

Artículo de Investigación / Research Article

Uso del lenguaje de programación Java para el conteo digital-automatizado a partir de imágenes de huevos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)

Use of the Java programming language for digital-automated counting from *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) eggs images

Walter Eduardo Quezada-Yaguachi¹ , Fernando Montoya² , Luz Dalila Rescalvo-Luna¹ , Gabriel Corkidi² , Miriam Alquisira-Domínguez¹ , Miriam Juana Vázquez-Anzúres¹ , Dania Berenice Rebollo-Salinas¹ , Cassandra González-Acosta³ , Fabián Correa-Morales³ , Miguel Moreno-García^{3*} 

¹Unidad de Investigación Entomológica y Bioensayos- Centro Regional de Control de Vectores Oaxtepec, Yautepec, Morelos, México. ²Laboratorio de Imágenes y Visión por Computadora, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Cuernavaca, Morelos, México. ³Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE), Ciudad de México, México. ✉ miguelmoga2000@yahoo.com.mx*

ZooBank: urn:lsid:zoobank.org:pub:CCE8C0F8-3BCC-43A9-95EF-4D243CC4E606
<https://doi.org/10.35249/rche.50.2.24.19>

Resumen. La contabilización de huevos de mosquitos en campo requiere de tiempo y personal operativo con experiencia, y en algunos casos, la ayuda de costosos equipos de laboratorio. Además, se pueden presentar errores humanos al realizar este tipo de conteos manual y visual, por lo que se han desarrollado algoritmos para el conteo automático. Debido a que algunos algoritmos o interfaces llegan a necesitar de un conocimiento matemático elevado o de recursos informáticos con hardware complejos, el presente trabajo presenta un software (JAVA) sin costo, con interfaz amigable y accesible a equipos de cómputo básicos y sin la ayuda de conexión a internet, para el conteo automático de huevos de mosquitos. El software desarrollado se puso a prueba usando papeletas de ovitrampas con huevos de *Aedes aegypti* que fueron digitalizadas y analizadas mediante el software JAVA denominado "CERECOVE". El software requirió de aproximadamente cinco minutos para la cuantificación en una amplia gama de números de huevos, siendo un software fácil de operar, gratuito y una opción útil para este propósito. Únicamente los valores de la comparación de la categoría "muy abundante" entre conteo manual y el programa JAVA-CERECOVE presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P=0,01491$). Este software puede representar una herramienta poderosa para aumentar la vigilancia de enfermedades transmitidas por vectores y evaluar el impacto de los programas de control.

Palabras clave: Arbovirosis; control de dengue; imágenes digitales; ovitrampa; vigilancia entomológica.

Abstract. To count mosquito eggs in the field, it is necessary to have experienced operating personnel and, in some cases, expensive laboratory equipment. Furthermore, the possibility of human error in performing manual and visual counts has led to the development of algorithms for automatic

Recibido 10 enero 2024 / Aceptado 10 junio 2024 / Publicado online 30 junio 2024
Editor Responsable: José Mondaca E.

counting. Because certain algorithms or interfaces require high mathematical knowledge or computer resources with complex hardware. The present work presents a software (JAVA) at no cost with a friendly interface, accessible to basic computer equipment and without the help of an Internet connection, for the automatic counting of mosquito eggs. The developed software was tested using ovitraps with *Aedes aegypti* eggs, which were then digitized and analyzed using the Java software called "CERECOVE". The software required approximately five minutes for quantification over a wide range of egg numbers. It was easy to operate, free of charge, and a useful option for this purpose. The values of the comparison of the "very abundant" category between manual counting and the JAVA-CERECOVE program showed statistically significant differences ($P=0.01491$). This software can represent a powerful tool to increase surveillance of vector-borne diseases and to evaluate the impact of vector programs.

Key words: Arbovirosis; dengue control; digital images; entomological surveillance; ovitraps.

Introducción

Durante décadas *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) se ha destacado como el vector principal de importantes arbovirosis como el dengue, Zika, chikungunya, fiebre amarilla y fiebre Mayaro, principalmente en los trópicos (Guzmán *et al.* 2016). Su presencia y distribución en Latinoamérica sigue siendo predominante por su eficaz capacidad intrínseca de incubar y transmitir el virus del dengue, entre otros virus de importancia médica en la región (Tjaden *et al.* 2013), reportándose hasta 3.125.386 casos de enfermedad por arbovirus en América en 2022 (OPS/OMS 2022). Del total, 2.811.452 (90%) fueron casos de dengue, 273.685 (8,8%) de chikungunya, y 40.249 (1,3%) de Zika. Además, con 4.607 casos de dengue grave y 1.290 decesos, las cifras se aproximaron al 2019 y fueron superiores al 2020 (OPS/OMS 2022).

Aedes aegypti tiene un comportamiento antropofílico, provocando que la mayor parte de su ciclo biológico sea dentro o cerca de las viviendas en asentamientos humanos (fuente de alimento para las hembras) (Crawford *et al.* 2017; Gómez-García 2018; Pruszyński *et al.* 2020). La oviposición se lleva a cabo en hábitats larvarios naturales o artificiales a la espera de que estos se llenen de agua y puedan humedecer los huevos para posteriormente dar lugar a la eclosión de las larvas. Los huevos de este vector pueden presentar diapausa o latencia por lo que se pueden mantener viables por varios meses en condiciones de desecación ocasionando que las poblaciones se mantengan y continúen con la transmisión de arbovirus (Gaburro *et al.* 2016).

Desde 2013, la Secretaría de Salud de México implementó el monitoreo de abundancia y dispersión de mosquitos de importancia en salud pública por medio del uso de ovitrampas (CENAPRECE 2020a). Hasta el momento se monitoreo un total de 250.000 ovitrampas cada semana a nivel nacional, en sitios urbanos y semi-urbanos en 32 estados. El uso de ovitrampas ha permitido cuantificar los huevos de mosquitos de forma rutinaria y sencilla, ya que se ha demostrado que las hembras de *Ae. aegypti* son atraídas a este tipo de trampas para la oviposición (Alarcón *et al.* 2014; Quezada-Yaguachi *et al.* 2022; Torres-Estrada y Rodiles-Cruz 2013).

Sin embargo, la contabilización de huevos de mosquitos en campo o laboratorio requiere de tiempo y personal operativo con experiencia (CENAPRECE 2020a), y en algunos casos la ayuda de equipos costosos de laboratorio, además de los errores humanos que se presentan en este tipo de conteos (manual y visual). Debido a esto, las propuestas de investigación y desarrollo de nuevas herramientas para la obtención automática o semiautomática de estos datos se realizan para ahorrar tiempo y tener mayor exactitud en el conteo de huevos de mosquitos en los sustratos de las ovitrampas de insectario o de campo. Actualmente, se han

desarrollado herramientas para el conteo automático, permitiendo recopilar información precisa y rápida a través de imágenes y algoritmos digitales (Bandong y Joelianto 2019; Elpidio *et al.* 2010; García *et al.* 2019). Sin embargo, los algoritmos simples e interfaces accesibles tienden a determinar la efectividad de esta herramienta en campo (operativo) y en laboratorio (investigación), ya que algunos llegan a necesitar de conocimiento matemático elevado o recursos informáticos con hardware complejos, que incluyan sistemas de iluminación o soportes especiales para la obtención de los resultados.

Por eso, este trabajo presenta un software (JAVA) sin costo, con interfaz amigable y accesible a equipos de cómputo básicos y sin la ayuda de conexión a internet, para contabilizar de forma automática huevos de mosquitos. La intención es poder generar una aplicación para dispositivos móviles de conteo en tiempo real de huevos de mosquitos en ovitrampas que permita distribuir de manera más eficiente los recursos operativos.

Materiales y Métodos

Obtención de material biológico

Se obtuvieron huevos (F0) de mosquitos *Aedes* en campo por medio de papeletas de pellón con ovitrampas en Cuautla, Morelos, México (18°50'56,1"N 98°57'20,0"O), para que posteriormente eclosionaran colocando las papeletas en charolas entomológicas con agua. Las larvas, pupas y adultos se mantuvieron en condiciones de insectario con temperatura (27-30 °C) y humedad relativa (70%) controladas (CENAPRECE 2020b). Los adultos eclosionados se alimentaron con agua azucarada al 10% y sanguínea para proceder a obtener huevos (F1) de *Ae. aegypti*.

Alimentación sanguínea y obtención de huevos

A los adultos se les ofreció alimentación sanguínea directa una vez por semana durante 30 min de ratas egipcias mantenidas en bioterio. Tres días posteriores a la ingesta de sangre, se colocaron ovitrampas dentro de las jaulas (BugDorm, 30x30x30 cm) para estimular la puesta de huevos. Las ovitrampas consistieron en envases de plástico de 500 ml, con una tira de papel filtro Whatman #1 (6 cm x 35 cm) colocada en la periferia interna de la ovitrampa, y aproximadamente 250 ml de agua (hasta la mitad del ancho de la tira). Las ovitrampas se retiraron después de dos días y las papeletas con huevos fueron secadas a temperatura ambiente. La crianza y obtención de huevos se realizó en las instalaciones de la Unidad de Investigación Entomológica y Bioensayos de Oaxtepec, Morelos, México.

Procesamiento de papeletas e imágenes de huevos

Las papeletas se clasificaron por categoría de acuerdo con la abundancia de huevos (número de huevos obtenidos): "poco abundante" (100 a 999), "abundante" (1.000 a 5.000) y "muy abundante" (> 5.000) como se muestra en la Fig. 1. Se eligieron cuatro papeletas para cada categoría, para un total de 12 papeletas. Las imágenes digitales de las papeletas con huevos se capturaron por medio de un escáner Epson L375 a una calidad de 1.200 píxeles. Las imágenes digitales se identificaron y almacenaron en el disco duro del equipo de cómputo para el posterior conteo en el software JAVA-CERECOVE. Dentro de los pocos requerimientos para el conteo es automatizado está el contar con un escáner. Sin embargo, e la operación diaria de los programas de vectores, las papeletas con huevos son trasladadas a instalaciones donde son almacenadas en caso de necesitar una revalidación del conteo manual. Razón por la cual se considera que no se requiere de un esfuerzo extra para el traslado y escaneo. Se espera que conforme el software se vaya mejorando el uso de escáner ya no sea necesario y se logre usar imágenes captadas con el celular.

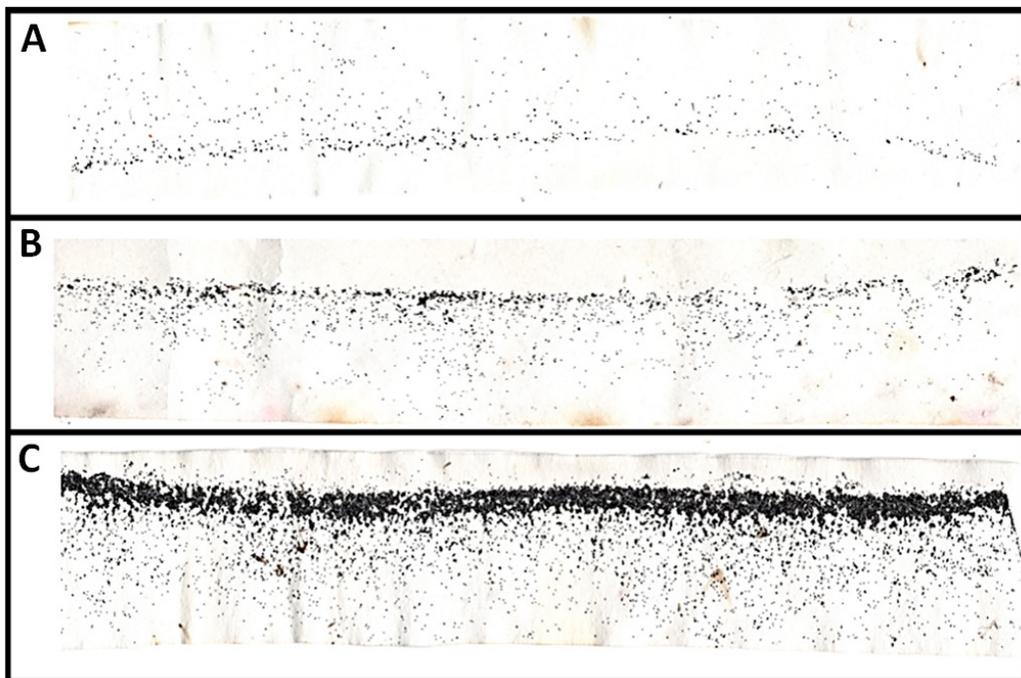


Figura 1. Papeletas con huevos de *Aedes aegypti* recolectados a través de ovitrampas y clasificadas en categorías. **A.** Papeleta con pocos huevos (poco abundante). **B.** Papeleta con abundantes huevos (abundante). **C.** Papeleta con huevos muy abundantes (muy abundante). / **Figure 1.** Pellon strips with *Aedes aegypti* eggs collected through ovitraps are classified into three categories. **A.** Strip with few eggs (not abundant). **B.** Strip with abundant eggs (abundant). **C.** Strip with very abundant eggs (very abundant).

Conteo manual de huevos

Se realizó un conteo manual tradicional con la ayuda de un estereoscopio CARL ZEISS Stereo Discovery V8 como método de referencia en el insectario con las 12 papeletas seleccionadas para el estudio. Los huevos fueron contados manualmente por tres colaboradores diferentes. Los resultados se guardaron en una base de datos Excel para el posterior análisis estadístico.

Estimación de huevos usando el software JAVA

Para el conteo automático de los huevos se escribió una rutina en el lenguaje de programación Java. Aprovechando el alto contraste entre el color de los huevos (negro) y el color de la papeleta (blanco), el primer paso fue binarizar la imagen escaneada. Esta fue tomada con un escáner, por lo que las condiciones de luz fueron siempre las mismas. Este proceso convierte una imagen de colores, donde cada píxel puede tener 2^{24} colores (imagen de 24 bits), a una imagen donde los píxeles solo tienen dos valores, blanco o negro. En la Fig. 2A se muestra la imagen de una sección de una papeleta escaneada y en la Fig. 2B la correspondiente imagen binarizada. El siguiente paso del algoritmo fue encontrar las partículas en la imagen y determinar el número de píxeles que las componen. Definimos como partículas a los conjuntos de píxeles negros que están conectados entre ellos sin importar el número de píxeles que tiene cada partícula, como muestra la Fig. 2C. Para determinar

la cantidad de huevos en una papeleta fue necesario determinar el número de píxeles que componían a un solo huevo. Para esto, el algoritmo calcula el histograma de los tamaños de las partículas (Fig. 2D) haciendo un corte en partículas de tamaño menor a 350 píxeles. El inciso D muestra como hay una acumulación de partículas alrededor de ciertos tamaños. Como se indica en la figura, en este ejemplo, el tamaño de un huevo corresponde a 72 píxeles.

El número total de huevos en la papeleta se puede estimar con la fórmula $\frac{N_T}{N_H}$, donde:

N : representa el número total de huevos en la papeleta.

N_T : número total de píxeles negros en la papeleta.

N_H : número de píxeles que componen a un solo huevo.

El software calibrado se instaló en un equipo de cómputo marca HP con disco duro de 500 GB y memoria RAM de 8 GB. Las imágenes digitalizadas de las 12 papeletas con huevos seleccionadas para el estudio se cargaron mediante el software JAVA-CERACOVE donde se leyó cada una de las imágenes por separado, dando como resultado el conteo del número de huevos presentes en cada papeleta.

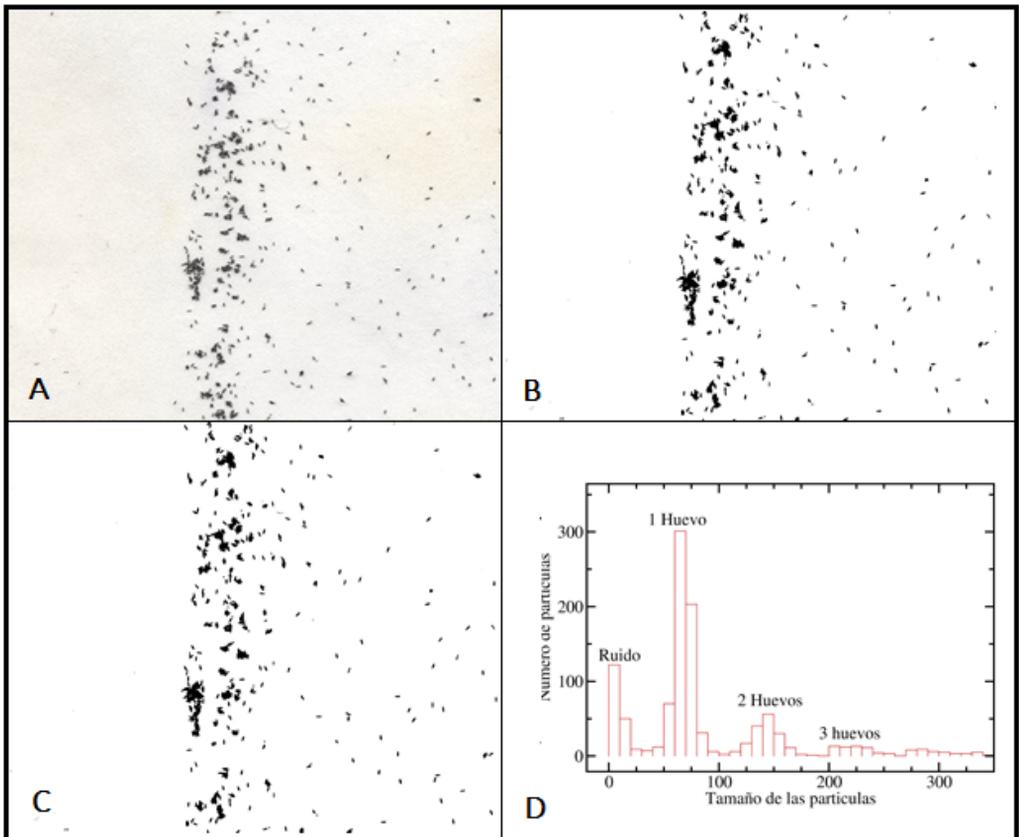


Figura 2. Conteo automático de huevos de *Aedes aegypti* mediante una rutina en lenguaje de programación de Java, aprovechando el alto contraste entre el color de los huevos (negro) y el color de la papeleta (blanco). / **Figure 2.** A Java programming language routine is used to automatically count *Aedes aegypti* eggs, taking advantage of the high contrast between the color of the eggs (black) and the color of the strip (white).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos por conteo manual (entomólogos) y conteo automático (JAVA-CERECOVE) se compararon empleando el paquete estadístico R versión 4.2.2. Para cada grupo de datos se analizó la normalidad mediante una prueba de Shapiro-Wilk W Test $P > 0,05$. Para los datos que presentaron distribución normal se analizaron por medio de una Análisis de Varianza (ANOVA) y los que no presentaron una distribución normal se analizaron a través de la prueba Kruskal-Wallis.

Resultados

De las tres categorías (“poco abundante”, “abundante” y “muy abundante”) únicamente las categorías “poco abundante” y “abundante” presentaron distribución normal, mientras que el grupo de “muy abundante” no presentó distribución normal.

La comparación entre el conteo manual y el conteo automático de las categorías “poco abundante” y “abundante” no presentaron diferencias estadísticas significativas ($F= 0,1873$, $P= 0,903$ y $F= 1,447$, $P= 0,278$, respectivamente) entre el número de huevos reportados por conteo manual y el programa JAVA-CERECOVE como se observa en la Fig. 3A.

Sin embargo, los valores de la comparación de la categoría “muy abundante” entre conteo manual y el programa JAVA-CERECOVE presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P= 0,01491$). Con un promedio de huevos contabilizados por colaborador 1, 2 y 3 de 56.783, 45.246 y 46.239, respectivamente, y para JAVA-CERECOVE de 98.956. Esta diferencia entre grupos se debe a las lecturas realizadas con el programa JAVA-CERECOVE, reportando un mayor número de huevos en comparación al conteo reportado por los tres colaboradores como se muestra en la Fig. 3C.

El software JAVA-CERECOVE requirió de aproximadamente cinco minutos para obtener el resultado de las tiras de papel con cientos de huevos en cada una de las tres categorías de abundancia, desde el momento de la digitalización (escaneo de papeletas) hasta la cuantificación de los huevos, en comparación con el tiempo requerido para cuantificar visualmente y de forma manual mediante un estereoscopio para cada categoría de abundancia (“poco abundante”: 15 min; “abundante”: 30 min; “muy abundante”: 45 min aproximadamente), tomando en cuenta el número promedio de huevos colectados en las papeletas del insectario.

Discusión

El conteo manual de huevos de mosquitos es una actividad que requiere de esfuerzo, tiempo y personal capacitado y con experiencia, ya sea en campo o en insectario, además de los materiales y equipos que suelen emplearse para este propósito en los programas de control de dengue en México. Es por esto que se requiere del desarrollo de herramientas informáticas para el conteo de huevos de mosquitos que permitan eficientizar el proceso y reducir el sesgo técnico. Nuestros resultados mostraron que el software JAVA-CERECOVE ofrece una excelente opción como herramienta útil para la cuantificación de grandes números de huevos, siendo un software gratuito y fácil de operar, considerando que el desarrollo de este tipo de herramientas no es nuevo y ha ido cambiando desde hace algunos años (Dembo 2014; Mains *et al.* 2008; da Silva *et al.* 2011; Afify y Galizia 2014).

Las imágenes digitalizadas con escáneres para el análisis con JAVA-CERECOVE no requieren de un procesamiento de imagen complejo antes del conteo automático como con otros softwares (Afify y Galizia 2014). Sin embargo, el empleo de un escáner para la digitalización de las papeletas no es práctica para su uso en campo. Mains *et al.* (2008) y Dembo *et al.* (2014) sugieren métodos a partir de imágenes obtenidas de cámaras portátiles, pero de esta forma el conteo automatizado no es sencillo y es necesaria la segmentación de las imágenes para poder estimar el número de huevos en la papeleta, lo cual es un proceso complicado, que demanda tiempo, y el uso de recursos informáticos adicionales. En 2014, se lanzó un software para contar automáticamente huevos de *Anopheles stephensi* Liston, 1901 (Dembo *et al.* 2014), sin embargo, los intentos de procesar imágenes de tipo “micro” o “macro” con este software no detectaron huevos. Los autores mencionan que las limitaciones de esta técnica radican en el procesamiento visual de la imagen más que en el desarrollo del algoritmo.

El diseño del algoritmo y tipo de procesamiento de imágenes de JAVA-CERECOVE permiten procesar el sustrato (papel filtro o pellón) que comúnmente se usa en la colecta de huevos, tanto en campo como en el insectario, considerando que el contraste entre el fondo (claro) y los huevos (negro) para que la imagen sea lo suficientemente nítida. De tal forma que las imágenes nítidas de las papeletas con los huevos de mosquitos sean el único requisito sin necesidad de un procesamiento complejo ni adicional. Sin embargo, cuando el número total de huevos es muy abundante (> 5.000 huevos por imágenes) con una diferencia significativa al compararlo con un conteo manual realizado por más de un entomólogo, como se muestra en la Fig. 3. No obstante, en campo es muy difícil y poco probable obtener papeletas con esta elevada abundancia de huevos (Quezada-Yaguachi *et al.* 2022), por lo que, de ser usado el algoritmo en papeletas provenientes de laboratorio, la cantidad de hembras por jaulas se deberá ajustar para obtener un número de huevos menor a 5.000. Es probable que el aumento de errores en el conteo se deba a la gran cantidad de huevos ovipuestos en la superficie del papel filtro, por lo que, al aumentar, aumentaría la probabilidad de que los huevos se superpongan entre sí. Debido a lo anterior, en este estudio se clasificaron las papeletas por cantidad de huevos en tres categorías que permitieran medir con mayor exactitud a través de JAVA-CERECOVE cada categoría que pueda presentarse en un insectario para la cría de mosquitos.

El siguiente paso para el desarrollo operativo de JAVA-CERECOVE será desarrollarlo para una aplicación móvil. El objetivo es mantener una base de datos centralizada y lograr un análisis en tiempo real de las poblaciones de mosquitos en las regiones de interés. La aplicación se diseñará para su implementación en dispositivos móviles con acceso a internet y empleará el algoritmo propuesto para el conteo automatizado de los huevos de mosquitos. Esta información junto con las coordenadas, fecha y cualquier otra información pertinente se enviarán a la base de datos a partir de la cual se generará un informe en tiempo real. Esto podría ayudar al registro de las encuestas entomológicas de los programas de control de dengue en México, registrándose directamente en el sitio con fecha y geo-referenciación, maximizando la respuesta de las campañas de control de mosquitos vectores, permitiendo la transferencia de datos obtenidos a una base central.

El uso de un equipo móvil con cámara permitiría utilizar esta herramienta por parte del personal operativo en campo con prácticamente nulas restricciones. Además, tomando en cuenta que la transferencia de datos de la vigilancia entomológica en papel es un proceso que lleva su tiempo en comparación con las bases de datos electrónicas, lo anterior permitiría agilizar el proceso y el análisis de datos, representando una herramienta poderosa para aumentar la vigilancia de enfermedades transmitidas por vectores y ayudar a evaluar el impacto de los programas de control de vectores.

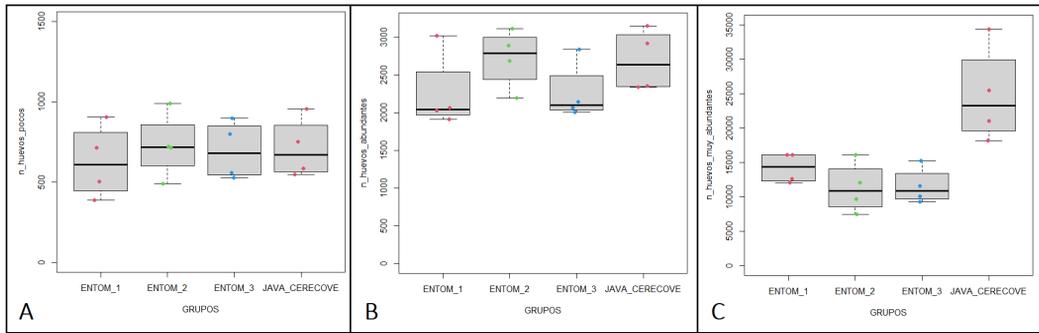


Figura 3. Diagrama de cajas de la comparación de la abundancia de huevos de *Aedes aegypti* contabilizados por colaboradores y mediante JAVA-CERECOVE en las diferentes categorías. **A.** Papeletas con pocos huevos (poco abundante), $P= 0,903$. **B.** Papeletas con abundantes huevos (abundante), $P= 0,278$. **C.** Papeletas con muy abundantes huevos (muy abundante), $P= 0,01491$. / **Figure 3.** A box plot of the abundance of *Aedes aegypti* eggs counted in different categories by collaborators and JAVA-CERECOVE. **A.** Pellon strips with few eggs, $P= 0.903$. **B.** Strip with abundant eggs, $P= 0.278$. **C.** Strip with very abundant eggs, $P= 0.01491$.

Contribución de los Autores

WEQ-Y: Conceptualización, metodología, investigación, redacción - borrador original.
FM, GC: Curación de datos, metodología, software, análisis, redacción - borrador original.
LDR-L: Visualización, investigación, metodología, curación de datos. **MA-D, MJV-A, DBR-S:** Metodología, investigación, redacción - borrador original.: Metodología, investigación.
CG-A: Investigación, redacción-revisión y edición, supervisión, visualización. **FC-M:** Investigación, redacción-revisión y edición, supervisión, visualización, administración del proyecto. **MM-G:** Investigación, redacción - borrador original, redacción-revisión-edición, visualización.

Literatura Citada

- Afify, A. y Galizia, C.G. (2014)** Gravid females of the mosquito *Aedes aegypti* avoid oviposition on m-cresol in the presence of the deterrent isomer p-cresol. *Parasite & Vectors*, 7: 315. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-315>
- Alarcón, E.P., Segura, A.M, Rúa-Uribe, G. y Parra-Henao, G. (2014)** Evaluación de ovitrampas para vigilancia y control de *Aedes aegypti* en dos centros urbanos del Urabá antioqueño. *Biomédica*, 34: 409-424. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i3.2134>
- Bandong, S. y Joelianto, E. (2019)** Counting of *Aedes aegypti* eggs using image processing with grid search parameter optimization. In: 2019 International Conference on Sustainable Engineering and Creative Computing (ICSECC), 293-298 (IEEE 2019). <https://doi.org/10.1109/ICSECC.2019.8907232>
- CENAPRECE [Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades] (2020a)** Guía Metodológica para la Vigilancia Entomológica con Ovitrapas. Secretaría de Salud, México. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/598092/Guia_Metodologica_para_Vigilancia_Entomologica_con_Ovitrapas_compressed.pdf. Consultado 12 diciembre 2023.
- CENAPRECE [Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades] (2020b)** Guía Metodológica para la Instalación y Mantenimiento del Insectario. Secretaría de Salud, México. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/598095/Guia_Metodologica_para_la_Instalacion_y_Mantenimiento_del_Insectario_compressed.pdf. Consultado 12 diciembre 2023.

- Crawford, J.E., Alves, J.M., Palmer, W.J., Day, J.P., Sylla, M., Ramasamy, R., Surendran, S.N., Black, W. C., Pain, A. y Jiggins, F.M. (2017)** Population genomics reveals that an anthropophilic population of *Aedes aegypti* mosquitoes in West Africa recently gave rise to American and Asian populations of this major disease vector. *BMC Biology*, 15: 16. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0351-0>
- da Silva, M.G.N.M., Rodrigues, M.A.B. y De Araujo, R.E. (2011)** *Aedes aegypti* egg counting system. In: 2011 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (pp. 6810-6812). *IEEE*. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2011.6091679>
- Dembo, E., Ogboi, J., Abay, S., Lupidi, G., Dahiya, N., Habluetzel, A. y Lucantoni, L. (2014)** A user friendly method to assess *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) vector fitness: fecundity. *Journal of Medical Entomology*, 51(4): 831-836. <https://doi.org/10.1603/ME13112>
- Elpídio, F., Costa, L., Pucci, G., Andrade, M., Costa, A.E., Soares, F., Brasil, L. y Rodrigues, M.A.B. (2010)** Automatic counting of *Aedes aegypti* eggs deposited in ovitrap by algorithm of Digital Image Processing and Artificial Neural Network. 2011 Pan American Health Care Exchanges, Rio de Janeiro, Brazil. XXII CBEB, 138-139. <https://doi.org/10.1109/PAHCE.2011.5871865>
- Gaburro, J., Duchemin, J.B., Paradkar, P.N., Nahavandi, S. y Bhatti, A. (2016)** Assessment of ICount software, a precise and fast egg counting tool for the mosquito vector *Aedes aegypti*. *Parasite & Vectors*, 9(1): 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1870-1>
- García, P.S.C., Martins, R., Lins Machado Coelho, G.L. y Camara-Chavez, G. (2019)** Acquisition of digital images and identification of *Aedes aegypti* mosquito eggs using classification and deep learning. *Proceedings - 32nd Conference on Graphics, Patterns and Images, SIBGRAPI 2019*, 47-53. <https://doi.org/10.1109/SIBGRAPI.2019.00015>
- Gómez-García, G.F. (2018)** *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) y su importancia en salud humana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 70(1): 55-70.
- Guzmán, M.G., Gubler, D.J., Izquierdo, A., Martínez, E. y Halstead, S.B. (2016)** Dengue infection. *Nature Reviews Disease Primers*, 2: 16055. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.55>
- Mains, J.W., Mercer, D.R. y Dobson, S.L. (2008)** Digital image analysis to estimate numbers of *Aedes* eggs oviposited in containers. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(4): 496. <https://doi.org/10.2987/5740.1>
- OPS/OMS [Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud] (2022)** Boletín Arbovirosis 2022. Actualización epidemiológica semanal para dengue, chikunguña y zika en 2022. Disponible en: <https://www3.paho.org/data/index.php/es/temas/indicadores-dengue/boletin-anual-arbovirosis-2022.html>. Consultado 3 noviembre 2023
- Pruszyński, C.A., Stenn, T., Acevedo, C., Leal, A.L. y Burkett-Cadena, N.D. (2020)** Human blood feeding by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the Florida Keys and a review of the literature. *Journal of Medical Entomology*, 57(5): 1640-1647. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa083>
- Quezada-Yaguachi, W.E., Rodríguez, A.D., Solís-Santoyo, F., López-Solis, A.D., C. Black IV, W., Saavedra-Rodríguez, K., Morales-Viteri, D. y Penilla-Navarro, P. (2022)** Comparative evaluation of the regular ovitrap vs an innovated larvitrap for *Aedes* entomological surveillance in Tapachula. *Advances in Entomology*, 10(1): 77-84. <https://doi.org/10.4236/ae.2022.101006>
- Tjaden, N.B., Thomas, S.M., Fischer, D. y Beierkuhnlein, C. (2013)** Extrinsic incubation period of dengue: knowledge, backlog, and applications of temperature dependence. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 7(6): 1-5. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002207>
- Torres-Estrada, J.L. y Rodiles-Cruz, N. del C. (2013)** Diseño y evaluación de una ovitrampa para el monitoreo y control de *Aedes aegypti*, principal vector del dengue. *Salud Pública de México*, 55(5): 505-511. <https://doi.org/10.21149/spm.v55i5.7251>