. Se ha identificado que el mosquito presenta un periodo de incubación extrínseca de 12 días a una temperatura aproximada de 30 °C [29]. Este periodo se reduce a 7 días cuando el mosquito se expone a temperaturas entre 32 y 35 °C [29].

1.1.4. Manejo clínico de la enfermedad

Según la actual clasificación de la OMS [1], que es la oficialmente usada por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP), los casos de dengue son clasificados como: (1) *Dengue sin signos de alarma*: diagnosticados de esta forma si el paciente vive o viaja a un área endémica, si tiene fiebre y si presenta dos de los siguientes criterios: náuseas/vómitos, erupción, molestias/dolores, prueba del torniquete positiva, leucopenia (leucocitos totales $<3,000/\text{mm}^3$, o cualquier señal de advertencia, (2) *Dengue con signos de alarma*: clasificación que requiere intervención médica y caracterizada por una de los siguientes señales (dolor o sensibilidad abdominal, vómito persistente, acumulación de líquidos, sangrado de mucosas,

letargia/ansiedad, agrandamiento del hígado o incremento del hematocrito/disminución del número de plaquetas, (3) *Dengue grave*: que ocurre por extravasación del plasma y que conduce al Síndrome de Choque por Dengue (SCD) o acumulación de líquidos, hemorragia grave, o compromiso grave de los órganos (hígado, sistema nervioso central, corazón) [1][2].

1.1.5. Métodos de control vectoriales

Algunas compañías farmacéuticas y grupos de investigación están trabajando en el desarrollo de una vacuna tetravalente para prevenir la enfermedad; sin embargo, aún no se cuenta con vacunas autorizadas [30]. En ausencia de vacunas efectivas contra el dengue, el único método de prevención con el que se cuenta es el control de los mosquitos, realizado con las campañas de fumigación [1]. No obstante, esta estrategia necesita de esfuerzos constantes, sus resultados suelen ser muy costo-efectivos y no ha impedido la extensa propagación mundial de la enfermedad [3]. Para el control químico se utiliza larvicidas (temephos) o insecticidas y se considera que el mosquito se mantiene en un rango aproximado de 100 metros del lugar en donde surgieron [31]. Las medidas de saneamiento ambiental incluyen la eliminación de los criaderos, el mejoramiento de los servicios básicos (acceso al agua potable) y la ejecución de programas educativos que

transmiten las medidas de control que pueden ser tomadas por la comunidad [25].

1.1.6. Método de Diagnóstico

Los métodos de diagnóstico de dengue son: (1) aislamiento del virus, (2) métodos serológicos y (3) métodos moleculares [32]. Los dos primeros han sido los métodos tradicionales de diagnóstico de dengue. El método de aislamiento es usado para diagnosticar una infección en curso, donde el suero/sangre de los pacientes es aplicado a líneas de células de mosquitos, el virus es amplificado en las células infectadas y el serotipo es identificado con anticuerpos monoclonales específicos para cada serotipo del dengue. Los métodos serológicos están basados en la detección de anticuerpos IgM y IgG, e incluyen las técnicas MAC ELISA, IgG ELISA, la tasa IgM/IgG y la prueba PRNT (Prueba de neutralización por reducción en placas). Los métodos moleculares consisten en: (1) *pruebas en reacción en cadena de la polimerasa en transcripción reversa (RT-PCR, por sus siglas en inglés)*, que incluye el diagnóstico del serotipo viral con un RT-PCR anidado [33] y (2) *RT-PCR a tiempo real (real-time RT-PCR)*, en versiones singleplex o multiplex, para la detección de un serotipo a la vez o la detección de los 4 serotipos en una sola muestra, respectivamente. El Instituto Nacional de Salud Pública e

Investigación (INSPI) es el instituto que realiza el diagnóstico de dengue en el país.

1.1.7. Control y Vigilancia del Dengue

El dengue es una de las enfermedades de notificación obligatoria al Servicio de Vigilancia Epidemiológica del MSP desde 1990. Dentro de este contexto, la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica y el Servicio Nacional de Control de Enfermedades transmitidas por Vectores Artrópodos (SNEM) del MSP recoge la información de la Red Pública de Salud, a través del Sistema Integrado de Vigilancia Epidemiológica Componente Alerta Acción (SIVE-ALERTA), actualmente llamado VIEPI. El VIEPI es un sistema electrónico nacional de notificación de emergencias sanitarias y su objetivo es disminuir los índices de infestación del mosquito en áreas de riesgo potencial. En el marco de este sistema de vigilancia, se realizan varios procesos de colección de datos; se determina la necesidad de información según la alerta sanitaria y se analiza la forma de difusión y decisiones a tomarse según el caso [2].

La calidad de la información sanitaria depende en general de la organización del sistema de salud pública, y en particular de la oficina sanitaria que administra los datos. Cada una de las provincias del Ecuador tiene una oficina epidemiológica. El sistema nacional de salud en la provincia de El

Oro realiza un manejo de las estadísticas de las enfermedades transmitidas por artrópodos, con un adecuado flujo de información [2]. Parte de esta organización es explicada por el hecho que las oficinas provinciales que manejan los datos entomológicos (SNEM), epidemiológicos (MSP) y diagnóstico viral (INSPI), al igual que el Hospital provincial del MSP más grande de la provincia de El Oro (Hospital Teodoro Maldonado) están en una misma cuadra en la ciudad de Machala. La cercanía de las tres instituciones claves para el manejo del dengue y el principal hospital de la provincia, posibilita el escenario adecuado para un flujo constante de información.

En el caso específico de la provincia de El Oro, el MSP ha dividido la provincia en 9 áreas distritales, dos de estas áreas están dentro de la ciudad de Machala (Áreas 1 y 2). Ambas áreas contienen 19 centros y sub-centros de salud y el Hospital General Teófilo Dávila de la provincia de El Oro. Los pacientes sospechosos de dengue van a alguna de estas Unidades Operativas de Salud, donde los médicos clasifican los casos como: dengue sin signos de alarma (sin complicaciones), dengue con signos de alarma (con complicaciones), dengue grave y pacientes fallecidos por dengue. Un pequeño grupo de los pacientes gravemente afectados son direccionados al laboratorio de diagnóstico del INSPI de la ciudad de Machala, para confirmar el diagnóstico de la enfermedad. Este laboratorio envía la información confirmatoria (a nivel nacional) después de 5-14 días, vía un formato

electrónico que es una parte del Sistema VIEPI. Los epidemiólogos de cualquiera de las dos áreas y del Hospital Teófilo Dávila cierran los casos y envían la información a la Oficina de Epidemiología provincial de El Oro. Los casos sin complicaciones se registran semanalmente y son gestionados por la Oficina de Epidemiología de la Provincia de El Oro, que envía la información a la Oficina Nacional de Epidemiología. Para evitar el atraso del flujo de información, SNEM recoge diariamente la información de casos sospechosos de dengue con el objetivo de focalizar el control de vectores en barrios específicos. Las actividades de control incluyen la fumigación realizada desde los carros, fumigación de interiores de las casas, uso de larvicidas, eliminación de envases vacíos de criaderos de mosquitos, campañas de educación comunitaria y campañas de control de vectores. El control se intensifica durante la temporada de lluvia. Sin embargo, SNEM no utiliza la información climática del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) para refinar las campañas de fumigación.

1.1.8. Dengue en el Ecuador

El *Ae. aegypti* fue erradicado oficialmente del Ecuador en 1958, re-emergiendo en 1988. Posteriormente, el brote epidémico de mayor intensidad ocurrió en el 2000 (22,937 casos oficiales de dengue clásico – DC, clasificación anterior usada por la OMS, equivalente a la actual clasificación

de dengue sin signos de alarma) [1], estimándose que aproximadamente 2 millones de personas fueron afectadas tan solo por el serotipo de dengue 1 (DENV 1). En Ecuador rutinariamente se llevan a cabo programas de control de mosquitos, pero no se observa un decrecimiento en las estadísticas de la enfermedad. Tan solo en el primer trimestre del 2010, se reportaron en las provincias costeras 3,985 y 78 casos de DC y dengue hemorrágico (DH – antigua clasificación usada por la OMS), respectivamente; representando 3.5 veces más de lo detectado en las 10 primeras semanas del 2009 [1]. Se estima que las cifras reales son mucho más altas dado que la enfermedad se puede presentar en forma asintomática. Además, existe un porcentaje de pacientes que son atendidos en forma privada.

El dengue en la provincia de El Oro se presenta en forma endémica durante todo el año, particularmente en el Cantón Machala, donde los casos reportados representaron entre 2000 y 2013 el 45% de los casos reportados en la provincia de El Oro (Figura 4).



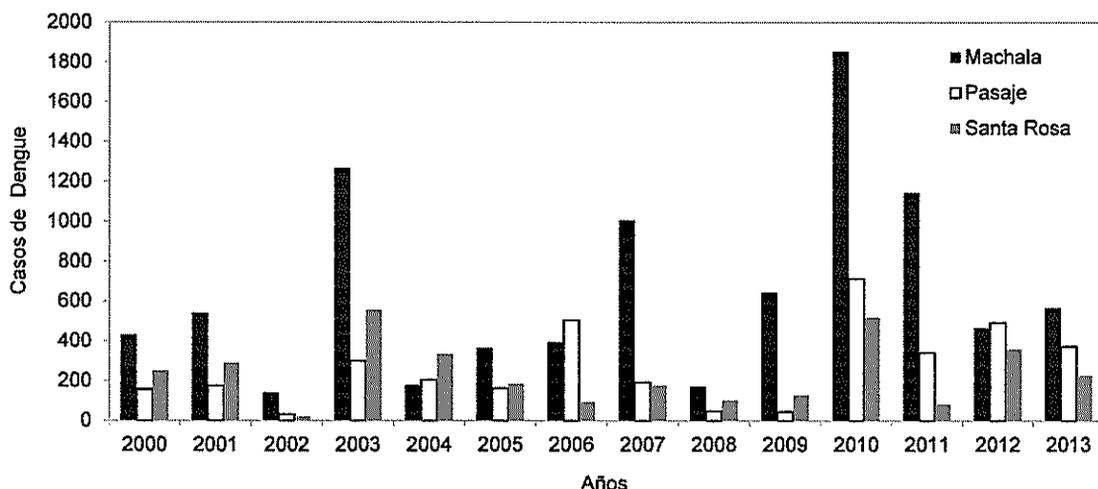


Figura 4. Casos anuales de dengue en los tres cantones más poblados de la provincia de El Oro (Machala, Pasaje y Santa Rosa). Fuente de datos: SNEM.

1.2. Oceanografía de la región Ecuatorial

1.2.1. El Niño - Oscilación del Sur

El evento ENOS es la oscilación climática interanual más importante que ocurre en la Tierra [36]. El fenómeno ocurre en el océano Pacífico y está caracterizado por la ocurrencia de dos eventos climáticos de escala global: El Niño y La Niña. En general, estos eventos climáticos ocurren alternadamente y están caracterizados principalmente por anomalías océano-atmosféricas cálidas y frías, respectivamente. Aunque, el fenómeno se genera en el océano Pacífico, consigue alterar el clima en todo el mundo a través de complicados mecanismos de tele-conexiones atmosféricas. La generación de

los eventos ENOS está asociada a la variabilidad interanual de la actividad de los centros de alta presión del Pacífico Sur y de baja presión del Pacífico Indico, y por consiguiente a la interanualidad en el patrón de vientos que se genera por efecto de la actividad de estos dos centros de presión (Oscilación del Sur). En condiciones normales, los vientos alisios del sureste soplan desde el centro de alta presión al de baja presión, ocasionando un apilamiento de aguas cálidas en el océano Pacífico Occidental, mientras que al otro lado del océano Pacífico, ocurre un afloramiento de aguas frías. Durante, los eventos El Niño, los vientos alisios del sureste disminuyen su actividad y como consecuencia ocurre un desplazamiento del agua cálida, que normalmente está en el Pacífico Occidental hacia el este, incrementando la temperatura del mar a lo largo del océano Pacífico Ecuatorial (5°N-5°S). Paralelamente, se generan ondas internas, que viajan del oeste al este, y que se traduce en la profundización de las isotermas a lo largo del océano Pacífico ecuatorial y en un incremento de temperatura en la columna de agua, que genera fuerte precipitaciones en gran parte del Pacífico [42]. Los patrones atmosféricos son alterados y la circulación Walker se ve desplazada, originando patrones atmosféricos anormales. Por el contrario, la fase fría La Niña del ciclo ENOS se caracteriza por la intensificación de los vientos alisios del sureste, que en el Ecuador se manifiesta por el fortalecimiento de la Corriente de Humboldt y la presencia de condiciones anormalmente frías y secas en gran parte del territorio ecuatoriano.

Particularmente, El Niño es considerado el fenómeno climático con mayor impacto a las actividades humanas (agricultura, pesca, acuicultura, turismo, salud, mercados internacionales, entre otros), con amplia afectación a las enfermedades sensibles al clima, tales como las enfermedades transmitidas por el agua y por insectos [40].

1.2.2. Variabilidad Oceanográfica en el Ecuador

La variabilidad oceanográfica en el mar ecuatoriano está caracterizada por la presencia estacional de varias masas de agua. Entre enero y abril, se presenta en la costa ecuatoriana la estación climática cálida/lluviosa [37]. En esta estación climática ocurre la invasión de la Corriente del Niño que transporta las Aguas Tropicales Superficiales (ATS) desde la Bahía de Panamá hasta gran parte del norte del mar ecuatoriano (aguas con temperaturas superiores a 25 °C) (Figura 5) [37]. Entre junio y noviembre, se presenta en la costa ecuatoriana la estación climática fría/seca, la misma que propicia la presencia de las Aguas Subtropicales Superficiales (ASTS) en el sur del mar ecuatoriano y cuyas temperaturas superficiales oscilan entre 18 y 25 °C [37]. Estas aguas provienen del sur del Ecuador y son transportadas por la Corriente fría de Humboldt. Entre las dos masas de agua, se observa una zona de fuerte gradiente termohalino, el mismo que es conocido como Frente Ecuatorial, y que oscila latitudinalmente entre la ATS y ASTS. El

fortalecimiento del Frente Ecuatorial es también estacional, de tal forma que, es más definido en los meses de la estación climática fría/seca, y prácticamente desaparece en los meses de la estación climática cálida/lluviosa [37]. La estacionalidad de estas masas de agua modula en gran medida el clima en la costa ecuatoriana, de tal forma que las variables ambientales tales como temperatura del aire, humedad, precipitación, entre otras muestran un patrón estacional que responde a la climatología de las masas de agua oceánicas.

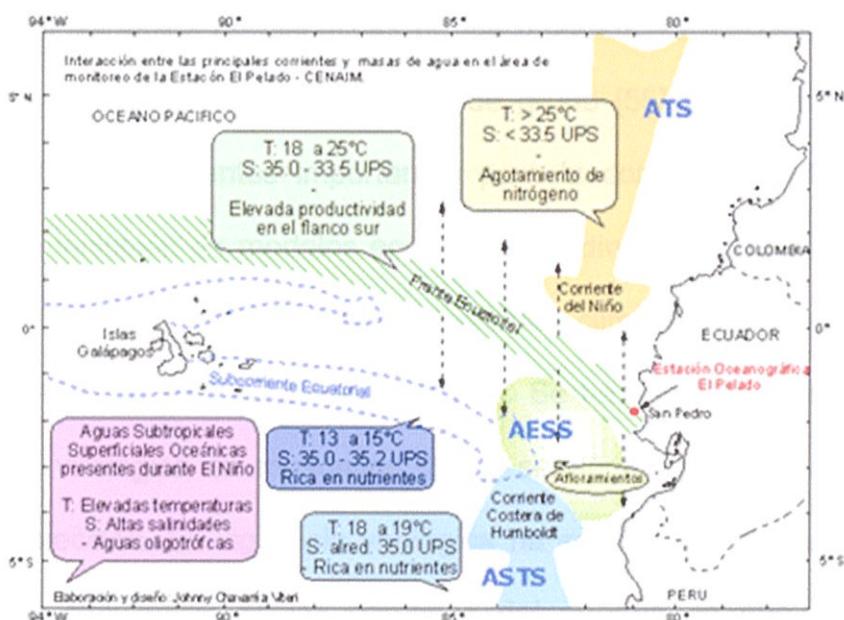


Figura 5. Interacción de las principales corrientes y masas de agua frente a las costas de Ecuador. Fuente: Johnny Chavarria. Centro Nacional de Acuicultura e Investigación Marina (CENAIM – ESPOL).

1.3. Asociación entre Dengue y Variabilidad Climática

Los eventos ENOS y las predicciones climáticas estacionales permiten una herramienta útil para la construcción del pronóstico de enfermedades, que como el dengue, están modeladas por el clima. La literatura menciona la asociación entre variabilidades climáticas interanuales (El Niño-Oscilación del Sur – ENOS), índices entomológicos y epidemias de dengue [38]. Sin embargo, algunos de los modelos de predicción de dengue basados en clima no han llegado a ser lo suficientemente explicativos [54], por lo que resulta necesario incluir variables no climáticas en los modelos. Al respecto, se ha sugerido la consideración de la inmunidad de grupo [55] y la movilización humana [56]. Otros elementos importantes para la construcción de estos modelos son la inclusión de modelos ecológicos de dinámica poblacional de mosquitos, que a su vez están basados en variables climáticas [57]; así como la consideración de índices entomológicos [58]. Se ha sugerido la inclusión de información virológica en mosquitos [59] y serológica [60] por distintos métodos de detección. La vigilancia virológica ha servido para la detección del cambio de circulación de los serotipos del dengue, lo que ha sido asociado como disparador de epidemias [61]. Una variable importante en el caso del dengue es la precipitación; en exceso de lluvias se incrementan los pozos de agua, mientras que durante las sequías, la población se abastece con contenedores de agua limpia; en ambos casos se incrementa el hábitat

para la reproducción del *Ae. aegypti*, que es el vector que transmite el dengue [49]. Se ha encontrado una alta correlación entre dengue-precipitación, y dengue-humedad relativa usando modelos de regresión de Poisson [50]. En un estudio realizado en México, se determinó que la relación significativa entre dengue y temperatura, lo cual incluso hace que el vector del dengue se mantenga en un límite geográfico de 2100 msnm. Sin embargo, el *Ae. aegypti* podría llegar a ser endémico en altitudes incluso mayores a 2400 msnm, tal como se observado en México. Adicionalmente, se ha determinado tendencias de incremento en las temperaturas anuales de entre 0.15 y 0.20 °C por década, generando así mayores hábitats con factores favorables para la proliferación del vector [51]. En el estudio realizado en la provincia de El Oro [1], se realizó un modelo predictivo para determinar casos de dengue con la ayuda de variables oceánicas y atmosféricas. En este modelo la humedad relativa y el ONI región Niño 3.4 fueron las variables explicativas más importantes [1].

Los eventos ENOS y las predicciones climáticas estacionales permiten una herramienta útil para la construcción de pronóstico de enfermedades, que como el dengue, están modeladas por el clima. La literatura menciona la asociación entre variabilidades climáticas interanuales (El Niño-Oscilación del Sur – ENOS), índices entomológicos y epidemias de dengue [38].

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Extensión geográfica del Estudio y Marco Conceptual

El estudio se realizó en la provincia de El Oro (Ecuador). El Oro es la provincia costera más sureña del Ecuador. El clima de esta provincia está influenciado por la variabilidad oceánica a escala estacional e interanual. La provincia está dividida en 14 cantones y posee una población de 600,659 habitantes, repartidos principalmente en el Cantón Machala, donde se asienta el 41% de la población de la provincia (INEC, 2010) (245,972 habitantes) (Figura 6).

Los otros dos cantones más poblados son Pasaje y Santa Rosa, donde se asientan el 12.1 y 11.5% de la población, respectivamente [44].

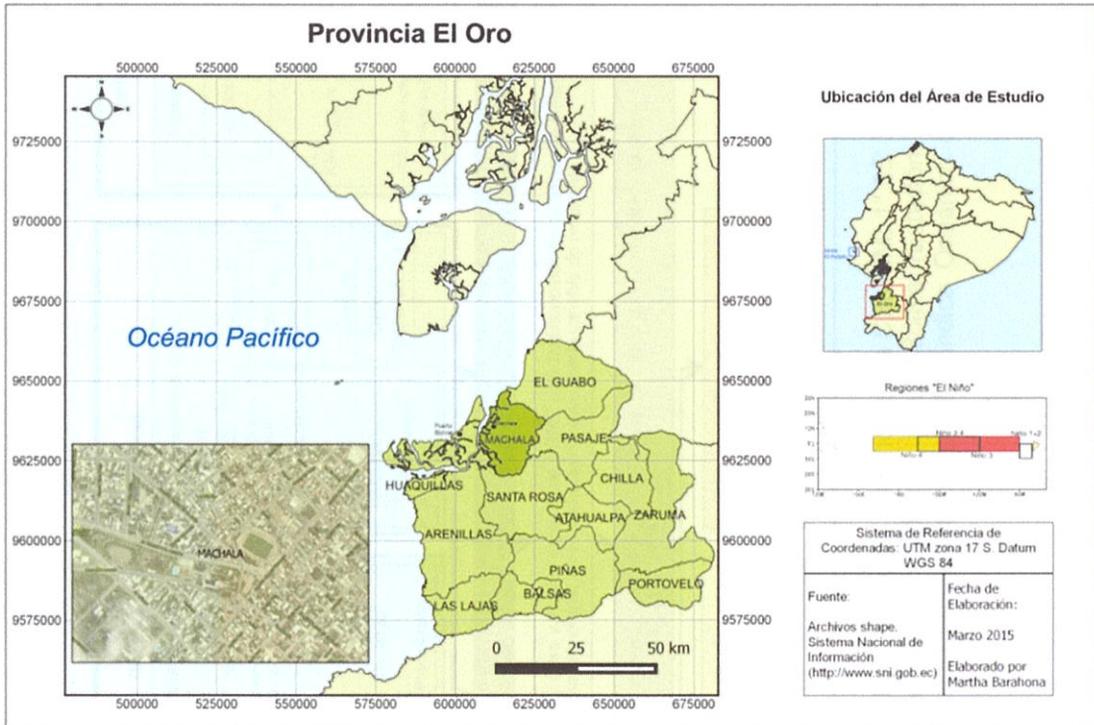


Figura 6. Mapa central: Área de estudio, mostrando los 14 cantones de la Provincia de El Oro y zoom de la ciudad de Machala (cantón Machala). Mapa localizador: Ubicación del área de estudio en el Ecuador. Mapa Regiones "El Niño": regiones oceánicas de El Niño 3.4 y 1+2 utilizadas para la vigilancia de las condiciones ENOS y ubicación del Ecuador en el océano Pacífico Tropical. Fuente de datos espaciales: SNI, 2015 - <http://www.sni.gob.ec>. Sistema de referencia de coordenadas: UTM zona 17S, datum WGS 84.

La figura 7 muestra el marco conceptual usado en la presente investigación, el mismo que se detalla a continuación.

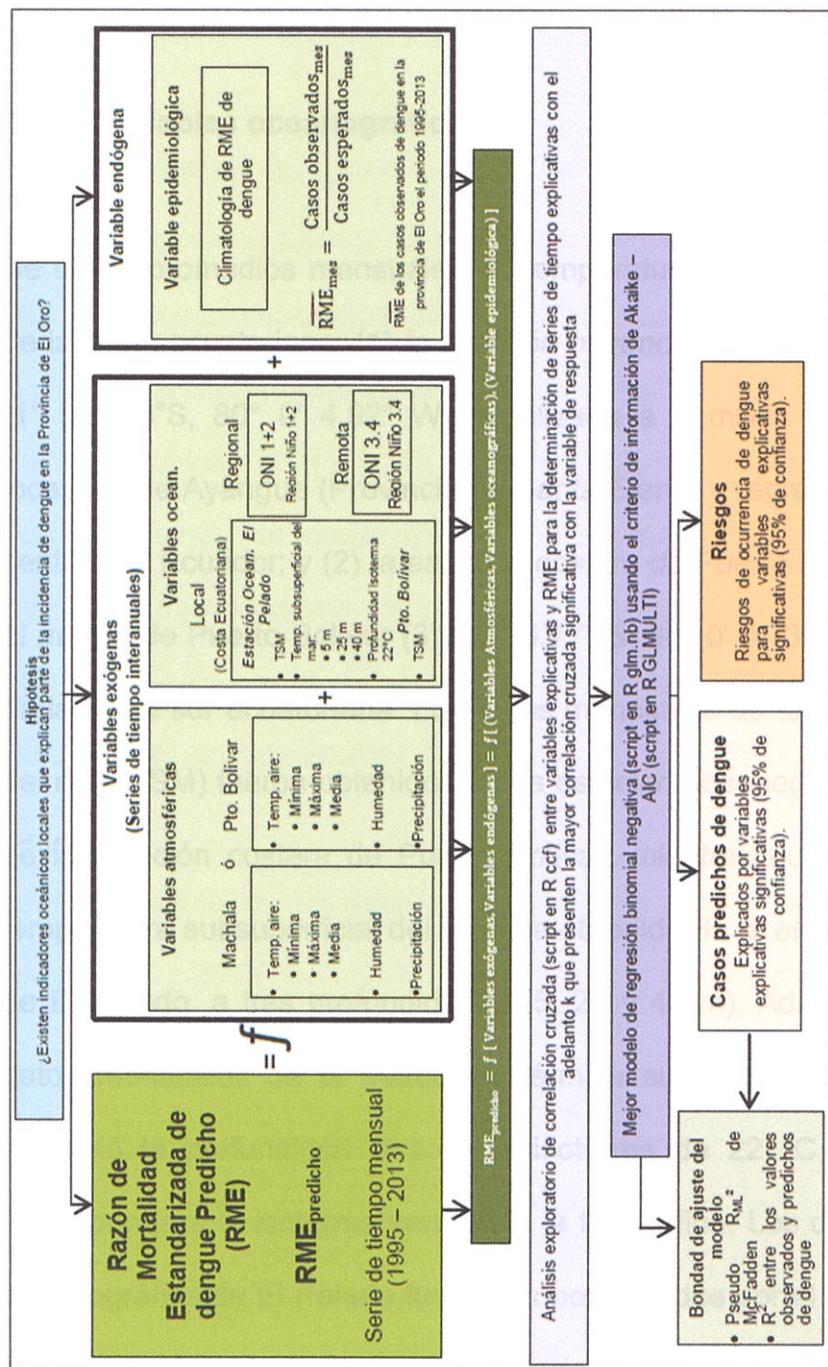


Figura 7. Marco conceptual usado en la investigación. El Pelado (Estación Oceanográfica CENAIM: 1° 55' 53" S, 80° 0' 4.92" W, Provincia de Santa Elena); Machala (Estación INAMHI: 3° 17' 26" S, 79° 54' 5" W, Provincia El Oro); Puerto Bolívar (Estación Costera INOCAR: 3° 15' 34.77" S, 80° 0' 0.73" W, Provincia El Oro). Siglas: RME: Ratio de Mortalidad Estandarizada, ONI: Índice Oceánico de El Niño, Temp: Temperatura, TSM: Temperatura Superficial del Mar, Ocean: Oceanografía.

2.2. Variables de estudio

2.2.1. Variables oceanográficas

Se utilizó promedios mensuales de temperatura del mar de dos localidades de la costa ecuatoriana: (1) *la estación oceanográfica costa afuera El Pelado* ($1^{\circ} 55' 53''\text{S}$, $80^{\circ} 0' 4.92''\text{W}$), localizada a 5 millas náuticas frente a la localidad de Ayangué (Provincia de Santa Elena) y representativa de la costa central del Ecuador; y (2) *la estación costera de Puerto Bolívar*, localizada en el muelle de Puerto Bolívar ($3^{\circ} 15' 34.77''\text{S}$, $80^{\circ} 0' 0.73''\text{W}$) y representativa de la costa sur ecuatoriana. Los datos mensuales de temperatura superficial del mar (TSM) fueron obtenidos de la estación oceanográfica de El Pelado y de la estación costera de Puerto Bolívar; mientras que, la información de temperatura subsuperficial del mar fue obtenida de la estación oceanográfica de El Pelado, a tres profundidades (5, 25 y 40 m). Adicionalmente, con los datos mensuales de la estructura térmica subsuperficial de El Pelado se interpoló la profundidad (m) de la isoterma de 22°C , que en promedio corresponde a la isoterma central de la termoclina. Los datos de la estación oceanográfica de El Pelado fueron proporcionados por el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Los datos de la estación costera de Puerto

Bolívar fueron provistos por el Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador (INOCAR).

Se utilizó la serie de tiempo mensual del índice oceánico de El Niño (ONI), el mismo que es calculado por el Climate Prediction Center (CPC) de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA), y definido como la media móvil de 3 meses de la anomalía de TSM en la región centro-este del Pacífico tropical (5° N - 5° S, 170° E - 120° W) (período base: 1981-2010). Adicionalmente, se construyó un índice similar para la región Niño 1+2 (región extremo oriental del Pacífico Tropical: 0° - 10° S, 90° - 80° W), siguiendo la misma metodología utilizada para la construcción del ONI 3.4 y denominado en este análisis como índice costero de El Niño ONI 1+2.

En todos los casos, los datos oceanográficos analizados cubrieron el periodo entre 1995 y 2013.

2.2.2. Variables atmosféricas

Se utilizó las variables atmosféricas que la literatura reporta asociadas a la transmisión de dengue (temperatura del aire, precipitación y humedad relativa). Las variables de temperatura del aire analizadas fueron: temperaturas promedio, mínima y máxima. Se trabajó con los promedios

mensuales de humedad relativa (%) y temperatura del aire (°C) y los acumulados mensuales de precipitación (mm). La información atmosférica fue obtenida de dos estaciones meteorológicas: (1) Granja Santa Inés, localizada en la ciudad de Machala (3° 17' 26" S, 79° 54' 5" W), proporcionada por el INAMHI, y (2) estación costera de Puerto Bolívar, cuya información fue proporcionada por INOCAR.

En todos los casos, los datos atmosféricos analizados cubrieron el periodo entre 1995 y 2013.

2.2.3. Variables epidemiológicas

El MSP proporcionó los casos clínicos sospechosos semanales de dengue, reportados al sistema de información VIEPI, que en su formato original son desglosados a nivel de cantón y semana epidemiológica (periodo de 7 días, iniciando el domingo y terminando el sábado). Los casos semanales de dengue de todos los 14 cantones fueron sumados para obtener el total semanal de casos a nivel provincial. Los datos de la semana epidemiológica fueron agregados a una escala mensual. Para este análisis, cuando una semana epidemiológica contuvo días de dos meses contiguos (casos presentados en las semanas epidemiológicas que contienen los primeros y últimos días del mes), ésta fue asignada al mes para el cual la semana

epidemiológica presentó entre 4 o más días. El periodo de estudio se realizó con datos colectados entre 1995 y 2013. Los valores calculados de la forma anteriormente descrita (casos clínicos sospechosos de dengue a escala mensual) son denominados en este estudio “casos observados mensuales de dengue”.

Con los valores mensuales observados de dengue se calculó la Razón de Mortalidad Estandarizada (RME) mensual de dengue, calculada como el cociente entre los casos observados de dengue para un mes determinado y los casos esperados de dengue para ese mes (ecuación 1) [41]. Los casos esperados de dengue fueron calculados como la población en riesgo a contraer dengue en el mes correspondiente ($Población_{mes}$), multiplicado por la razón global de dengue para el periodo 1995-2013 (ecuación 2). Este último parámetro es calculado como el cociente entre el total de casos de dengue para el periodo 1995-2013 y la suma mensual de las poblaciones en el periodo 1995-2013 (ecuación 3).

$$RME_{mes} = \frac{\text{Casos observados}_{mes}}{\text{Casos esperados}_{mes}} \quad (1)$$

Donde,

RME_{mes} = Razón de morbilidad estandarizada para un mes determinado

$\text{Casos observados}_{mes}$ = Casos observados para un mes determinado

Casos esperados_{mes} = Casos esperados para un mes determinado

$$\text{Casos observados}_{\text{mes}} = \text{Casos esperados}_{\text{mes}} \times \text{Razon global de dengue}_{1995-2013} \quad (2)$$

$$\text{Razon global de dengue}_{1995-2013} = \frac{\sum_{i=1995}^{2013} \text{Casos observados}_{\text{mes}}}{\sum_{i=1995}^{2013} \text{Población}_{\text{mes}}} \quad (3)$$

Donde,

Población_{mes} = Población de El Oro para un mes determinado

La población mensual de El Oro fue interpolada con una curva de regresión lineal, calculada con la población de la provincia para los tres censos nacionales realizados por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) en 1990, 2001 y 2010 [44].

Valores de RME superiores a 1,0 indicaron que más casos de dengue ocurrieron de lo que se hubiera esperado para el mes correspondiente. En tanto que, valores de RME inferiores a 1.0 señalaron que menos casos de dengue ocurrieron en el mes correspondiente. La fracción decimal mostró la comparación porcentual entre los casos observados y los casos esperados.

2.2.4. Variables entomológicas

El SNEM Zona VIII (El Oro) proporcionó los índices entomológicos de Casa y Breteau para la ciudad de Machala, a una escala trimestral, desde el 2003 hasta el segundo trimestre del 2011. El índice de casa correspondió al porcentaje de casas infectadas con pupas o larvas de *Ae. Aegypti*, mientras que, el Índice de Breteau correspondió al número de contenedores positivos (conteniendo mosquitos) por cada 100 casas inspeccionadas. Las variables entomológicas no fueron incluidas en el análisis exploratorio y de los modelos de regresión al no contar con la información completa durante el periodo de estudio (1995-2013).

2.3. Análisis estadísticos de datos: Series de Tiempo

En este estudio, la variable de respuesta de los modelos de regresión fue la RME de dengue; mientras que las variables explicativas fueron todas las variables oceanográficas y atmosféricas anteriormente descritas (predictores exógenos). Adicionalmente, para explorar si los modelos de regresión debían contener predictores endógenos, se analizó mediante análisis de correlación cruzada si la climatología de RME de dengue (promedios mensuales multianual para el periodo 1995-2013) estaba significativamente asociada a los valores de RME. Para el efecto, se realizó un análisis de correlación

cruzada entre ambas series de tiempo, donde además se observó a que adelanto k meses (lag) se presentaba la mayor correlación entre ambas series de tiempo. Para este análisis se usó la función CCF (Paquete STATS) del software R 3.1.3 [47].

Se realizó un primer proceso de edición y verificación de los datos antes del análisis estadístico (revisión de consistencia, valores extremos, valores perdidos y coherencia lógica). En cada una de las series de tiempo, los valores perdidos fueron rellenados con el respectivo promedio mensual multianual. En ningún caso la cantidad de datos perdidos fue mayor a 5.

Las variables explicativas y de respuesta fueron analizadas con la metodología clásica de análisis de series de tiempo, mediante la descomposición en sus componentes de estacionalidad e interanualidad. Previamente, se determinó visualmente si la variable de respuesta presentó una tendencia y se calculó los valores estadísticos descriptivos para el periodo de tiempo analizado: máximo, mínimo, promedio y desviación estándar.

La estacionalidad de las variables explicativas y de respuesta fue obtenida calculando los valores mensuales multianuales. Se correlacionó la estacionalidad de las variables explicativas y de respuesta en forma visual.

Las anomalías positivas/negativas de RME (diferencia con respecto a 1.0) fueron interpretadas como casos observados superiores/inferiores que lo normal para el mes correspondiente y por lo tanto indicativo de la variabilidad interanual. Para el caso de las variables explicativas, se determinó si estas siguieron una distribución normal, usando la prueba de Kolmogorov Smirnov. Tal asunción fue satisfecha en casi todas las variables, excepto en las variables atmosféricas temperatura máxima y media del aire, precipitación, TSM de la región Niño 1+2 y profundidad de la isoterma de 22 °C. Las anomalías mensuales de las variables explicativas fueron calculadas como las desviaciones del valor mensual correspondiente con respecto al promedio mensual multianual correspondiente, dividido para la desviación estándar mensual multianual correspondiente. Adicionalmente, y solamente para efectos descriptivos, se calculó las anomalías estandarizadas de los casos observados de dengue. Cabe destacar que no se utilizó esta variable en la inferencia estadística, por no estar estandarizada por la información de población (que en el periodo estudiado creció linealmente).

Posteriormente, se realizó una observación visual para determinar si algunas series de tiempo presentaban variabilidades de alta frecuencia (bajo periodo), en cuyo caso, las series de tiempo fueron suavizadas utilizando filtros pasabajos de medias móviles y filtro finito.

En un primer paso del se realizó un análisis exploratorio bivariado de correlación cruzada entre el logaritmo natural (\log) de la RME de dengue y cada una de las variables explicativas, usando la función CCF (Paquete STATS) del software R 3.1.3 [47]. El análisis de correlación cruzada fue realizado adelantando k meses las variables explicativas $[X(t + k)]$, donde k tomó valores entre 0 y 6 meses (lags) con respecto a la serie de tiempo de la respuesta $[Y(t)]$. Para cada variable explicativa, se escogió la serie de tiempo con el adelanto k que presentara la mayor correlación cruzada significativa con la variable de respuesta $[\log(\text{RME de dengue})]$. Para reducir las variables atmosféricas, se escogió la estación (Granja Santa Inés o Puerto Bolívar) cuyas variables atmosféricas presentaran las mayores correlaciones cruzadas con la variable de respuesta. Además, en base al criterio de mayor correlación significativa, se escogió para el análisis posterior de regresión, una de las 3 temperaturas del aire (máxima, media ó mínima). En el mismo sentido, se escogió una de las temperaturas subsuperficial del mar, siendo esta aquella que presentara la mayor correlación cruzada significativa con dengue. Finalmente, para el análisis posterior de regresión se escogió la TSM (El Pelado o Puerto Bolívar) con mayor correlación significativa. Con esta información, se construyó un nuevo juego de variables explicativas adelantadas k veces, según el resultado anterior, las mismas que fueron utilizadas para el segundo paso del análisis de construcción del modelo de regresión.

En un segundo paso del análisis, los valores de log de RME de dengue, en función de las variables explicativas adelantadas k meses fueron modelados utilizando una regresión de Poisson, usando la función GLM, familia Poisson (Paquete MASS) del software R 3.1.3 [47]. En este análisis, el log de RME de dengue se usó como función link y se ligó a la función linear de las variables explicativas X_1, \dots, X_n , donde n es el número de predictores en el modelo de regresión de Poisson (ecuaciones 4 y 5).

$$\log(\text{RME}_{\text{mes}}) = \alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n \quad (4)$$

$$\log\left(\frac{\text{Casos observados}}{\text{Casos esperados}}\right) = \alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n \quad (5)$$

En la ecuación 6, el log de los casos esperados de dengue fue usado como offset, lo cual permitió controlar los valores de predicción de dengue en función directa de los casos de dengue que se esperarían considerando la población en riesgo para un mes determinado.

$$\log(\text{Casos observados}) = \log(\text{Casos esperados}) + (\alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n) \quad (6)$$

Posteriormente, se verificó si el modelo de Poisson cumplió la asunción de equidispersión indispensable en las variables que siguen esta distribución [varianza (y) = media (μ)], utilizando la prueba estadística de la razón de

verosimilitud entre las distribuciones Poisson y binomial negativa [razón de verosimilitud = 2 (loglik (poisson) – loglik (binomial negativa))], la misma que sigue una distribución Chi cuadrado. En esta prueba, la hipótesis nula evaluada fue $\theta = 0$, siendo θ el parámetro de dispersión. Donde, la varianza (y) de una distribución binomial negativa es igual a $\mu + \theta \mu^2$. Por tanto, si el parámetro de dispersión θ fue distinto de 0, se concluyó que la variable de respuesta siguió una distribución binomial negativa, y por tanto se procedió a modelar los datos con un modelo lineal generalizado binomial negativa (GLM). La prueba estadística mencionada fue ejecutada con la función PCHISQ (paquete MASS) del software R 3.1.3 [47]. El modelo de regresión binomial negativa fue también corrido en R utilizando la función GLM.NB (paquete MASS). El mejor modelo binomial negativa fue seleccionado usando la función de selección multimodelo GLMULTI en R, siendo escogido en base al criterio de información de Akaike (AIC) más bajo, en donde la devianza del modelo se corrige para el número de variables explicativas.

Las variables que explicaron significativamente a la variable de respuesta fueron aquellas que presentaron en el modelo binomial negativa un valor p menor igual a 0.05 (95% de confianza). La bondad de ajuste del modelo fue evaluado con dos parámetros: (1) el *parámetro pseudo R_{ML}^2 de McFadden* obtenido en la regresión binomial negativa [45] (análogo al coeficiente de determinación R^2 en una regresión de mínimo cuadrado), y siendo calculado

como el porcentaje de devianza explicada por el modelo (ecuación 7) y (2) el *cuadrado de la correlación* R^2 entre los valores observados y predichos de dengue.

$$R^2 = \frac{\text{devianza nula} - \text{devianza residual}}{\text{devianza residual}} \quad (7)$$

Donde, la devianza nula corresponde a la varianza total de los datos

Los resultados del modelo de regresión binomial negativa fueron interpretados igual que en el caso de una regresión de Poisson, donde los casos predichos de dengue fueron obtenidos resolviendo las ecuaciones 8, 9 y 10.

$$\log \left(\frac{\text{Casos observados}}{\text{Casos esperados}} \right) = \alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n \quad (8)$$

$$e^{\left[\log \left(\frac{\text{Casos observados}}{\text{Casos esperados}} \right) \right]} = e^{\left[\alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n \right]} \quad (9)$$

$$\frac{\text{Casos observados}}{\text{Casos esperados}} = e^{\left[\alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n \right]} \quad (10)$$

Los casos predichos de dengue fueron obtenidos reemplazando el término *Casos observados* (lado izquierdo de la ecuación 10) por el término *Casos predichos* (ecuación 11).

$$\frac{\text{Casos observados}}{\text{Casos esperados}} = e^{[\alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n]} \quad (11)$$

Según la ecuación 11, los casos predichos son proporcionales a los casos esperados, mientras que las variables explicativas tienen un efecto multiplicativo sobre los casos predichos de dengue. Además, un incremento de X_n en 1 unidad tiene un impacto multiplicativo de e^{β_n} sobre los casos predichos de dengue (ecuación 12).

$$\text{Casos observados} = (\text{Casos esperados}) \times (e^{[\alpha + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_n X_n]}) \quad (12)$$

Los coeficientes del modelo de regresión binomial negativa (β_n) fueron estimados con el método de máxima verosimilitud (maximum likelihood - ML) [46] y fueron interpretados como el riesgo relativo (RR) de incidencia de dengue asociado a un incremento en una unidad de la variable explicativa X_n .

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software libre y de código abierto R versión 3.1.3 [47].



CAPÍTULO 3

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE DATOS

3.1. Estacionalidad casos de Dengue y abundancia de vectores

En casi todos los 19 años del periodo de estudio se observó valores más altos de dengue en los primeros meses del año correspondiente (estación cálida/húmeda), diferenciándose de los casos de dengue registrados para el resto del año correspondiente (estación fría/seca) (Figura 8).

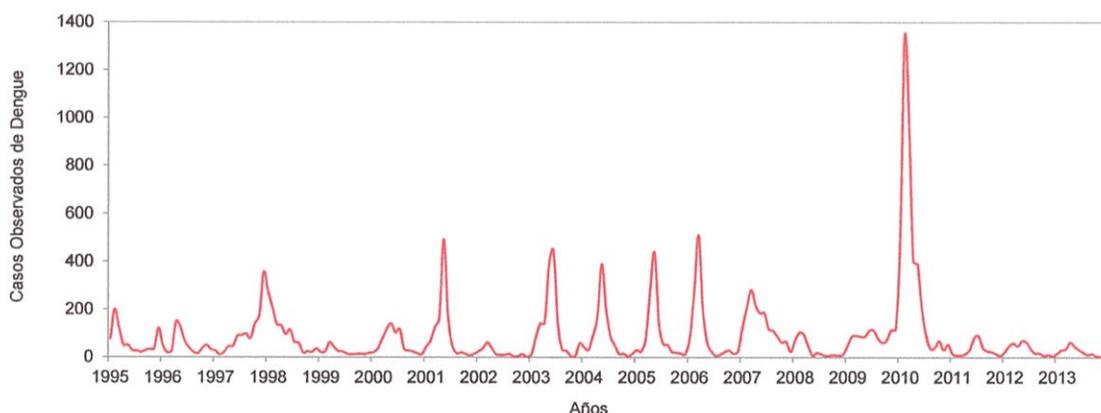


Figura 8. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para el periodo 1995-2013.

Esto ocurrió en los años 1995, 1996, 2000, 2007, pero especialmente en los años 2001, 2003, 2004, 2005, 2006 y 2010, al presentarse un pico epidémico bien diferenciado del resto del año (Figuras 9, 10, 11 y 12). En tales años, el pico de casos observados de dengue se presentó principalmente alrededor de marzo (1995, 2006, 2007) o mayo (1996, 2000, 2001, 2004 y 2005), aunque también se presentaron picos epidémicos en los meses de febrero (2010) y junio (2003) (Figuras 9, 10, 11 y 12). En ciertos años (1999, 2002, 2008, 2009, 2011, 2012 y 2013) o no se presentó un pico epidémico o se observó un pequeño incremento de casos de dengue en la estación cálida/húmeda (Figuras 9 y 11). En 1997 y 1998 el incremento de casos de dengue se adelantó, ocurriendo en los meses de diciembre y enero, respectivamente (Figura 9). El año que reportó más casos de dengue es el 2010 (Figura 12 y Tabla I).

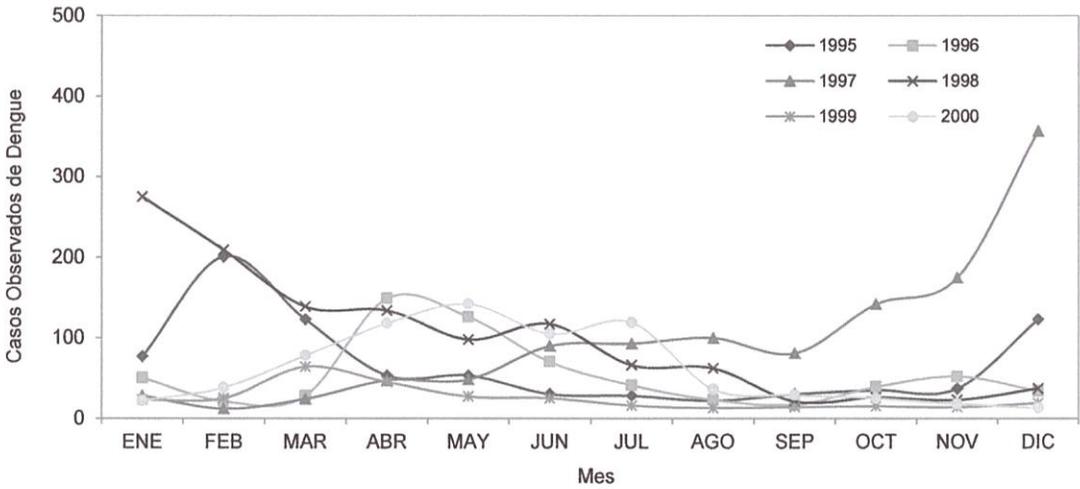


Figura 9. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para los años 1995, 1996, 1997, 1998, 1999 y 2000.

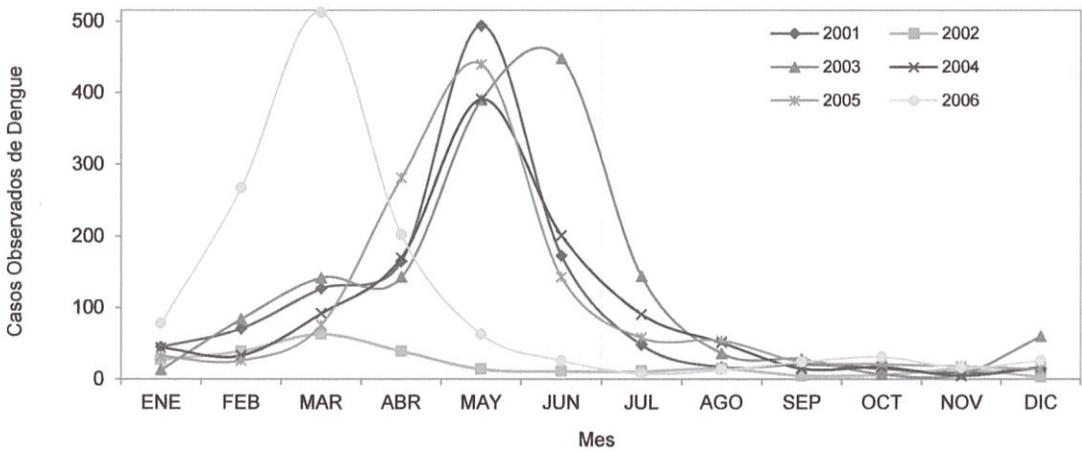


Figura 10. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para los años 2001, 2002, 2003, 2004, 2005 y 2006.



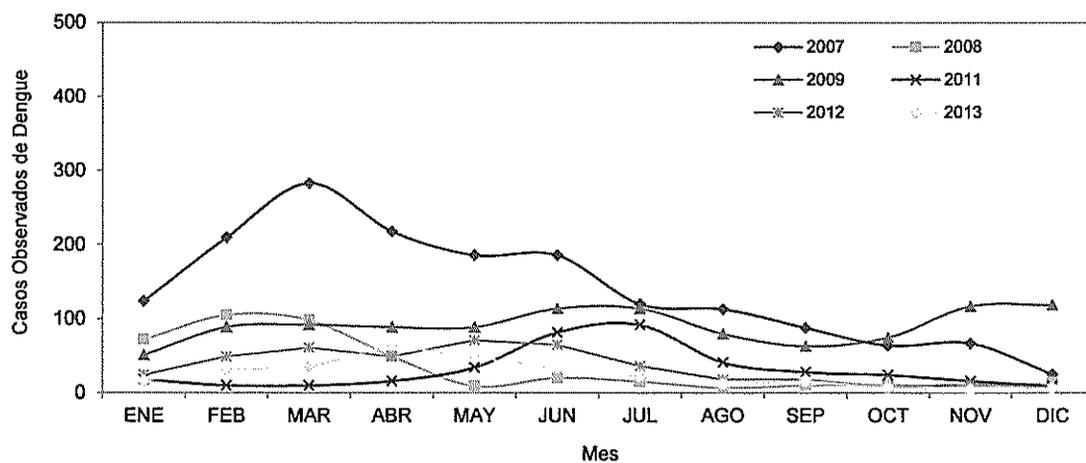


Figura 11. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para los años 2007, 2008, 2009, 2011, 2012 y 2013.

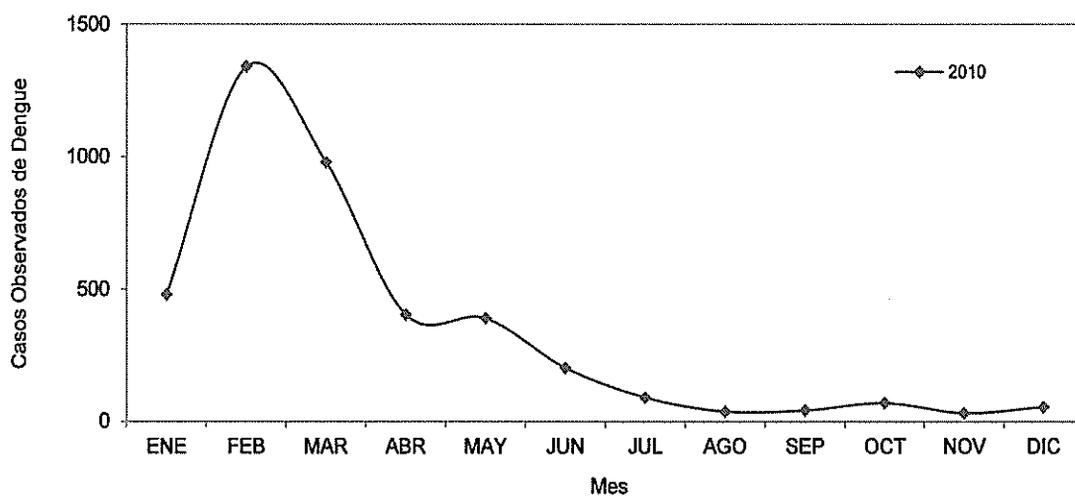


Figura 12. Serie de tiempo mensual de casos observados de dengue en la provincia de El Oro para el 2010.

Tabla I. Resumen anual de los casos observados de dengue en la provincia de El Oro.

Año	Estadístico					
	Total anual	Promedio anual	Desviación Estándar	Varianza	Máximo	Mínimo
1995	812	68	55	2993	201	22
1996	650	54	42	1761	149	17
1997	1197	100	94	8924	357	12
1998	1207	101	80	6335	275	21
1999	300	25	15	230	64	13
2000	743	62	47	2231	142	13
2001	1200	100	137	18905	494	9
2002	247	21	18	326	63	3
2003	1502	125	147	21741	448	7
2004	1127	94	113	12685	391	5
2005	1187	99	132	17354	440	14
2006	1266	106	152	23100	512	8
2007	1684	140	76	5826	283	25
2008	419	35	37	1349	105	7
2009	1092	91	22	481	119	51
2010	4128	344	421	176964	1341	32
2011	380	32	28	770	92	9
2012	418	35	23	546	71	7
2013	294	25	18	338	64	4

En la estación cálida (entre enero y abril) y en mayo ocurrieron en promedio entre 79 y 164 casos de dengue, con mayores casos promedios ocurriendo en marzo y mayo, en promedio con una ocurrencia de 159 y 164 casos, respectivamente (Tabla II). Los meses correspondientes a la estación fría/seca reportan los menores casos de dengue, siendo septiembre el mes de menor ocurrencia de casos de dengue (Tabla II). En general, los casos observados de dengue presentaron una varianza muy superior al valor de la media (Tabla II).

Tabla II. Resumen mensual de los casos observados de dengue en la provincia de El Oro (Periodo base 1995-2013)

Mes	Estadístico					
	Total mensual	Promedio mensual	Desviación Estándar	Varianza	Máximo	Mínimo
Enero	1500	79	114	13060	481	13
Febrero	2861	151	299	89299	1341	10
Marzo	3026	159	229	52353	979	10
Abril	2436	128	99	9738	405	16
Mayo	3114	164	165	27327	494	9
Junio	2142	113	103	10626	448	11
Julio	1213	64	43	1859	144	8
Agosto	751	40	31	941	113	7
Septiembre	574	30	23	525	88	5
Octubre	638	34	34	1136	142	6
Noviembre	645	34	44	1916	175	4
Diciembre	953	50	82	6722	357	3

Los casos observados de dengue presentaron una climatología, consistente con la estacionalidad climática típica de la costa ecuatoriana, con mayores y menores valores en los meses de las estaciones climáticas cálida/húmeda (entre enero y abril) y seca/fría (entre junio y noviembre), respectivamente (Figura 13). Sin embargo, tal como fue mencionado anteriormente, es destacable el incremento de casos de dengue en el mes de mayo, que es el mes de transición climática entre la estación cálida/húmeda a fría/seca (Figura 13). Los casos observados que se presentaron en el mes de mayo fueron inclusive un poco superiores a los presentados en marzo (Figura 13).

En forma consistente, los promedios mensuales de RME de dengue también señalan la presencia de una climatología con similar patrón al de los casos observados de dengue, con los más altos valores de RME en marzo y mayo,

y en general superiores e inferiores a lo esperado durante los meses cálidos y fríos (valores de RME superiores e inferiores a 1, respectivamente) (Figura 14). Entre febrero y junio ocurrieron más casos de dengue de lo que se esperaba para todo el periodo de estudio (valores RME superiores a 1). Por el contrario, entre julio y diciembre ocurrieron menos casos de dengue de lo que se esperaba para todo el periodo de estudio (valores RME inferiores a 1). (Figura 14).

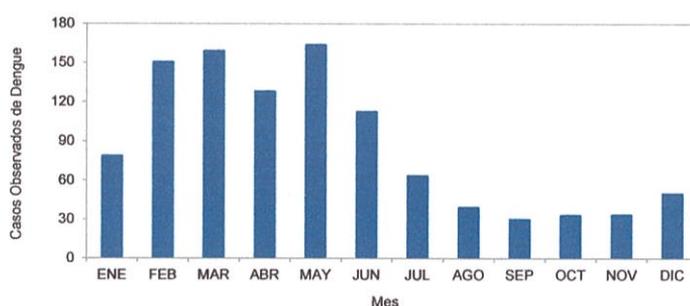


Figura 13. Climatología de casos observados de dengue en la provincia de El Oro (Periodo base 1995-2013).

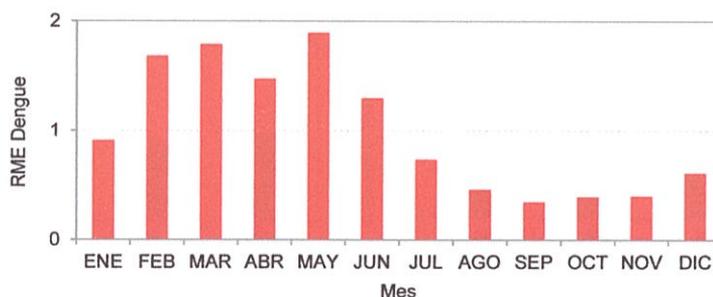


Figura 14. Climatología de la razón de morbilidad estandarizada (RME) de dengue en la provincia de El Oro (Periodo base 1995-2013).

Se observó un patrón climatológico en los índices entomológicos de casa y de Breteau, con mayores y menores valores en el primer (entre enero y marzo) y tercer trimestre (entre julio y septiembre) del año (Figura 15). Sin embargo, la diferencia en los valores de los índices entre los dos trimestres es solamente del 9.6% (índice de Breteau) y 4.25% (índice de Casa) (Figura 15).

Las series de tiempo mensual de los índices entomológicos de Casa y de Breteau mostraron una tendencia creciente, con mayores valores al final del periodo de estudio (Figura 16). No se observó una correlación lineal significativa ($p > 0.05$) entre los índices entomológicos y los casos observados de dengue ($r = 0.030$ y $r = 0.026$, para las regresiones lineales entre dengue *versus* índice de Breteau y dengue *versus* índice de Casa, respectivamente).

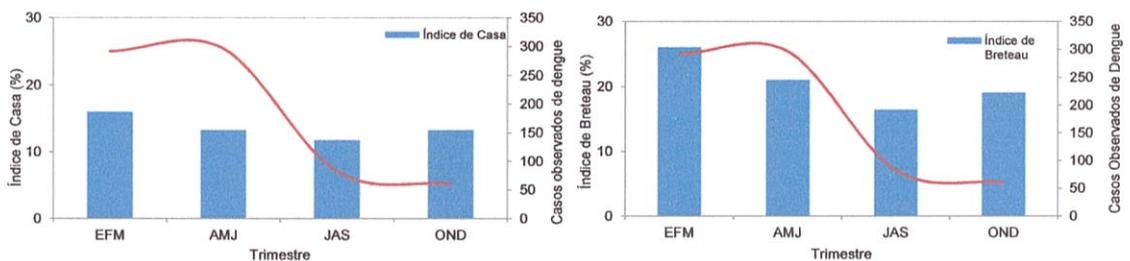


Figura 15. Climatología trimestral de los índices entomológicos de casa y de Breteau y casos observados de dengue para la ciudad de Machala (Periodo base 2003-2011).

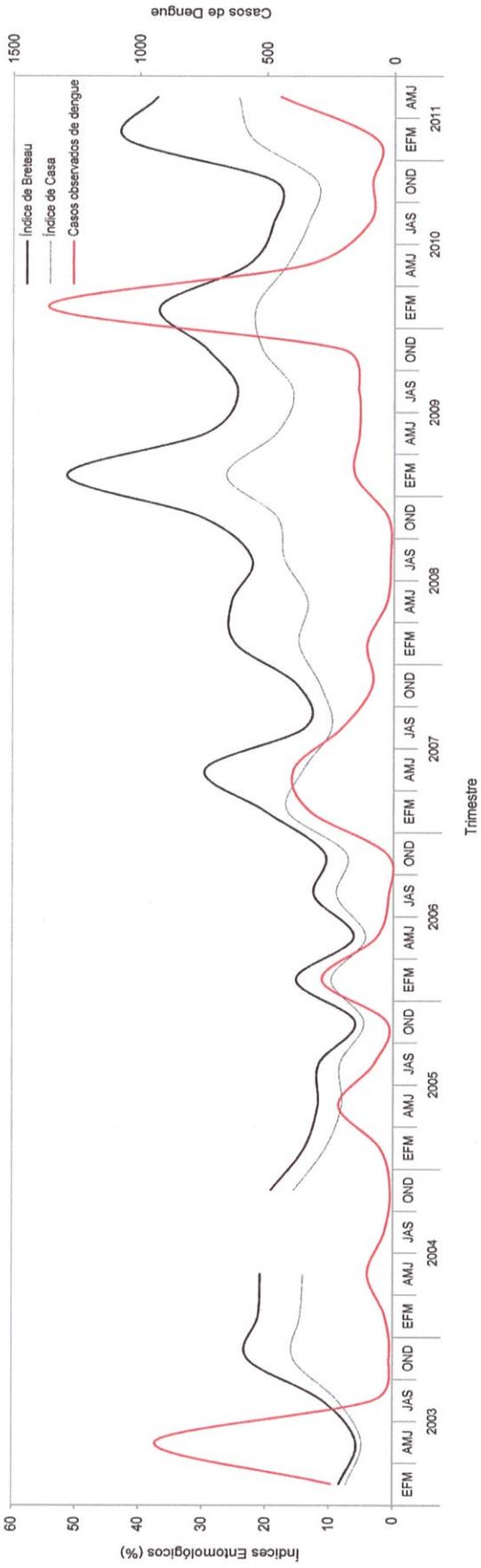


Figura 16. Serie de tiempo trimestral de los índices entomológicos de casa y de Breteau.



3.2. Interanualidad de los casos de Dengue y abundancia de vectores

La serie de tiempo de anomalías estandarizadas de dengue mostró los mayores valores interanuales de casos observados de dengue a finales de 1997 e inicios de 2010, seguidos del 2003 y 2007 (Figura 17). Algunos picos epidémicos de menor intensidad ocurrieron en el 2000, 2001, 2004, 2005 y 2006 (Figura 17). En 1999, 2002, 2006, 2008, 2011, 2012 y 2013 se observó en cada caso anomalías estandarizadas negativas inferiores a -1.0 (Figura 17).

Las series de tiempo de anomalías estandarizadas trimestral de los índices entomológicos de casa y Breteau mostraron una clara tendencia creciente para el periodo 2003-2011 y no relacionadas significativamente en forma lineal ($p > 0.05$) con los casos observados de dengue ($r = 0.11$ y $r = 0.12$, para las regresiones lineales entre dengue *versus* índice de Breteau y dengue *versus* índice de Casa, respectivamente) (Figura 19).

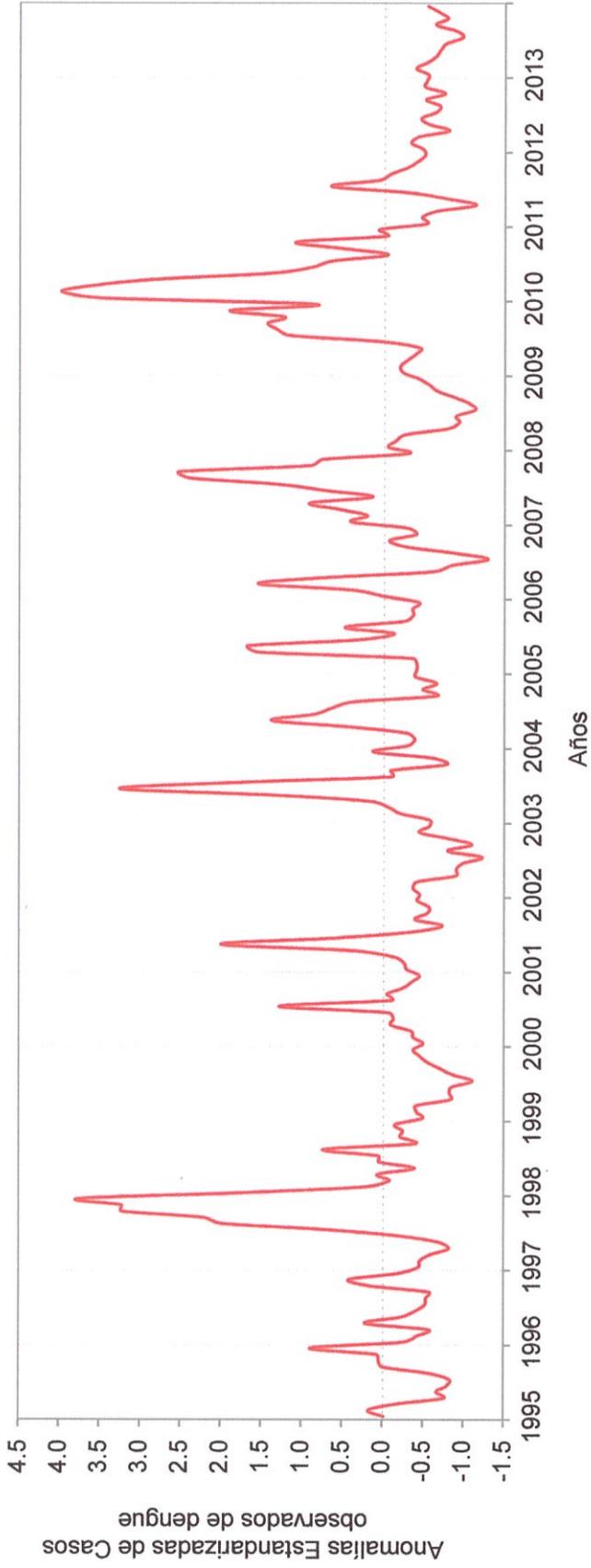


Figura 17. Serie de tiempo mensual de anomalías estandarizadas de casos observados de dengue en la provincia El Oro.

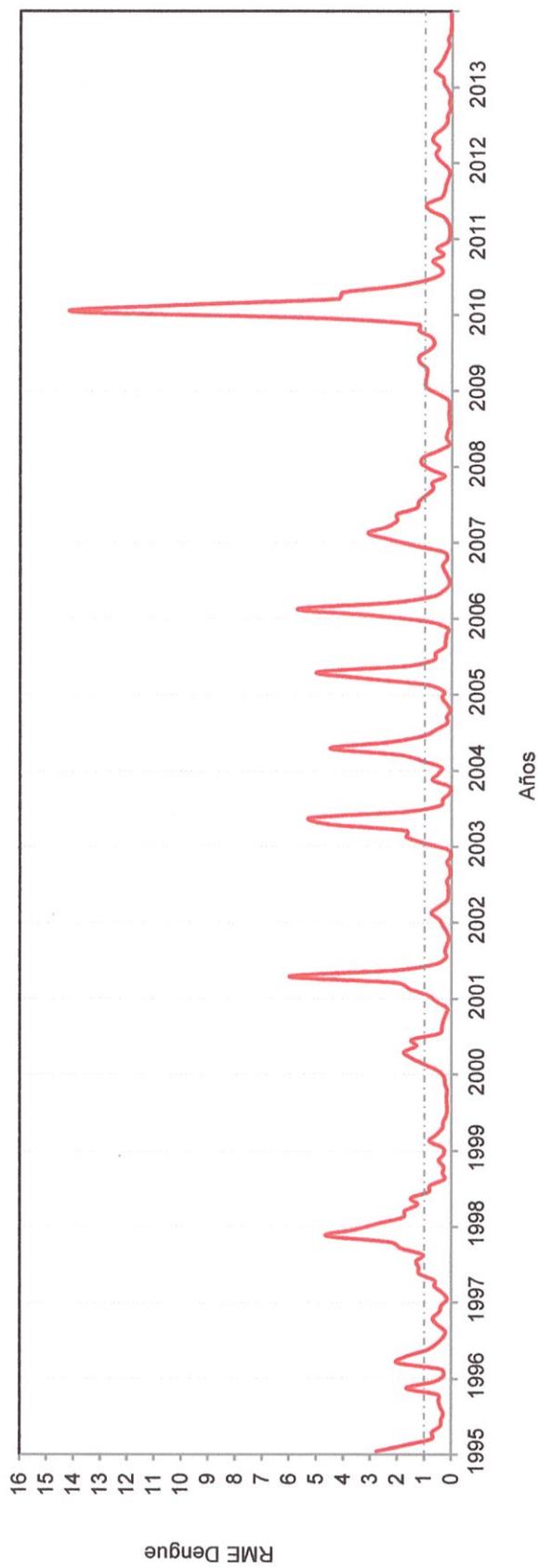


Figura 18. Serie de tiempo mensual de la razón de morbilidad estandarizada (RME) de dengue en la provincia El Oro.

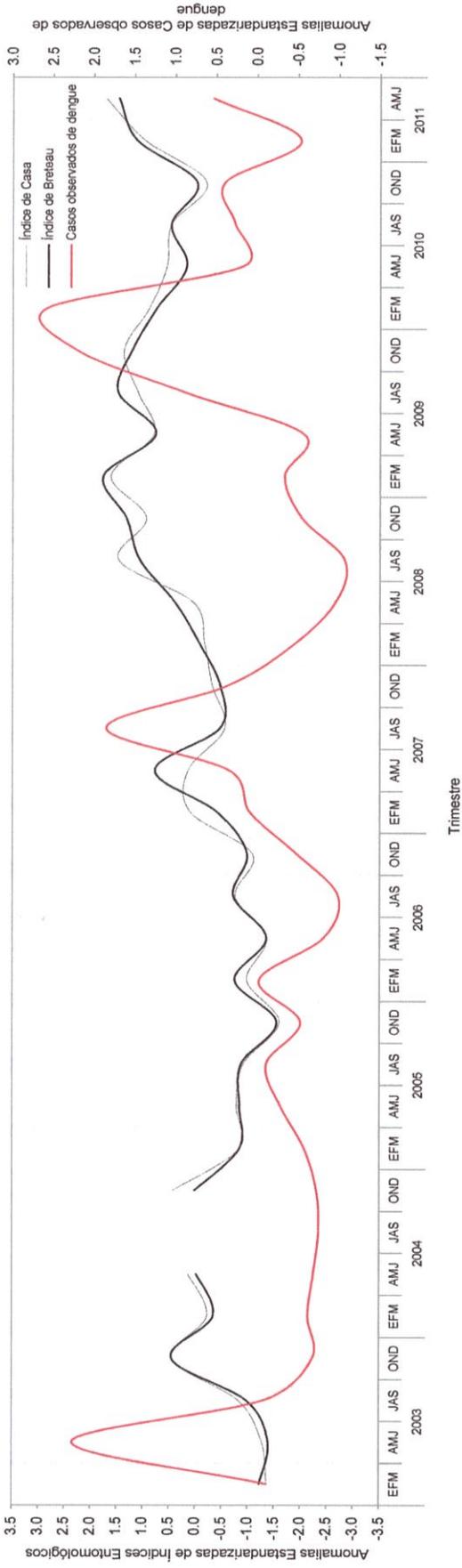


Figura 19. Serie de tiempo trimestral de anomalías estandarizadas de los índices entomológicos de casa y de Breteau (datos colectados en Machala), y serie de tiempo trimestral de anomalías estandarizadas de los casos observados de dengue en El Oro.

3.3. Modelos de regresión

3.3.1. Resultados del análisis exploratorio

Las variables atmosféricas de Machala (estación Granja Santa Inés) presentaron superiores correlaciones cruzadas significativas con el log de RME de dengue (temperatura media y mínima del aire, y precipitación), que las variables atmosféricas de la estación costera de Puerto Bolívar, aunque solamente la temperatura máxima del aire en Puerto Bolívar presentó correlación cruzada significativa (Tabla III). No se observó correlación significativa entre humedad relativa y el log de RME de dengue (Tabla III). En general, la temperatura mínima del aire fue la variable atmosférica con mayor correlación cruzada con el log de RME de dengue (Tabla III). La correlación entre la temperatura mínima del aire en Machala (estación Granja Santa Inés) y el log de RME de dengue fue máxima y significativa cuando la temperatura mínima del aire en Machala estuvo adelantada 1 mes con respecto al log de RME de dengue ($r = 0.354$, $p < 0.05$) (Tabla III). La correlación fue disminuyendo al incrementar el adelanto de la variable explicativa con respecto a la variable de respuesta (Tabla III). La precipitación en Machala (estación Granja Santa Inés) presentó mayor correlación cruzada con el log de RME de dengue que en la estación Puerto Bolívar, siendo máxima con ningún mes de adelanto ($r = 0.263$, $p < 0.05$) y

disminuyendo con el incremento en los meses de adelanto (Tabla III). La temperatura superficial del mar en Puerto Bolívar presentó mejor correlación cruzada con el log de RME de dengue que la registrada en la Estación El Pelado, presentando la máxima correlación significativa cuando la serie de tiempo TSM en Puerto Bolívar se adelantó 3 meses con respecto a la variable de respuesta ($r = 0.265$, $p < 0.05$) (Tabla III). Con respecto a las temperaturas subsuperficiales, la temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad, adelantada 0 meses, presentó la mayor correlación significativa de dengue ($r = 0.209$, $p < 0.05$) (Tabla III). Las anomalías de TSM en las regiones oceánicas El Niño mostraron significativas correlaciones cruzadas con el log de RME de dengue, siendo mayor la registrada entre ONI 3.4 y el log de RME de dengue, cuando la variable explicativa presentó un adelanto de 3 meses ($r = 0.347$, $p < 0.05$) (Tabla III). En tanto que, la correlación cruzada entre la anomalía de TSM en la región El Niño 1+2 (ONI 1+2) fue superior cuando esta variable explicativa se adelantó 6 meses ($r = 0.215$, $p < 0.05$) (Tabla III). El análisis de correlación cruzada entre los valores de log de RME de dengue y su climatología mostró una correlación significativa entre ambas series de tiempo, siendo máxima cuando la climatología se adelantó 1 mes ($r = 0.509$, $p < 0.05$), señalando un efecto autoregresivo de primer orden de la climatología sobre la ocurrencia de dengue (el riesgo de la ocurrencia de dengue en 1 mes determinado

depende del riesgo que normalmente se presenta en el mes anterior) (Tabla III).

Tabla III. Resultado del análisis exploratorio bivariado de correlación cruzada entre las variables explicativas (atmosféricas y oceanográficas) versus el log de RME de dengue, donde las variables explicativas fueron adelantadas entre 0 y 6 meses (lags). Se destaca en negritas las correlaciones significativas en el análisis de correlación cruzada.

		Variables	Lag (meses)							
			0	1	2	3	4	5	6	
Atmosféricas	Machala (Granja Santa Inés)	Temperatura media del aire	0.240	0.269	0.228	0.163	0.143	0.124	0.121	
		Temperatura mínima del aire ■	0.339	0.354*	0.325	0.273	0.216	0.179	0.155	
		Temperatura máxima del aire	0.017	0.011	0.014	0.015	0.047	0.070	0.095	
		Humedad relativa	0.083	0.055	0.023	0.018	0.000	0.005	0.003	
		Precipitación ■	0.263*	0.238	0.148	0.048	0.007	0.018	0.031	
	Puerto Bolívar	Temperatura media del aire	0.226	0.259	0.217	0.175	0.150	0.137	0.122	
		Temperatura mínima del aire	0.139	0.183	0.146	0.108	0.103	0.082	0.067	
		Temperatura máxima del aire	0.181	0.243	0.238	0.219	0.185	0.158	0.142	
		Humedad relativa	0.053	-0.025	-0.068	-0.077	-0.061	0.005	0.025	
		Precipitación	0.170	0.157	0.128	0.081	0.049	0.044	0.019	
Oceánicas	Local	El Pelado	Temperatura superficial del mar	0.142	0.167	0.109	0.091	0.092	0.085	0.103
			Temperatura del mar a 5 m ■■	0.209*	0.187	0.133	0.085	0.069	0.080	0.091
			Temperatura del mar a 25 m	0.095	0.136	0.147	0.103	0.088	0.100	0.122
			Temperatura del mar a 40 m	0.084	0.137	0.168	0.152	0.133	0.158	0.162
			Profundidad de Isotherma de 22 °C	0.029	0.081	0.107	0.090	0.074	0.075	0.075
	Remota	Regiones "El Niño"	ON1 1+2	0.130	0.174	0.200	0.202	0.203	0.211	0.215
			ON1 3.4	0.276	0.307	0.335	0.3469*	0.3466	0.336	0.319
Epidemiológica	Endógena	Climatología RME	0.443	0.509*	0.431	0.25	0.007	-0.24	-0.426	

■ Media corrida de 3 meses; ■■ Filtro finito de 2 meses

3.3.2. Resultados de los modelos de regresión

Con base al resultado del análisis bivariado de correlación cruzada (Tabla III) se escogió las siguientes variables explicativas para el segundo paso del análisis con los modelos de regresión: temperatura mínima del aire en Machala (1 mes de adelanto), precipitación en Machala (0 meses de adelanto), temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad (0 mes de adelanto), temperatura superficial del mar en Puerto Bolívar (2 meses de adelanto), temperatura superficial del mar en la región ONI 3.4 (3 meses de adelanto), temperatura superficial del mar en la región Niño 1+2 (6 meses de adelanto) y climatología (1 mes de adelanto).

Los casos observados de dengue presentaron una varianza muy superior al valor de la media, revelando un comportamiento de sobredispersión (Tablas I y II) y sugiriendo que la regresión binomial negativa es un modelo de regresión más apropiado para explicar la variabilidad de dengue, que el modelo de regresión de Poisson. Tal hipótesis fue confirmada al correr una regresión de Poisson y una regresión binomial negativa utilizando como variable de respuesta el log de RME de dengue y como variables explicativas las variables adelantadas k meses que fueron escogidas en el análisis exploratorio. La prueba estadística de la razón de verosimilitud entre las distribuciones Poisson y la binomial negativa mostró evidencias a favor que

el log del RME de dengue siguió una distribución binomial negativa ($\chi^2 = 2.43 \times 10^{110}$, $gl = 8$, $p < 0.005$).

El modelo de regresión binomial negativa que presentó el mejor ajuste para predecir la RME de dengue es mostrado en la tabla IV. Este modelo incluyó todas las variables seleccionadas en el análisis exploratorio, excepto la temperatura superficial del mar en la región Niño 1+2 (6 meses de adelanto) y la TSM en Puerto Bolívar.

Tabla IV. Resultado del modelo de regresión binomial negativa que presentó el mejor ajuste para predecir la RME de dengue.

Variable	Estimado (IC 95%)	Error Estándar	Valor t	Pr (> t)
Intercepto	0.383 (0.209, 0.567)	0.093	4.140	0.000
Climatología RME (1 mes lag)	1.012 (0.810, 1.214)	0.104	9.732	0.000
Temperatura mínima del aire Machala (1 mes lag)*	0.276 (0.068, 0.482)	0.090	3.063	0.002
Precipitación Machala (0 meses lag)*	0.360 (0.143, 0.587)	0.105	3.428	0.001
Temperatura subsuperficial del mar (5 m) "El Pelado" (0 meses lag)**	-0.266 (-0.468, -0.066)	0.103	-2.583	0.010
ONI 3.4 (3 meses lag)	0.320 (0.133, 0.505)	0.091	3.512	0.001

* Estación Granja Santa Inés, ** Estación El Pelado

Las variables que permanecieron en el modelo fueron: Climatología, temperatura mínima del aire (1 mes de adelanto), precipitación (0 meses de adelanto), temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad (0 mes de adelanto) y anomalías de temperatura superficial del mar en la región El Niño 3.4 (3 meses de adelanto) (Tabla IV). Todas las variables mencionadas estuvieron significativamente asociadas al log de RME de dengue ($p < 0.002$). Este modelo presentó un R_{ML}^2 de McFadden de 0.50.

La figura 20 muestra el resultado del modelo predicho con el mejor modelo de regresión binomial negativa (log de RME de dengue), contrastado con la serie de tiempo del log de RME observado. El coeficiente R^2 de Pearson calculado con la relación lineal entre ambas series de tiempo fue igual a 0.63 (Figura 21).

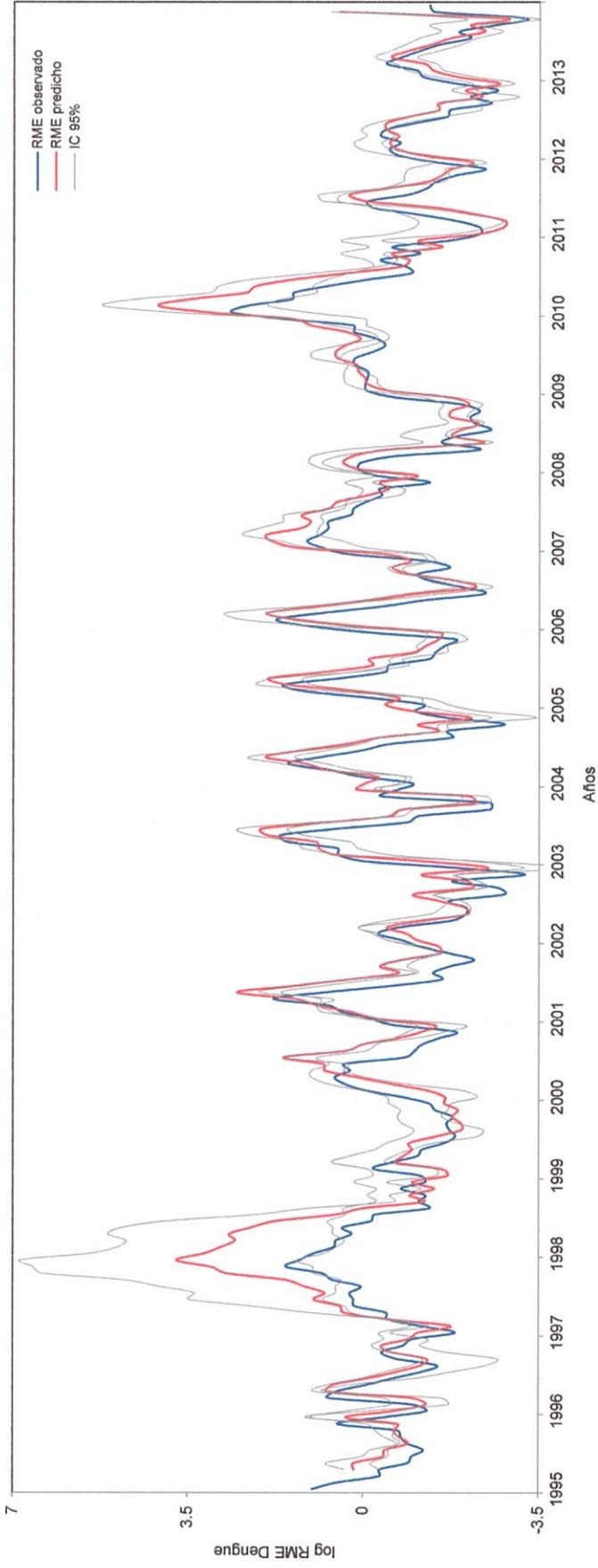


Figura 20. Series de tiempo de log de RME observado y log de RME predicho, este último obtenido con el mejor modelo de regresión binomial negativa.

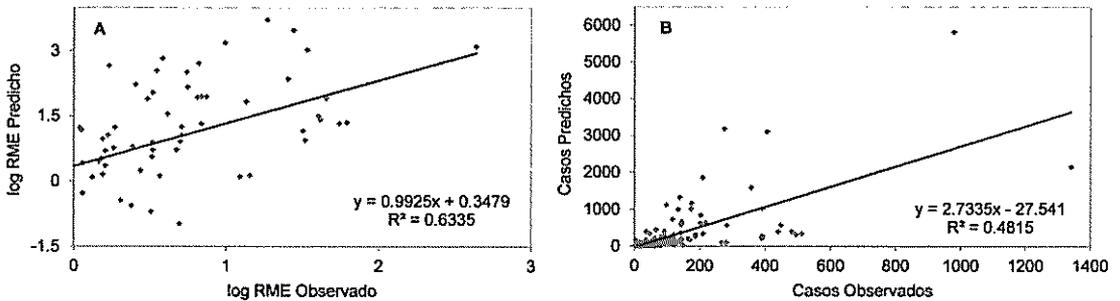


Figura 21. Correlación lineal entre los casos predichos y casos observados de dengue. B: Correlación lineal entre el log de RME predicho y log de RME observado de dengue. En ambos casos, los valores predichos fueron obtenidos con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV.

La figura 22 muestra los resultados del modelo (casos predichos de dengue) obtenido con el mejor modelo de regresión binomial negativa (Tabla IV). El coeficiente R^2 de Pearson calculado con la relación lineal entre ambas series de tiempo fue igual a 0.48 (Figura 21).

El mejor modelo de predicción de dengue resumido en la tabla IV muestra una aceptable capacidad predictiva en tiempo y magnitud para casi todos los eventos epidémicos del periodo 1995-2013 (Figuras 20 y 22). El intervalo de confianza (95%) es estrecho, lo cual constituye un aspecto favorable del modelo obtenido en este estudio (Figuras 20 y 22).

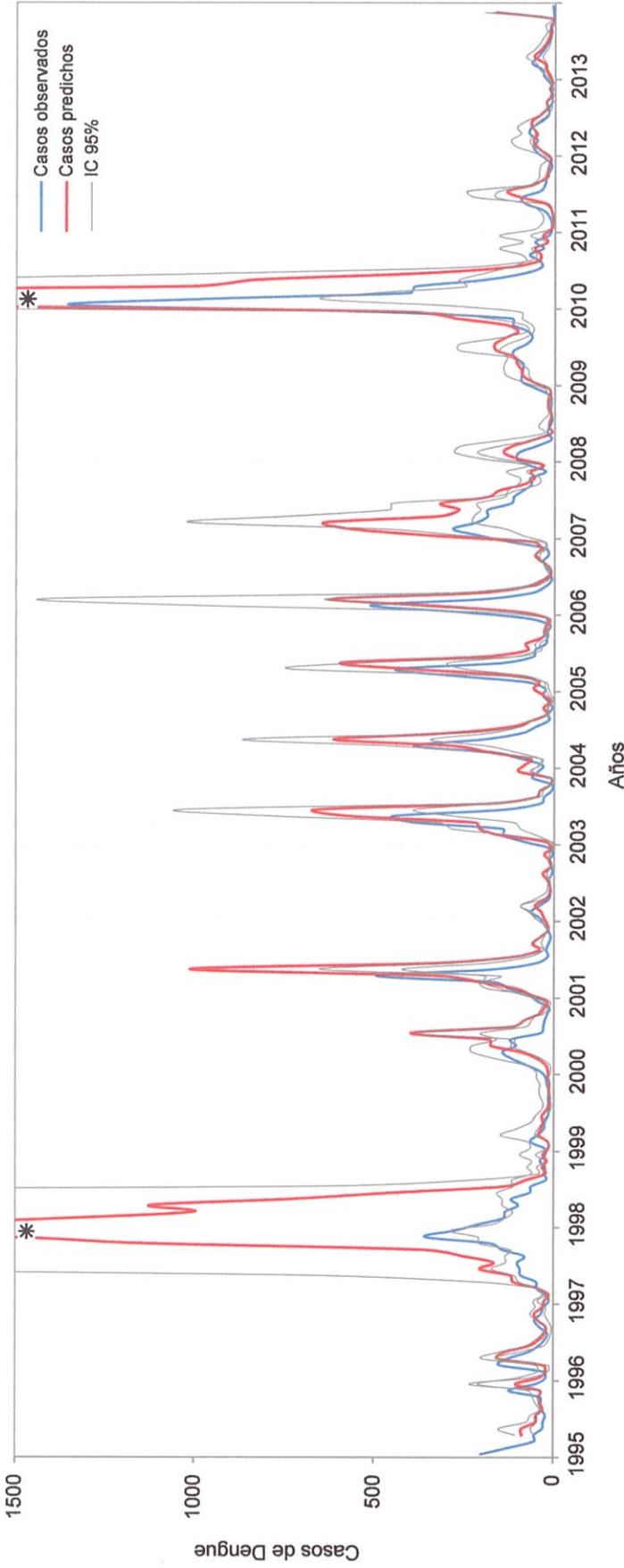


Figura 22. Series de tiempo mensual de casos observados y casos predichos de dengue, este último obtenido con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV.



Sin embargo, en los eventos epidémicos de 1997 y 2010 aunque el modelo tiene una buena resolución para predecir en tiempo los eventos epidémicos mencionados, sobreestima la magnitud de la predicción (Figuras 23 y 24).

Los coeficientes del modelo de regresión binomial negativa fueron muy informativos y mostraron algunos riesgos en la ocurrencia de dengue asociado a las variables explicativas del modelo (Tabla IV). Así, un incremento de 1°C en la temperatura mínima del aire en la ciudad de Machala, provocaría un mes después un 32% ($e^{0.276} = 1.32$) de aumento de casos de dengue. Un incremento de 1 mm en la precipitación acumulada mensual en la ciudad de Machala, provocaría un 43% ($e^{0.360} = 1.43$) de incremento de casos de dengue. Un incremento de 1 °C a 5 metros de profundidad en la estación "El Pelado" provocaría un decrecimiento del 31% ($1/e^{0.27}=1.31$) en los casos de dengue. Un incremento de 1°C en la anomalía de la temperatura superficial del mar en la región Niño 3.4 (ONI 3.4), resultaría 3 meses después en un aumento de casos del 38% ($e^{0.320} = 1.38$).

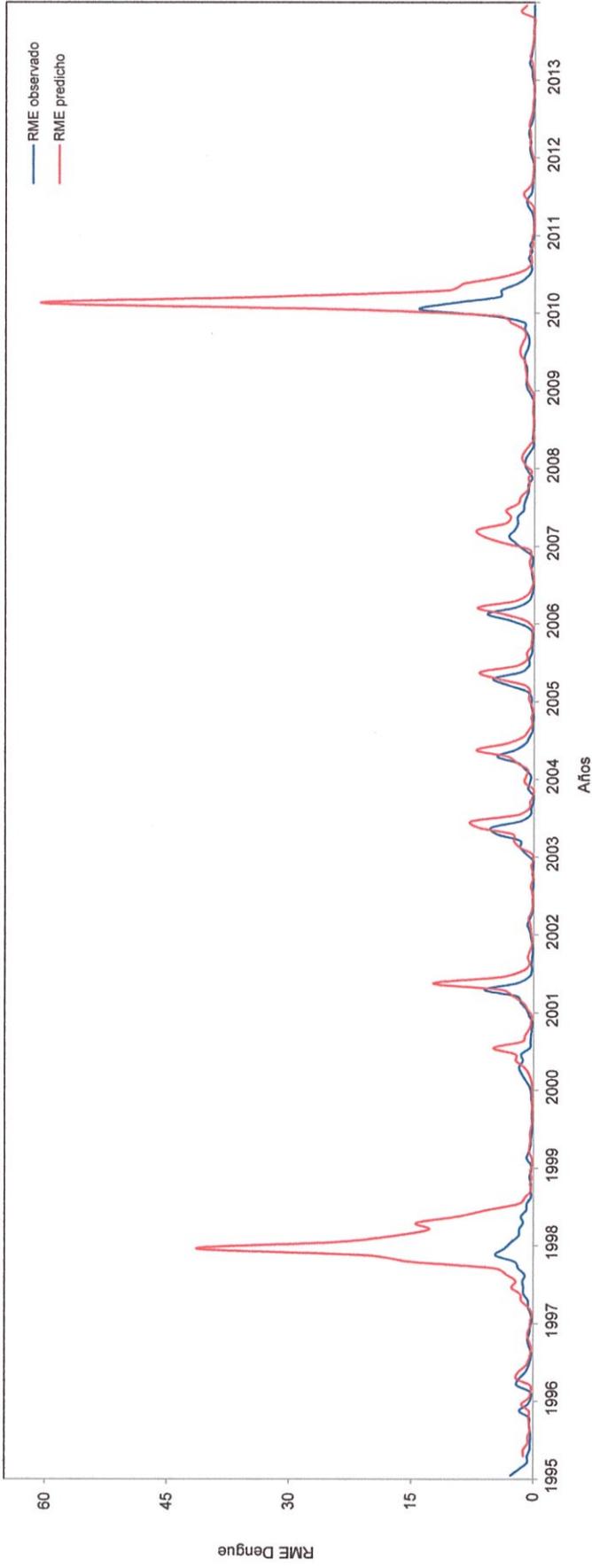


Figura 23. Series de tiempo mensual de log de RME observado y log de RME predicho, este último obtenido con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV, mostrando los 2 mayores valores de log de RME predichos para 1998 y 2010.

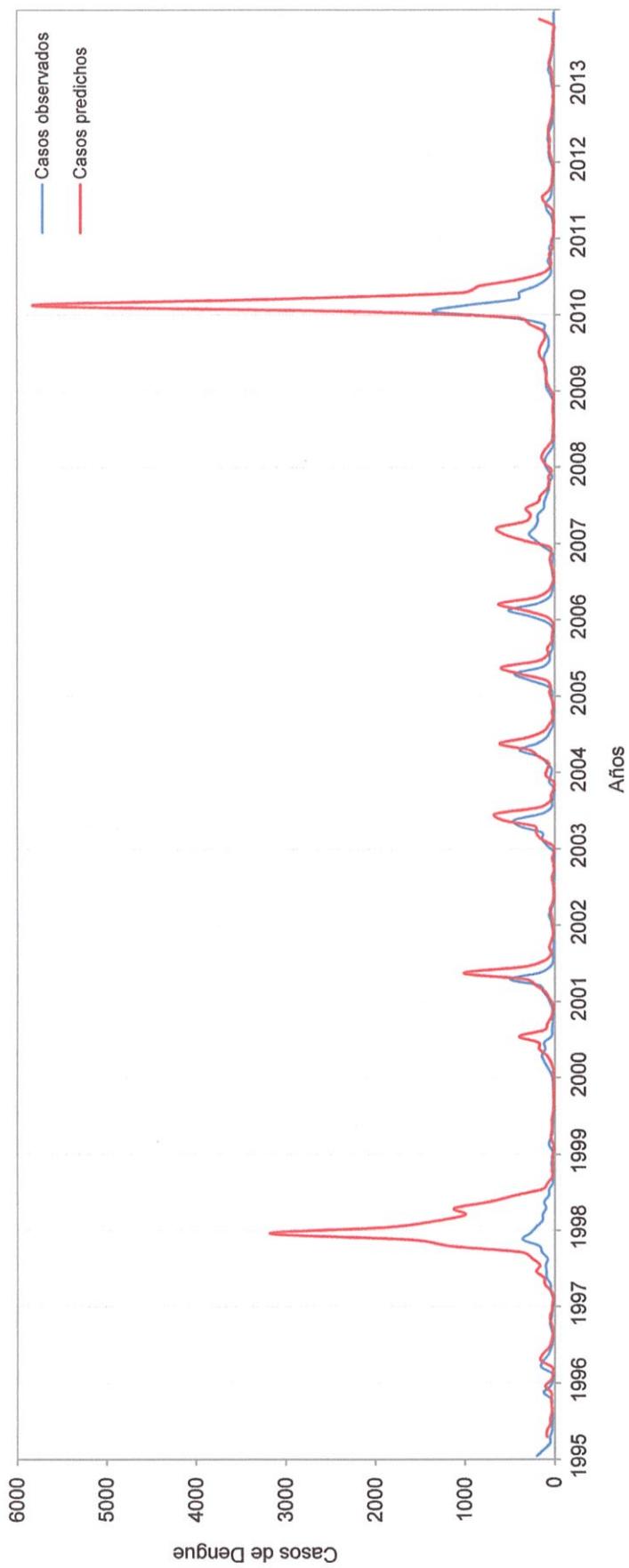


Figura 24. Series de tiempo mensual de casos observados y predichos, este último obtenido con el modelo de regresión binomial negativa presentado en la Tabla IV, mostrando los 2 mayores valores de log de RME predichos para 1998 y 2010.

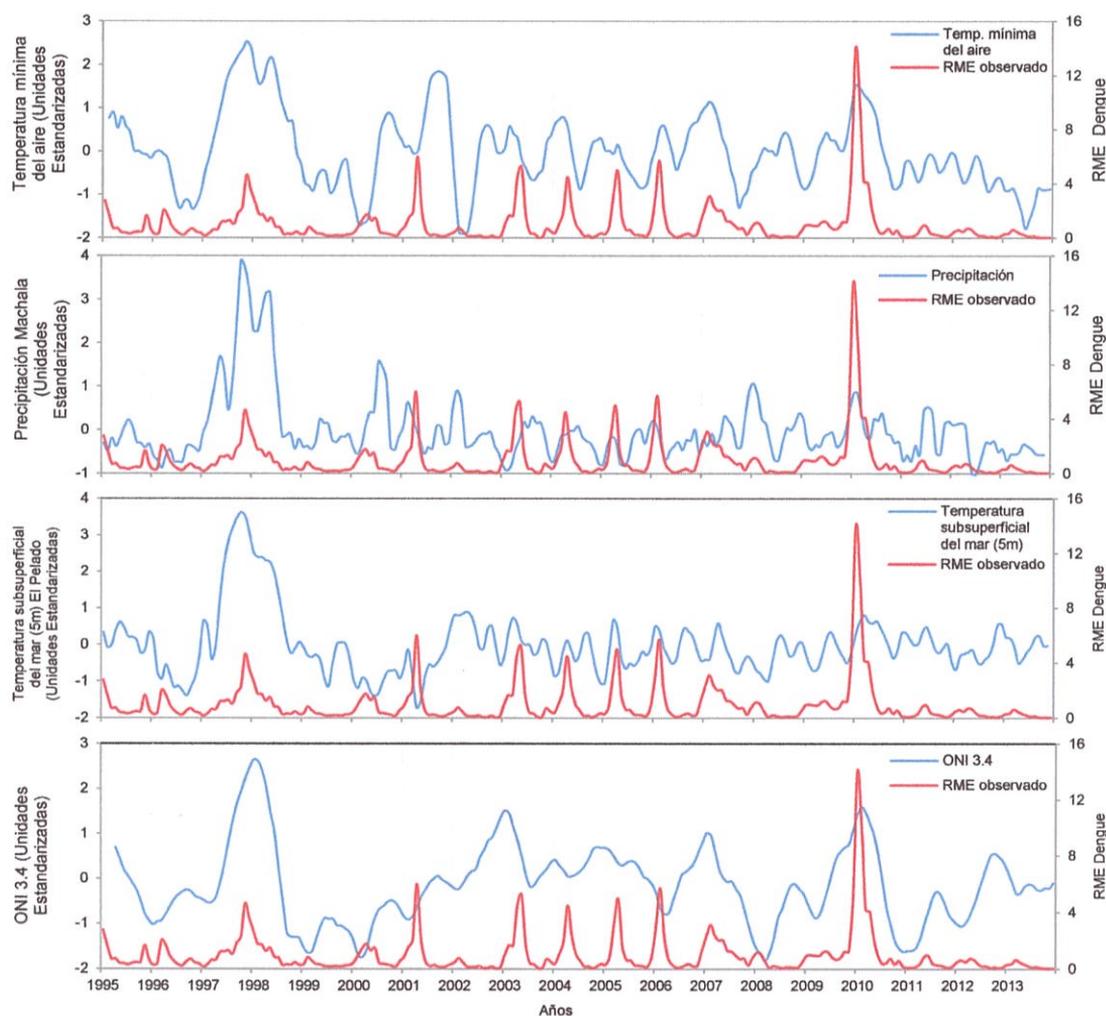


Figura 25. Series de tiempo mensual de anomalías estandarizadas de las variables explicativas significativamente asociadas al RME de dengue. Las series de tiempo explicativas están adelantadas: temperatura mínima del aire (1 mes de adelanto), precipitación (0 mes de adelanto), temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad (0 mes de adelanto) y temperatura superficial del mar en la región ONI 3.4 (3 meses de adelanto).

En la figura 25 se puede observar picos en los valores de RME de dengue en los años 1997-1998 y 2009-2010, notándose que las variables océano-atmosféricas que se usaron en el modelo predictivo también tienen esta tendencia en estos periodos, siendo estos eventos epidémicos seguramente

relacionado al evento ENOS que ocurrió en ese período, lo cual generó lluvias excesivas y temperaturas del aire elevadas en toda la costa ecuatoriana, influyendo en la ecología del vector y proporcionando hábitats adecuados para su proliferación, y por lo tanto aumentando la probabilidad de ocurrencias de casos de dengue. La figura 26 muestra que las variables que fueron significativas en el mejor modelo de regresión binomial negativa también muestran una estacionalidad consistente con la observada en los casos de dengue.

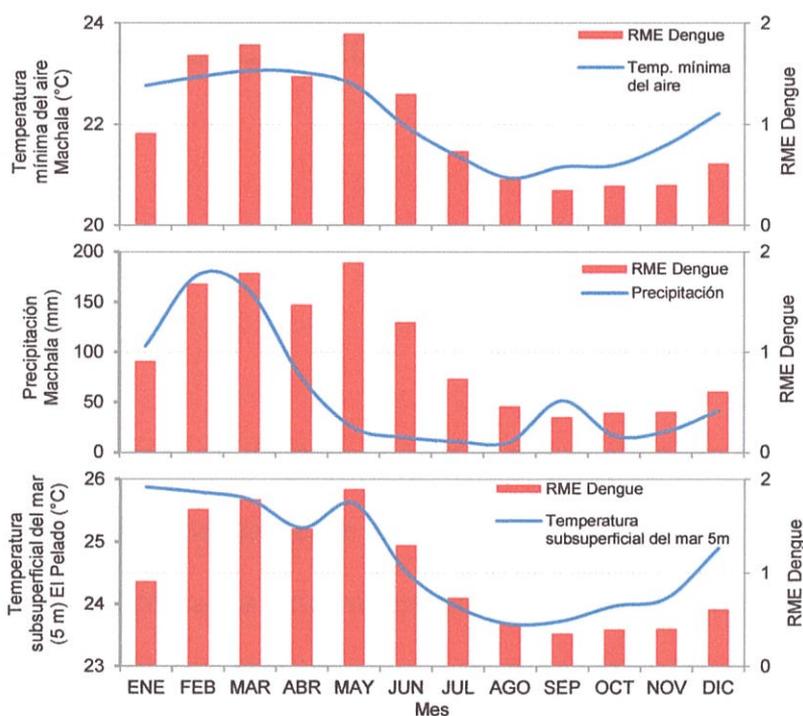


Figura 26. Climatología de las variables explicativas significativamente asociadas al RME de dengue: Temperatura mínima del aire (1 mes de adelanto), precipitación (0 meses de adelanto) y temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad (0 mes de adelanto).

CAPITULO 4

DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Discusión

Los resultados del análisis de datos mostraron que el riesgo de la ocurrencia de dengue está significativamente asociado a las variables atmosféricas y oceanográficas, tal como ha sido reportado previamente para datos similares de la provincia de El Oro [12]. En este estudio se demostró adicionalmente que variables oceanográficas locales están asociadas al riesgo de la ocurrencia de dengue, lo cual constituye un aporte al control de la enfermedad en el Ecuador.

El mejor modelo de regresión binomial negativa señala que la ocurrencia de dengue está relacionada con la climatología, pero también con efectos interanuales de variables atmosféricas y oceanográficas. Previamente, se ha identificado que las variables atmosféricas temperatura mínima del aire y precipitación están asociadas a la ocurrencia de dengue [12] [29] [38] [41] [6] [50]. En el presente estudio se encontró que incrementos en la temperatura mínima del aire en la ciudad de Machala, provocaría un mes después un incremento de casos de dengue. Este resultado refleja estadísticamente aspectos claves de la fisiología del mosquito. Así, si se considera que el tiempo desde que la hembra pone los huevos hasta que éste se convierte en larva, toma hasta 3 días [22] y que la etapa larval puede tardar hasta 7 días [6], que luego de 3 días el mosquito emerge como adultos [22], y que adicionalmente debe pasar hasta 3 días para la primera alimentación del mosquito hembra [22], se tiene un periodo de hasta 16 días. A este ciclo se debe añadir el tiempo que toma la transmisión del virus, lo cual está compuesto, tanto del tiempo de incubación del virus en el mosquito (período de incubación extrínseco del virus) que toma hasta 12 días, como del periodo de incubación en el ser humano (periodo de incubación intrínseco) que puede tomar hasta 12 días. La suma total de todos estos eventos es de hasta 40 días, lo cual está en el rango de adelanto (1 mes) encontrado en la temperatura mínima del aire. El hecho que la variable atmosférica estadísticamente más relacionada con dengue sea la temperatura mínima,

señala que debe haber un umbral de temperatura mínima del aire que dispare la ocurrencia de la epidemia. Será necesario que, para efectos de predicción, posteriormente se investigue más acerca de la relación entre valores umbrales de temperaturas mínimas del aire y ocurrencia de dengue. Para el efecto, se podría realizar un estudio en el que se defina el valor sobre el cual los casos observados de dengue constituyen una epidemia de dengue para poder encontrar el umbral de temperatura mínima del aire que actúa como detonante de la epidemia.

En el presente estudio también se encontró que el incremento en la precipitación acumulada mensual en la ciudad de Machala, provoca un incremento instantáneo de casos de dengue. La literatura reporta ampliamente que la disponibilidad del hábitat del mosquito incrementa con la precipitación. En este estudio encontramos que la relación es directa y que no se presenta ningún retardo (0 meses de adelanto) en la respuesta (dengue). Es muy posible, que una vez que se llega a un umbral en la temperatura mínima del aire, esto dispara o acelera tanto el ciclo de vida del mosquito como la transmisión viral en mosquitos y seres humanos. Pero, una vez que se llegue a una temperatura mínima que dispara la epidemia, el efecto de la precipitación incrementaría rápidamente la disponibilidad de hábitat del mosquito (aguas en llantas de carro, latas vacías, contenedores localizados generalmente en los patios de las casas, entre otros), lo cual

proporcionaría el hábitat adecuado no solo para el desarrollo de los huevos y etapas larvales del mosquito, sino para la migración instantánea de mosquitos adultos hembras que presenten la necesidad de picar y luego realizar la ovopostura.

En el presente estudio se encontró que la temperatura subsuperficial está asociada estadísticamente a la ocurrencia de dengue. Aunque no encontramos una explicación plausible acerca del sentido de la relación, en donde un incremento de 1 °C a 5 metros de profundidad en la estación "El Pelado" provocaría un decrecimiento del 31% ($1/e^{0.27}$) en los casos de dengue. Un análisis detallado de la relación entre el RME de dengue y las anomalías estandarizadas de la temperatura subsuperficial del mar (Figura 25) muestra que todos los incrementos en el RME de dengue coincidieron con incrementos en las anomalías estandarizadas de temperatura subsuperficial, sugiriendo una sensibilidad muy alta de casi el 100% (probabilidad de detectar correctamente un pico epidémico utilizando el predictor de temperatura subsuperficial), pero no todos los incrementos de temperatura subsuperficial se tradujeron en incrementos de picos de RME de dengue, señalando una especificidad muy baja (probabilidad de detectar correctamente la ausencia de un pico epidémico utilizando el predictor de temperatura subsuperficial), lo cual parece ser explicado por una alta cantidad de falsos positivos (picos de temperatura que no se traducen luego

en picos epidémicos). Este aspecto señala una limitante en este predictor y necesidad de mayor análisis. Al respecto, será necesario investigar dos aspectos: (1) el efecto del control de los mosquitos por parte del SNEM en el modelo, para determinar si la intensificación de las campañas de fumigación se hicieron utilizando el clima como criterio de intervención (fumigación cuando la temperatura incrementaba) y (2) analizar si existe un umbral en la anomalía de la temperatura subsuperficial (varias profundidades) que pueda ser relacionada con la ocurrencia de epidemias de dengue. Con respecto al primer aspecto, es necesario destacar que el SNEM Machala es líder nacional en el control de vectores. SNEM no espera que la información de casos sospechosos de dengue sea ingresada al sistema electrónico de VIEPI, sino que aprovechando la cercanía física entre SNEM y MSP, recoge diariamente la mencionada información e inmediatamente focaliza la fumigación en la provincia. Por tanto, será necesario que a futuro se pueda contar con la información de control de vectores y explorar la posibilidad que pueda construirse una variable de fumigación para ser incluida en los modelos de predicción. Paralelamente, se debería hacer un análisis similar en una localidad costera donde se realice poca intervención de fumigación, para aislar o disminuir el efecto del control de los mosquitos y comparar con los resultados de este estudio.



Cabe destacar que en general se observa mucha variabilidad en las series de tiempo, lo cual puede indicar la presencia de componentes aleatorias. Para profundizar en la relación causal entre ambas variables será necesario, además de usar los modelos lineales generalizados binomial negativa (GLM), evaluar modelos de regresión lineales generalizados mixtos (GLMM), que consideren la inclusión explícita de componentes aleatorias en los modelos de regresión y con los cuales se pueda contabilizar el aporte de las componentes aleatorias.

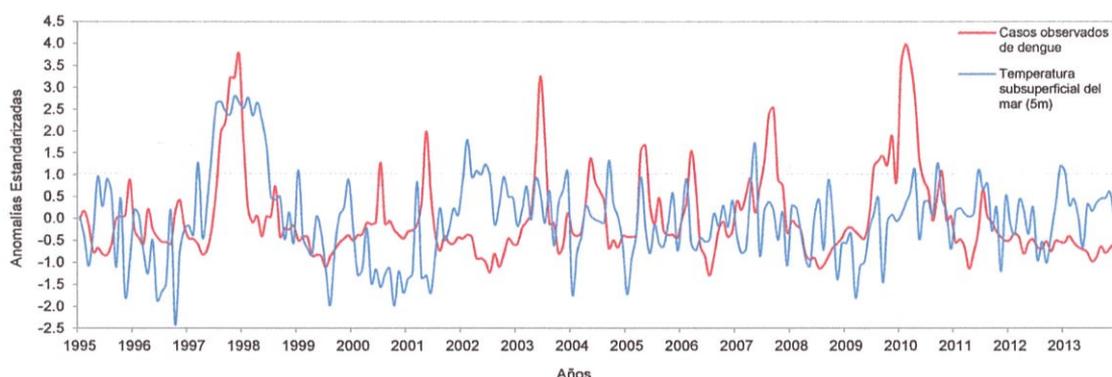


Figura 27. Serie de tiempo mensual de anomalías estandarizadas de la temperatura a 5 m de profundidad y casos observados de dengue para el periodo 1995-2013.

Finalmente, en el presente trabajo se encontró que un incremento de 1°C en la anomalía de la temperatura superficial del mar en la región Niño 3.4 (ONI 3.4), resultaría 3 meses después en un aumento de casos de dengue del 38% ($e^{0.320} = 1.38$). Tal resultado es consistente con la información de la literatura que muestra que las variables oceanográficas remota como el ONI

está significativamente asociado a la ocurrencia de dengue en el Ecuador [12] y en otros países [6] [1] [40] [49] [50] [51].

Los resultados encontrados en este estudio demuestran una vez más el rol clave del océano en una enfermedad de importancia para la salud pública mundial y revelan que los esfuerzos para controlar la enfermedad no solamente deben ser abordados desde el punto de vista clínico, sino también desde un enfoque matemático. En particular, se contribuye al desarrollo de nuevas herramientas en la lucha contra el dengue, proporcionando un modelo estadístico de predicción de casos de dengue basado en datos históricos de variables ya monitoreadas en el Ecuador (epidemiológicas, oceánicas y atmosféricas). La profundización de los resultados encontrados en la tesis puede permitir a futuro evaluar si es posible integrar los modelos de predicción basados en variables climáticas (oceánicas y atmosféricas) en herramientas operativas para la gestión de la epidemia, tales como los sistemas de alerta temprana (SAT).

4.2. Conclusiones

1. La ocurrencia de dengue mostró un patrón estacional, con mayores valores durante la época cálida/húmeda y menores valores durante la época fría/seca.

2. Los años de mayor incidencia de dengue en la provincia de El Oro durante el periodo de estudio 1995-2013 fueron: 2001 con un valor máximo de 494 casos en el mes de mayo, 2006 con un máximo de casos de 512 en marzo y 2010, ocurriendo en ese último año el máximo de casos en el periodo estudiado, con un máximo de 1341 casos reportados en febrero 2010. Estos casos se dieron en la estación cálida/húmeda, estación propicia para la proliferación del vector.
3. Los años de menor incidencia de dengue en la provincia de El Oro, durante el periodo de estudio 1995-2013 fueron: 1999 con un valor máximo de 64 casos en marzo, 2002 siendo el año que reporta menos casos de dengue (63 casos en marzo 2002), 2011 con un valor máximo de 92 casos en julio, 2012 con un máximo de 71 casos en mayo y 2013 con un valor máximo de 64 casos en abril. Cabe recalcar que estos casos ocurrieron en la estación cálido/húmeda de su respectivo año.
4. Aunque la serie de tiempo de casos observados de dengue no mostró una alta ocurrencia en 1997-1998, periodo en el que ocurrió el evento El Niño más fuerte de las últimas décadas, la serie de tiempo de anomalías estandarizadas de casos observados de dengue mostró que las más altas anomalías ocurrieron durante ese periodo y en 2009-2010. Esto es explicado por qué las ocurrencias de dengue sucedieron al finalizar 1997,

superando los valores observados a los valores que se esperaban para ese periodo.

5. Durante el periodo de estudio, se pudo observar que no existió ningún año en el cual no se reportara casos de dengue, correspondiendo el menor valor reportado (3 casos) a diciembre 2002.
6. Un incremento de 1 mm en la precipitación acumulada mensual en la ciudad de Machala, incrementaría en un 43% ($e^{0.360} = 1,43$) los casos de dengue.
7. Un incremento de 1 °C en la anomalía de la temperatura superficial del mar en la región Niño 3.4 (ONI 3.4) resultaría 3 meses después en un 38% ($e^{0.320} = 1.38$) de incremento de casos de dengue.
8. Un incremento de 1 °C en la temperatura mínima del aire en la ciudad de Machala provocaría 1 mes después un aumento de casos de dengue en un 32% ($e^{0.276} = 1.32$).
9. La disminución de 1 °C en la temperatura subsuperficial del mar a 5 m de profundidad en la estación "El Pelado" provocaría un incremento del 30% ($e^{-0.266} = 1/e^{0.266} = 1/0.30$) en los casos de dengue.

10. En general, la variable temperatura presentó un efecto significativo en el modelo final, ya sea como temperatura mínima del aire, ONI 3.4 ó temperatura subsuperficial.

11. El mejor modelo de regresión binomial negativa obtenido en esta tesis tiene presentó un R_{ML}^2 de McFadden de 0.50. El coeficiente R^2 de Pearson calculado con la relación lineal entre la predicción de log de RME de dengue y los valores observados de log de RME de dengue presentó un R^2 de Pearson de 0.63 ($r = 0.79$), mientras que el coeficiente R^2 de Pearson calculado con la relación lineal entre los casos observados y predichos de dengue presentó un R^2 de Pearson de 0.48 ($r = 0.69$). Los intervalos de confianza predichos son estrechos, a valor de la bondad del modelo. Estos resultados señalan una aceptable capacidad predictiva del modelo encontrado.

12. Algunas de las variables explicativas presentaron meses de adelanto con respecto a la ocurrencia del dengue: la temperatura mínima de aire presentó 1 mes adelanto, lo cual se encontró relacionado a la fisiología del mosquito y a los mecanismos de transmisión viral. El ONI 3.4 presentó un adelanto de 3 meses con respecto a la ocurrencia de dengue, lo cual muestra la potencialidad de ser usado para predicción

13. Se encontró que la climatología de dengue es una variable importante de predicción (el riesgo para la ocurrencia de dengue en un mes determinado depende del promedio multianual del mes anterior).
14. La anomalía de TSM en la región Niño 1+2 no estuvo significativamente asociada a la ocurrencia de dengue en el modelo de regresión binomial negativa. Se encontró una alta variabilidad en la serie de tiempo de ONI 1+2, lo cual pudo influir en este resultado.
15. Los resultados de la asociación significativa de temperatura subsuperficial del mar con la ocurrencia de dengue, señala la importancia de los mecanismos subsuperficiales de transmisión de calor (por ejemplo ondas Kelvin) para la generación de condiciones cálidas que propicien posteriormente la ocurrencia de dengue. Aunque no se encontró que la TSM en Puerto Bolívar estuviera en el modelo de regresión binomial negativa asociada a la ocurrencia de dengue, en algunos modelos previos si se encontró asociación significativa (datos no mostrados). Los datos provienen de la estación costera de Puerto Bolívar (INOCAR) ubicada en un muelle de esa ciudad, por lo que será necesario explorar a futuro si datos de TSM más oceánicos mejoran los modelos de predicción.

4.3. Recomendaciones

1. Dada la variabilidad encontrada en las series de tiempo, se recomienda mejorar el modelo de regresión binomial negativo utilizando metodología de modelos lineales generalizados mixtos (GLMM), donde se considere la inclusión explícita de componentes aleatorias en los modelos de regresión y con los cuales se pueda contabilizar el aporte de las componentes aleatorias.
2. Explorar si datos de TSM más oceánicos (frente a Puerto Bolívar) mejoran los modelos de predicción de dengue.
3. En general, la variable temperatura presentó un efecto significativo en el modelo final, ya sea como temperatura mínima del aire, ONI 3.4 ó temperatura subsuperficial, por lo que esta variable debe ser mejor estudiada para entender la complejidad de la ecología del vector y la transmisión viral. Se recomienda extender el estudio a otras localidades del Ecuador para estudiar la incidencia de dengue en ciudades costeras con distintas condiciones oceanográficas.
4. Los factores no climáticos antropogénicos (condiciones de vida y de manejo de agua y recipientes) y de inmunología también pueden

modificar la transmisión del dengue, y por tanto deben ser también considerados como variables de estudio en un posterior análisis de modelaje matemático.

5. En el mismo sentido, se recomienda explorar la posibilidad de utilizar una variable de fumigación en los modelos de predicción de dengue (análisis en la provincia de El Oro). Paralelamente, se debería hacer un análisis similar de modelaje matemático en una localidad costera donde se realice poca intervención de fumigación, para aislar o disminuir el efecto del control de los mosquitos, y comparar con los resultados de este estudio.



ANEXOS

Índice ONI 3.4												
Mes Año	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC
1995	1.0	0.7	0.4	0.2	0.1	-0.1	-0.2	-0.5	-0.8	-0.9	-1.0	-1.0
1996	-0.9	-0.8	-0.6	-0.5	-0.4	-0.3	-0.3	-0.3	-0.4	-0.4	-0.5	-0.5
1997	-0.5	-0.4	-0.1	0.3	0.8	1.3	1.7	2.0	2.2	2.5	2.6	2.6
1998	2.4	2.0	1.5	1.0	0.2	-0.5	-1.2	-1.3	-1.3	-1.3	-1.5	-1.6
1999	-1.6	-1.3	-1.1	-0.9	-0.9	-0.9	-1.0	-1.0	-1.1	-1.2	-1.4	-1.7
2000	-1.7	-1.6	-1.2	-0.9	-0.7	-0.6	-0.5	-0.5	-0.5	-0.7	-0.9	-0.9
2001	-0.8	-0.6	-0.4	-0.3	-0.1	0.0	0.1	0.0	-0.1	-0.2	-0.2	-0.2
2002	-0.1	0.1	0.2	0.2	0.5	0.6	0.8	0.9	1.1	1.4	1.5	1.4
2003	1.1	0.8	0.5	0.1	-0.2	-0.1	0.0	0.1	0.2	0.4	0.4	0.3
2004	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.4	0.7	0.7	0.7	0.7	0.6
2005	0.5	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.2	0.0	0.0	-0.1	-0.3	-0.7
2006	-0.8	-0.8	-0.5	-0.2	0.1	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.0
2007	0.6	0.2	0.0	-0.1	-0.1	-0.2	-0.4	-0.7	-1.0	-1.3	-1.6	-1.7
2008	-1.8	-1.7	-1.3	-0.9	-0.7	-0.4	-0.2	-0.1	-0.2	-0.3	-0.5	-0.7
2009	-0.9	-0.8	-0.5	-0.2	0.2	0.5	0.6	0.7	0.8	1.1	1.4	1.6
2010	1.5	1.2	1.0	0.5	-0.1	-0.7	-1.0	-1.4	-1.5	-1.6	-1.6	-1.6
2011	-1.5	-1.3	-1.0	-0.7	-0.4	-0.3	-0.4	-0.6	-0.8	-0.9	-1.0	-1.1
2012	-1.0	-0.8	-0.6	-0.3	0.0	0.3	0.5	0.6	0.5	0.4	0.2	-0.1
2013	-0.3	-0.3	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2	-0.3	-0.2	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2

Figura 28. Índice ONI región El Niño 3.4.

Índice ONI 1+2												
Mes Año	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
1995	0.7	0.4	-0.2	-0.7	-0.8	-0.6	-0.5	-0.5	-0.6	-0.5	-0.7	-0.6
1996	-0.6	-0.3	-0.6	-1.0	-1.4	-1.4	-1.4	-1.3	-1.1	-1.2	-1.2	-1.2
1997	-0.7	-0.1	0.6	1.5	2.4	3.3	3.8	4.0	3.9	3.9	3.9	3.9
1998	3.6	3.2	3.0	3.2	3.0	2.6	1.8	1.1	0.6	0.2	-0.1	-0.4
1999	-0.5	-0.3	-0.4	-0.5	-1.0	-1.0	-1.1	-1.1	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0
2000	-0.7	-0.5	-0.2	-0.1	-0.2	-0.7	-0.9	-0.8	-0.5	-0.6	-0.7	-0.7
2001	-0.4	0.2	0.7	0.6	-0.2	-0.9	-1.0	-0.9	-1.1	-1.1	-1.1	-1.0
2002	-0.5	0.2	0.8	0.9	0.4	-0.1	-0.5	-0.6	-0.3	0.1	0.5	0.3
2003	0.1	-0.3	-0.6	-1.1	-1.4	-1.3	-0.9	-0.6	-0.2	0.0	0.2	0.1
2004	0.0	-0.2	-0.4	-0.7	-0.9	-1.1	-1.1	-0.8	-0.4	0.0	0.2	0.1
2005	-0.2	-0.5	-0.7	-0.4	-0.3	-0.3	-0.4	-0.5	-0.6	-0.9	-0.9	-0.6
2006	-0.1	0.2	-0.3	-0.5	-0.7	0.0	0.4	0.8	1.1	1.1	1.0	0.6
2007	0.3	-0.1	-0.6	-1.1	-1.3	-1.3	-1.3	-1.5	-1.7	-1.9	-2.0	-1.5
2008	-0.7	0.2	0.5	0.4	0.3	0.6	0.9	0.9	0.6	0.2	-0.3	-0.2
2009	-0.2	-0.1	0.1	0.3	0.6	0.7	0.9	0.7	0.5	0.3	0.3	0.4
2010	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	-0.6	-1.1	-1.5	-1.5	-1.6	-1.6	-1.1
2011	-0.5	-0.2	0.0	0.1	0.5	0.6	0.4	-0.1	-0.5	-0.7	-0.9	-0.9
2012	-0.5	0.0	0.6	0.9	1.3	1.2	0.9	0.5	0.2	-0.1	-0.5	-0.6
2013	-0.5	-0.2	-0.3	-0.7	-1.3	-1.4	-1.3	-1.0	-0.8	-0.6	-0.5	-0.2

Figura 29. Índice ONI región El Niño 1+2.

Bibliografía

- (1) World Health Organization. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. Geneva: World Health Organization; 2009. ISBN 978 92 4 154787 1.
- (2) Ministerio de Salud Pública. Manual de procedimientos del Subsistema alerta acción SIVE – ALERTA. Quito: Segunda edición, MSP; 2013. Disponible en: <http://salud.gob.ec>
- (3) Tatem, A. J., Hay, S. I., & Rogers, D. J. (2006). Global traffic and disease vector dispersal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(16), 6242-6247.
- (4) Kuhn, K., Campbell-Lendrum, D., Haines, A., Cox, J., Corvalán, C., & Anker, M. (2005). Using climate to predict infectious disease epidemics. Geneva: WHO.
- (5) Clark, D. V., Mammen, M. P., Nisalak, A., Puthimethee, V., & Endy, T. P. (2005). Economic impact of dengue fever/dengue hemorrhagic fever in Thailand at the family and population levels. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 72(6), 786-791.
- (6) Yasuno, M., & Tonn, R. J. (1970). A study of biting habits of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. *Bulletin of the World Health Organization*, 43(2), 319.

- (7) Hernández, F. (2002), Fundamentos de Epidemiología: El Arte Detectivesco de la Investigación Epidemiológica, Primera Edición, 417 p.
- (8) Conde, A. M. (2003), Estudio de la Longevidad y el Ciclo Gonotrófico del *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), Cepa Girardot (Cundinamarca) en Condiciones de Laboratorio.
- (9) Watts, D. M., Burke, D. S., Harrison, B. A., Whitmire, R. E., & Nisalak, A. (1986). Effect of temperature on the vector efficiency of *Aedes aegypti* for dengue 2 virus. ARMY MEDICAL RESEARCH INST OF INFECTIOUS DISEASES FORT DETRICK MD.
- (10) Kovats, R. S., Bouma, M. J., Hajat, S., Worrall, E., & Haines, A. (2003). El Niño and health. *The Lancet*, 362(9394), 1481-1489.
- (11) Suaya, J. A., Shepard, D. S., Siqueira, J. B., Martelli, C. T., Lum, L. C., Tan, L. H., & Halstead, S. B. (2009). Cost of dengue cases in eight countries in the Americas and Asia: a prospective study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80(5), 846-855.
- (12) Stewart-Ibarra, A. M., & Lowe, R. (2013). Climate and non-climate drivers of dengue epidemics in southern coastal Ecuador. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 88(5), 971-981.
- (13) Castro, R. (2014). Costos del Dengue en Colombia 2010 - 2012. Impacto en Salud Pública, Universidad de los Andes.

- (14) Tarragona, S., Monteverde, M., Marchioni, S., Caporale, J., Pereiro, A. C., & Palacios, J. M. (2012). Dengue en la Argentina: un análisis económico del impacto de la epidemia de 2009. *Salud colectiva*, 8(2), 151-162.
- (15) Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., & Hay, S. I. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504-507.
- (16) Ministerio de Salud Pública Ecuador, Subsecretaría de Vigilancia de la Salud Pública, Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica GACETA EPIDEMIOLOGICA SEMANAL No. 51, 2014.
- (17) Querales, J. (2002). Dengue: causas, características clínicas y prevención. *Caracas*, 110, 328-332.
- (18) Velandia, M. L., & Castellanos, J. E. (2011). Virus del dengue: estructura y ciclo viral. *Infectio*, 15(1), 33-43.
- (19) Welsch, S., Miller, S., Romero-Brey, I., Merz, A., Bleck, C. K., Walther, P., ... & Bartenschlager, R. (2009). Composition and three-dimensional architecture of the dengue virus replication and assembly sites. *Cell host & microbe*, 5(4), 365-375. Jansen, C. C., & Beebe, N. W. (2010). The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. *Microbes and infection*, 12(4), 272-279.
- (20) Jansen, C. C., & Beebe, N. W. (2010). The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. *Microbes and infection*, 12(4), 272-279.

- (21) Benedict, M. Q., Levine, R. S., Hawley, W. A., & Lounibos, L. P. (2007). Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 7(1), 76-85.
- (22) SSA. Secretaría de Salud de Mexico. (2007). Manual para la Vigilancia, Diagnóstico, Prevención y Control del Dengue.
- (23) Ministerio de Salud Pública. Boletín Epidemiológico no. 9 de la Situación de Dengue en el Ecuador 2013, Marzo 2013.
- (24) Fernández Salas, I., & Flores, A. (1995). El papel del vector *Aedes aegypti* en la epidemiología del dengue en México. *Salud Pública México*, 37(4), 45-51.
- (25) AMSE - Asociación de Médicos de Sanidad Exterior (2013), Dengue. Epidemiología y situación mundial.
- (26) Arunachalam, N., Tana, S., Espino, F., Kittayapong, P., Abeyewickrem, W., Wai, K. T., & Petzold, M. (2010). Eco-bio-social determinants of dengue vector breeding: a multicountry study in urban and periurban Asia. *Bulletin of the World Health Organization*, 88(3), 173-184.
- (27) Stewart-Ibarra, A. M. (2012). A socio-ecological analysis of vulnerability to dengue fever in southern coastal Ecuador. STATE UNIVERSITY OF NEW YORK COL. OF ENVIRONMENTAL SCIENCE & FORESTRY.

- (28) Micieli, M. V., García, J. J., Achinelly, M. F., & Martí, G. A. (2006). Dinámica poblacional de los estadios inmaduros del vector del dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): un estudio longitudinal (1996-2000). *Revista de biología tropical*, 54(3), 979-983.
- (29) Watts, D. M., Burke, D. S., Harrison, B. A., Whitmire, R. E., & Nisalak, A. (1986). Effect of temperature on the vector efficiency of *Aedes aegypti* for dengue 2 virus. ARMY MEDICAL RESEARCH INST OF INFECTIOUS DISEASES FORT DETRICK MD.
- (30) Aguilar, A., Amin, N., & Pérez, E. M. (2003). Vacunas contra el virus dengue: desarrollo histórico. *VacciMonitor*, 12(2), 19-27.
- (31) Estado del Arte para la prevención y control del dengue en las Américas, Programa Regional de dengue OPS/OMS, 2014
- (32) Buchy, P., Yoksan, S., Peeling, R. W., & Hunsperger, E. (2006). Laboratory tests for the diagnosis of dengue virus infection. Geneva, Switzerland: TRD/Scientific Working Group, 74-85.
- (33) Lanciotti, R. S., Calisher, C. H., Gubler, D. J., Chang, G. J., & Vorndam, A. V. (1992). Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology*, 30(3), 545-551.
- (34) Hales, S., De Wet, N., Maindonald, J., & Woodward, A. (2002). Potential effect of population and climate changes on global

- distribution of dengue fever: an empirical model. *The Lancet*, 360(9336), 830-834.
- (35) GUBLER, D.J. & MELTZER, M.I. Impact of dengue/hemorrhagic fever on the developing world. *Advances in Virus Research* 53: 35-70, 1999.
- (36) McPhaden, M. J., Zebiak, S. E., & Glantz, M. H. (2006). ENSO as an integrating concept in earth science. *science*, 314(5806), 1740-1745.
- (37) Cuccalon, E. (1987). Oceanographic variability off Ecuador associated with an El Niño event in 1982–1983. *Journal of Geophysical Research: Oceans (1978–2012)*, 92(C13), 14309-14322.
- (38) THAI, K.T., CAZELLES, B., NGUYEN, N.V., VO, L.T., BONI, M.F., FARRAR, J., SIMMONS, C.P., VAN DOORN, H.R. & DE VRIES, P.J. Dengue dynamics in Binh Thuan province, southern Vietnam: periodicity, synchronicity and climate variability. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(7): e747, 2010.
- (39) Bouzid, M., Colón-González, F. J., Lung, T., Lake, I. R., & Hunter, P. R. (2014). Climate change and the emergence of vector-borne diseases in Europe: case study of dengue fever. *BMC public health*, 14(1), 781.
- (40) Kovats, R. S., Bouma, M. J., Hajat, S., Worrall, E., & Haines, A. (2003). El Niño and health. *The Lancet*, 362(9394), 1481-1489.

- (41) Selvin, S. (1996). *Statistical analysis of epidemiologic data* (No. Ed. 2). Oxford University Press.
- (42) Flores, R., Tenorio, J., & Domínguez, N. (2009). Variaciones de la extensión sur de la Corriente Cromwell frente al Perú entre los 3 y 14 S.
- (43) Arteaga, K., Tutasí, P., & Jiménez, R. (2006). Climatic variability related to El Niño in Ecuador - a historical background. *Advances in Geosciences*, 6, 237-241.
- (44) INEC, Censos de Población. <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/censos-de-poblacion-y-vivienda/>
- (45) Frenette Dussault, C., Fugère, V., Lamy, T., Taranu, Z. (2015). Generalized linear (mixed) models. Centre de la Science de la Biodiversité Du Québec.
- (46) Neves, C. (2014). Categorical data analysis. *Journal of Applied Statistics*, 41(4), 915-916.
- (47) R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- (48) Lowe, R., Bailey, T. C., Stephenson, D. B., Graham, R. J., Coelho, C. A., Carvalho, M. S., & Barcellos, C. (2011). Spatio-temporal modelling of climate-sensitive disease risk: Towards an early warning system for dengue in Brazil. *Computers & Geosciences*, 37(3), 371-381.

- (49) DEL SEMINARIO, N. O. M. B. R. E., & SALUD, E. Y. C. D. V. DOCTORADO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA Y DESARROLLO SUSTENTABLE, ISBN: 978 92 4 156452 6.
- (50) Cassab, A., Morales, V., & Mattar, S. (2011). Climatic factors and cases of dengue in Monteria, Colombia: 2003-2008. *Revista de Salud Pública*, 13(1), 115-128.
- (51) Lozano-Fuentes, S., Hayden, M. H., Welsh-Rodriguez, C., Ochoa-Martinez, C., Tapia-Santos, B., Kobylinski, K. C., ... & Eisen, L. (2012). The dengue virus mosquito vector *Aedes aegypti* at high elevation in México. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 87(5), 902-909.
- (52) Rodriguez, C. B. Fenómeno de El Niño, Estado Actual y sus Posibles Impactos Sobre Algunos Sectores Productivos de América Latina.
- (53) Winahju, W. S., & Mukarromah, A. (2012). Modeling Dengue Cases Using Poisson INAR. *Procedia Engineering*, 50, 837-847.
- (54) CAZELLES, B., CHAVEZ, M., MCMICHAEL, A.J. & HALES, S. Nonstationary influence of El Niño on the synchronous dengue epidemics in Thailand. *PLoS medicine*, 2: 313-318, 2005.
- (55) HAY, S.I., MYERS, M.F., BURKE, D.S., VAUGHN, D.W., ENDY, T., ANANDA, N., SHANKS, G.D., SNOW, R.W. & ROGERS, D.J. Etiology of interepidemic periods of mosquito-borne disease. *Proceedings of*

the National Academy of Sciences of the United States of America, 97(16): 9335-9339, 2000.

- (56) SHANG, C.S., FANG, C.T., LIU, C.M., WEN, T.H., TSAI, K.H. & KING, C.C. The role of imported cases and favorable meteorological conditions in the onset of dengue epidemics. *Plos neglected tropical diseases*, 4(8): 775, 2010.
- (57) FOCKS, D.A., DANIELS, E., HAILE, D.G. & KEESLING, J.E. A simulation model of the epidemiology of urban dengue fever: literature analysis, model development, preliminary validation, and samples of simulation results. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 53(5): 489-506, 1995.
- (58) Estallo, E. L., Lamfri, M. A., Scavuzzo, C. M., Almeida, F. F. L., Introini, M. V., Zaidenberg, M., & Almirón, W. R. (2008). Models for predicting *Aedes aegypti* larval indices based on satellite images and climatic variables. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(3), 368-376.
- (59) BARBAZAN, W., NITATPATTANA, P., RONGSRIYAM, Y., YOKSAN, S. & GONZALEZ, J.P. Seroepidemiological survey among schoolchildren during the 2000-2001 dengue outbreak of Ratchaburi Province, Thailand. *Tuntaprasart. The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 34(3): 564-568, 2003.

- (60) LEE, K.S., LAI, Y.L., LO, S., BARKHAM, T., AW, P., OOI, P.L., TAI, J.C., HIBBERD, M., JOHANSSON, P., KHOO, S.P. & NG, L.C. Dengue virus surveillance for early warning, Singapore. *Emerging infectious diseases*, 16(5): 847-849, 2010.