



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), marzo-abril 2024,
Volumen 8, Número 2.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i2

**EFICACIA LARVÍVORA DE BETTA SPLENDENS,
POECILIA RETICULATA Y CARASSIUS AURATUS
SOBRE LARVAS DE AEDES AEGYPTI Y A.
ALBOPICTUS EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

**LARVIVOR EFFICACY OF BETTA SPLENDENS, POECILIA
RETICULATA AND CARASSIUS AURATUS ON LARVAE OF
AEDES AEGYPTI AND A. ALBOPICTUS UNDER
LABORATORY CONDITIONS**

Daniel Perales-Rosas

Tecnológico Nacional de México, México

Orfa Donjuan-Chávez

Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Guerrero, México

Mairel Valle-de la Paz

Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Guerrero, México

Mireya Maruris-Reducindo

Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Guerrero, México

Araceli Chino-Cantor

Escuela Superior en Desarrollo Sustentable, Universidad Autónoma de Guerrero, México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i2.10838

Eficacia Larvívora de *Betta Splendens*, *Poecilia Reticulata* y *Carassius Auratus* Sobre Larvas de *Aedes Aegypti* y *A. Albopictus* en Condiciones de Laboratorio

Daniel Perales-Rosas¹

daniel.perales@tecvale.mx

<https://orcid.org/0000-0003-4257-3993>

Tecnológico Nacional de México/ Instituto
Tecnológico de Ciudad Valles, Luis Potosí
México

Orfa Donjuan-Chávez

Facultad de Ciencias Naturales. Universidad
Autónoma de Guerrero, Las Petaquillas,
Guerrero
México

Mairel Valle-de la Paz

15965@uagro.mx

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

Facultad de Ciencias Naturales. Universidad
Autónoma de Guerrero, Las Petaquillas,
Guerrero
México

Mireya Maruris-Reducindo

maruris16@hotmail.com

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

Facultad de Ciencias Naturales. Universidad
Autónoma de Guerrero, Las Petaquillas,
Guerrero
México

Araceli Chino-Cantor

aracelichino.c@hotmail.com

<https://orcid.org/0009-0006-7925-4506>

Escuela Superior en Desarrollo Sustentable,
Campus Costa Grande, Universidad
Autónoma de Guerrero. Tecpán de Galeana,
Guerrero
México.

¹ Autor principal

Correspondencia: daniel.perales@tecvale.mx

RESUMEN

El objetivo fue evaluar la eficacia larvívora de *Betta splendens*, *Poecilia reticulata* y *Carassius auratus* sobre las poblaciones de larvas de *Aedes aegypti* y *A. albopictus* bajo condiciones de laboratorio, se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con tres densidades de larvas y cuatro repeticiones. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de medias con la prueba Tukey ($\alpha \leq 0.05$) mediante paquete estadístico SAS. Se evaluó la capacidad larvívora de los peces (estadio juvenil). Se utilizaron los estadios larvales de mosquitos LI a LIV de las especies de *Aedes* antes mencionadas. Las densidades larvarias evaluadas fueron: 10, 25 y 45 larvas con 4 repeticiones, se evaluó la capacidad larvívora de las especies de peces a los 30 min. Los resultados obtenidos mostraron que las tres especies de peces alcanzaron eficacias del 100% en el consumo de larvas de *Aedes aegypti* y *A. albopictus* antes de los 30 min. *Betta splendens* fue la especie más voraz al consumir las poblaciones de larvas de mosquito en el menor tiempo, 3.25 min en la población de 10 larvas, 3 min en la población de 25 larvas y 8 min en la población de 45 larvas, siendo estadísticamente diferente a *Carassius auratus* y *Poecilia reticulata* en las poblaciones de 25 larvas. En la comparación entre las tres especies de peces con 10 y 45 larvas, estadísticamente no hubo diferencias significativas a los 30 min, sin embargo, las especies más voraces fueron *Betta splendens* y *Poecilia reticulata*. Con los resultados obtenidos se concluye que las especies de *Betta splendens*, *Poecilia reticulata* y *Carassius auratus* pueden ser utilizadas para el control biológico de las larvas de *Aedes aegypti* y *A. albopictus* que son vectores de virus de enfermedades de importancia médica.

Palabras Clave: Control biológico, mosquitos, vector, peces ornamentales, ícticas



Larvivor Efficacy of *Betta Splendens*, *Poecilia Reticulata* and *Carassius Auratus* on Larvae of *Aedes Aegypti* and *A. Albopictus* Under Laboratory Conditions

ABSTRACT

The objective was to evaluate the larvivorous efficiency of *Betta splendens*, *Poecilia reticulata* and *Carassius auratus* on the larval populations of *Aedes aegypti* and *A. albopictus* under laboratory conditions, a completely randomized experimental design was used, with three larval densities and four repetitions. The data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) and a multiple comparison test of means with the Tukey test ($\alpha \leq 0.05$) using the SAS statistical package. The larvivorous capacity of the fish (juvenile stage) was evaluated. Mosquito larval stages LI to LIV of the aforementioned *Aedes* species were used. The larval densities evaluated were: 10, 25 and 45 larvae with 4 repetitions, the larvivorous capacity of the fish species was evaluated after 30 min. The results obtained showed that the three fish species reached efficiencies of 100% in the consumption of *Aedes aegypti* and *A. albopictus* larvae before 30 min. *Betta splendens* was the most voracious species by consuming the populations of mosquito larvae in the shortest time, 3.25 min in the population of 10 larvae, 3 min in the population of 25 larvae and 8 min in the population of 45 larvae, being statistically different. to *Carassius auratus* and *Poecilia reticulata* in populations of 25 larvae. In the comparison between the three species of fish with 10 and 45 larvae, there were no statistically significant differences at 30 min, however, the most voracious species were *Betta splendens* and *Poecilia reticulata*. With the results obtained, it is concluded that the species of *Betta splendens*, *Poecilia reticulata* and *Carassius auratus* can be used for the biological control of the larvae of *Aedes aegypti* and *A. albopictus*, which are vectors of viruses of diseases of medical importance.

Keywords: *Biological control, mosquitoes, vector, ornamental fish, ictic*

Artículo recibido 06 marzo 2024

Aceptado para publicación: 09 abril 2024



INTRODUCCIÓN

La reducción de las poblaciones de mosquitos, vectores de diversos virus de importancia médica en todo el mundo (Rathnayaka et al., 2021), son el esfuerzo prioritario que las autoridades de gobierno realizan para controlar año con año en los diferentes países.

Actualmente el método de control biológico de mosquitos se presenta como una alternativa al uso de plaguicidas, una de las alternativas es mediante el uso de diversas especies de peces larvívoros (Tyagnes-Hanindia et al., 2023), como uno de los métodos más económicos de manejo de vectores, con una supresión prolongada de la población de mosquitos (Das et al., 2018), especies como *Betta splendens* (Paiva et al., 2014), *Poecilia reticulata* (Koldenkova et al., 1988), se promueven como una nueva estrategia para el control eficaz de estos insectos vector de enfermedades virales (Barrera, 1992). Esta es una alternativa rentable y sustentable para el control vectorial ante la epidemia que se vive (Fernández-Calienes et al., 2003; Harrington et al., 2020).

El género *Aedes* (Meigen 1818), tiene una amplia distribución mundial, abarcando regiones tropicales, subtropicales y templadas (Álvarez et al., 2014), es un eficaz transmisor de varias enfermedades víricas de importancia médica, que se presentan cada año tales como el dengue, el zika, la fiebre amarilla, chikungunya y la fiebre del Nilo Occidental, las cuales tienen una creciente importancia a nivel mundial por el potencial epidémico (Rey y Lounibos, 2015; Kantor, 2016; González et al., 2017; Sinti-Hesse et al., 2019; Kularatne & Dalugama, 2022).

A nivel mundial el género de mosquito *Aedes* ha logrado colonizar con notable éxito el ambiente urbano, convirtiéndose en una prioridad su control, en los principales asentamientos humanos y sus alrededores (Diéguez et al., 2005), su importancia aumentó en las Américas en los últimos 20 años (Kantor, 2016), siendo las principales especies *Aedes aegypti* y *A. albopictus* (Rathnayaka et al., 2021; Wong et al., 2022). Algunos de los factores que impactan en la dinámica de transmisión y el papel vectorial es el cambio climático, la infraestructura, el comportamiento social, las condiciones higiénico-sanitarias entre otras (Pérez, 2018; Gómez, 2018).

El objetivo del presente proyecto fue evaluar la eficacia larvívora de *Betta splendens*, *Poecilia reticulata* y *Carassius auratus* sobre especies de *Aedes aegypti* y *A. albopictus* como un método de control biológico de las larvas de mosquitos.



METODOLOGÍA

Lugar de la Realización del Bioensayo

Este trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de investigación de manejo y producción integral de sistemas producto de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Obtención de Larvas de *Aedes* spp

Las larvas de mosquitos del género *Aedes* sp., se colectaron en el distrito 2 en Chilpancingo de los Bravo de los cuatro estadios larvarios fase larval L I, L II, L III y L IV, para la identificación de las fases larvales y la identificación de las especies se utilizó la metodología de Rossi y Almirón (2004).

Unidades Experimentales

Se diseñaron tres unidades experimentales (UE), las cuales consistieron en recipientes de material transparentes con capacidad de 2 L, utilizando agua sin cloro.

Evaluación de la Capacidad Larvívora

La evaluación de la capacidad larvívora, se realizó de acuerdo con la metodología de Galavíz-Parada et al. (2016), se utilizaron larvales de mosquitos de los estadios antes mencionadas de las especies de *Aedes aegypti* y *A. albopictus*. En las Unidades Experimentales (UE) se evaluaron densidades larvarias de: 10, 25 y 45 larvas por cuatro repeticiones. Se evaluó la capacidad larvívora a los 30 min.

Obtención de Organismos Predadores (OP)

Los ejemplares de *Poecilia reticulata*, *Betta splendens* y *Carassius auratus*, fueron comprados en un acuario en la ciudad de Chilpancingo, Guerrero.

Diseño del Experimento

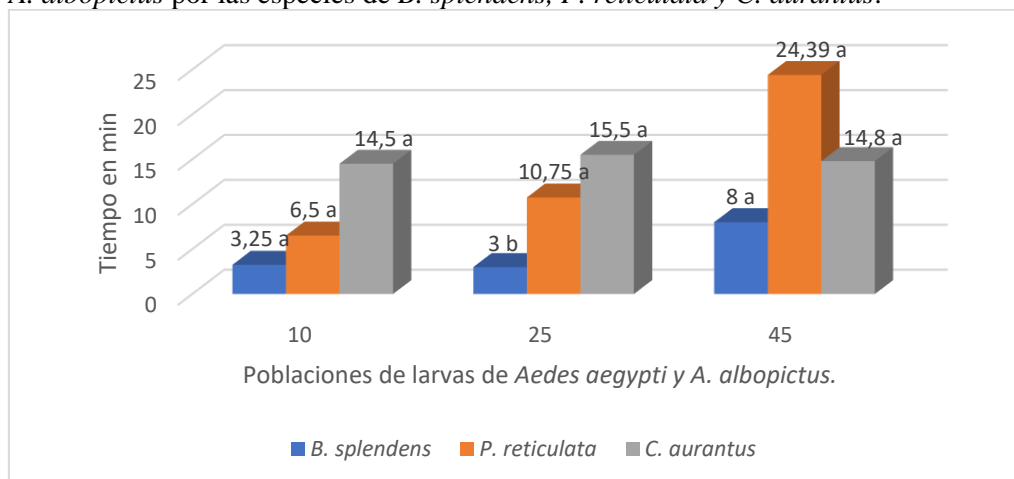
Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con tres densidades diferentes y cuatro repeticiones. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de medias con la prueba Tukey ($\alpha \leq 0.05$) mediante SAS V. 9.1.



RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se observó que *B. splendens*, *P. reticulata* y *C. aurantus* son altamente efectivos en el consumo de larvas de *Aedes aegypti* y *A. albopictus*, quedo demostrada la alta voracidad de *B. splendens* al consumir las poblaciones de 10 larvas en las 4 repeticiones en una media de tiempo de 3.25 min; en las poblaciones de 25 larvas, estas fueron devoradas en una media de tiempo de 3 min y en la población de 45 larvas la media de tiempo fue de 8 min (Fig. 1), siendo estadísticamente diferente a *P. reticulata* y *C. aurantus* en las poblaciones de 25 larvas, resultados similares observaron Cavalcanti et al. (2007) ellos mencionan que las hembras de *Betta splendens* y *Poecilia sphenops* fueron los depredadores más efectivos de las larvas de *Aedes aegypti*. También de Oliveira et al. (2010) aseveran que *B. splendens* puede ser adecuado para el control biológico de larvas de *A. aegypti* en grandes contenedores de agua domésticos, pero que se deben tomar medidas apropiadas para asegurar una supervivencia. La segunda especie más voraz fue *P. reticulata* en el consumo de las poblaciones de 10, 25 larvas, Fernando et al. (2018) mencionan que *P. reticulata* mostró un consumo de alimentos de acuerdo con su disponibilidad en el medio ambiente, lo cual no sucedió con las poblaciones de 45 larvas donde *C. aurantus* fue la mejor (Fig. 1). La especie que consumió el total de las poblaciones de 10, 25 y 45 larvas de mosquito en un mayor periodo de tiempo fue *C. aurantus*. Las tres especies fueron 100% efectivas y voraces en el consumo de las poblaciones de 10, 25 y 45 larvas de *Aedes aegypti* y *A. albopictus* antes de los 30 min.

Figura 1. Promedio de tiempo de consumo de las tres poblaciones de larvas de *Aedes aegypti* y *A. albopictus* por las especies de *B. splendens*, *P. reticulata* y *C. aurantus*.



Letras distintas dentro de un mismo grupo de población difiere por Tukey ($\alpha=0.05$)

Los peces del género *Poecilia reticulata* fueron utilizados en etapa juvenil en esta investigación, comparándolo con el trabajo realizado por Galavíz-Parada *et al.* (2016) donde evaluaron la capacidad larvívora de adultos de la especie de *Poecilia butleri*, encontrando que, aunque sean peces de diferente especie y en diferente etapa, ambos tienen la capacidad larvívora similar.

Respecto al pez *Betta splendens*, fue la especie que mejores resultados presentó, respecto al tiempo en el que se alimentó de las larvas, ya que fue menor en comparación con las otras dos especies evaluadas en este bioensayo. Chandra *et al.* (2008) mencionan que la utilización de peces larvívoros para el control de las larvas de diversas especies de mosquitos, parece prometedor en las zonas urbanas, dado que la densidad de seres humanos que necesitan protección es mayor que el número limitado de lugares de reproducción.

CONCLUSIONES

Las tres especies de peces *Betta splendens*, *Carassius auratus* y *Poecilia reticulata* alcanzaron eficacias del 100 % en el consumo de larvas de mosquitos de *Aedes aegypti* y *A. albopictus* antes de los 30 min sobresaliendo como la especie más voraz a *Betta splendens*.

Se recomienda el uso de las tres especies de peces evaluadas: *Betta splendens*, *Carassius auratus* y *Poecilia reticulata* para ser utilizados en los almacenes de agua de los hogares tales como pilas, piletas, tambos, tanques, represas de agua, como método de control biológico de las poblaciones de mosquitos que transmiten diversas enfermedades víricas que afectan a la sociedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez LC, Ponce G, Oviedo M, López B, Flores AE. (2014). Susceptibility status of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to temephos in Venezuela. *Pest Manag Sci.* 70(8):1262-6. doi: 10.1002/ps.3688. Epub 2013 Dec 12. PMID: 24282132. Recuperado el 26 de marzo de 2024, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.3688>

ANE. National Spectrum Agency. Resolution Number 442 of 22 August 2013. Available online: https://normograma.mintic.gov.co/mintic/docs/resolucion_mintic_0963_2019.htm

Barrera R. (1992). Ciencia y Tecnología en el control de insectos de importancia médica. *Bol Entomol Venez.* 97- 106.



- Cavalcanti LP, Pontes RJ, Regazzi AC, de Paula Júnior FJ, Frutuoso RL, Sousa EP, Dantas Filho FF, Lima JW. (2007). Competência de peixes como predadores de larvas de *Aedes aegypti*, em condições de laboratório. Rev Saude Publica. 41(4):638-44. Portuguese. doi: 10.1590/s0034-89102006005000041. PMID: 17589763. Recuperado el 26 de marzo de 2024, de <https://www.scielo.br/j/rsp/a/4F6gnNb7XB764WDnCbVpgOK/?lang=en>
- Chandra G, Bhattacharjee I, Chatterjee SN, Ghosh A. (2008). Mosquito control by larvivorous fish. Indian J Med Res. 127(1):13-27. PMID: 18316849. Recuperado el 26 de marzo de 2024, de https://journals.lww.com/ijmr/abstract/2008/27010/mosquito_control_by_larvivorous_fish.5.aspx
- Das MK, Rao MRK, Kulsreshtha AK. (2018). Native larvivorous fish diversity as a biological control agent against mosquito larvae in an endemic malarious region of Ranchi district in Jharkhand, India. J Vector Borne Dis. 55(1):34-41. doi: 10.4103/0972-9062.234624. PMID: 29916446.
- de Oliveira Lima JW, de Góes Cavalcanti LP, Pontes RJ, Heukelbach J. (2010). Survival of *Betta splendens* fish (Regan, 1910) in domestic water containers and its effectiveness in controlling *Aedes aegypti* larvae (Linnaeus, 1762) in Northeast Brazil. Trop Med Int Health. 15(12):1525-32. doi: 10.1111/j.1365-3156.2010.02658.x. Epub 2010 Nov 5. PMID: 21054694.
- Diéguez F. L., Mentor S, V., Peña, R. J., y Rivero C, M. (2005). Presencia de la familia culicidae en el enclave turístico de Santa Lucía, Camagüey y su relación con enfermedades de importancia médico-veterinaria. Revista Archivo Medico de Camagüey. 9(2), 1-11. Recuperado en 05 de noviembre de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552005000200001&lng=es&tlng=es.
- Fernández-Calienes A., Hernández N., y Fraga J. (2003). Amplificación al azar del ADN de 5 poblaciones cubanas de peces larvívoros del género *Rivulus*. Rev Cubana Med Trop.



55(3):203-207. Recuperado el 28 de octubre de 2023, de <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v55n3/mtr12303.pdf>

Fernando GKAW, Jayakody S, Wijenayake WMHK, Galappaththy GNL, Yatawara M, Harishchandra J. (2018). A comparison of the larvivorous habits of exotic *Poecilia reticulata* and native *Aplocheilus parvus*. BMC Ecol. 14;18(1):25. doi: 10.1186/s12898-018-0180-1. PMID: 30107827; PMCID: PMC6092854. Recuperado en 25 de marzo 2023, de <https://bmcecol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12898-018-0180-1>

Galavíz-Parada, J.D, Vega-Villasante F, Cupul-Magaña, F, Navarrete-Heredia J. L, Ruiz G. L., Vargas-Ceballos, M.A, y Chong-Carrillo O. (2016). Control químico y biológico de larvas de *Aedes aegypti* en la costa norte de Jalisco, México. Revista Cubana de Medicina Tropical, 68(2),111-124.

Gómez, G. G. (2018). *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) y su importancia en salud humana. Revista Cubana de Medicina Tropical, 70 (1).

González E. C., Delcid M. A., Tovar M. A. y Mérida, J. (2017). Control biológico de *A. aegypti* utilizando peces del género *Poecilia* en recipientes de agua doméstica. Revista Portal de la Ciencia,12, 23-35.

Harrington S., Colona C., y Healy K. (2020). Chapter 10: Biological control of Mosquitoes. In Mosquito Control Training Manual (4ta ed.). Recuperado el 28 de octubre de 2023, de <https://www.lmca.us/PDF/training%20manual/3696%20Mosquito%20Control%20Training%20Manual%202%20final%20proof%20090920.pdf>

Kantor, N. I. (2016). Dengue, zika y chikungunya. Medicina (Buenos Aires),76,93-97. Recuperado en 05 de noviembre de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802016000200006&lng=es&tlng=es.

Koldenkova L, García Avila I, Garcés Fonseca J, González Broche R. (1988). Capacidad depredadora del pez larvívoro *Poecilia reticulata* (Peters, 1895) (Cyprinodontiformes: Poecillidae) en un criadero natural del mosquito *Culex quinquefasciatus* Say, 1823. Rev Cubana Med Trop. 40(1):21-6. Spanish. PMID: 3045912.



- Kularatne SA, Dalugama C. (2022). Dengue infection: Global importance, immunopathology and management. Clin Med (Lond). 22(1):9-13. doi: 10.7861/clinmed.2021-0791. PMID: 35078789; PMCID: PMC8813012.
- Morales Fretes , C. D. (2023). Estrategias motivacionales en el desempeño laboral de los empleados en empresas de la Ciudad de Pilar 2023. Sapiencia Revista Científica Y Académica , 3(2), 62-74. <https://doi.org/10.61598/s.r.c.a.v3i2.51>
- Naranjo , F. (2023). Diplomado sobre la transformación digital empresarial: reduciendo las brechas digitales. Emergentes - Revista Científica, 3(2), 56-69. <https://doi.org/10.60112/erc.v3i2.33>
- Paiva CN, Lima JW, Camelo SS, Lima Cde F, Cavalcanti LP. (2014). Survival of larvivorous fish used for biological control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) combined with different larvicides. Trop Med Int Health. 19(9):1082-6. doi: 10.1111/tmi.12341. Epub 2014 Jun 3. PMID: 24890120.
- Pérez B. M. (2018). Papel de los mosquitos del género *Aedes* en la transmisión de patógenos. Revista Archivo Médico de Camagüey, 22(5), 634-639. Recuperado el 28 de octubre de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552018000500634&lng=es&tlng=es.
- Rathnayaka RMGS, Jayatunga DPW, Ganehiarachchi GASM. (2021). The effect of chemical exudates of three larvivorous fish species on oviposition preference of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Med Vet Entomol. 35(3):495-500. doi: 10.1111/mve.12513. Epub 2021 Mar 21. PMID: 33748990. Recuperado en 25 de marzo de 2023, de <https://resjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mve.12513>
- Rey, J.R., y Lounibos, P. (2015). Ecología de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en América y transmisión enfermedades. Biomédica, 35 (2), 177-85. DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i2.2514>. Recuperado en 05 de octubre de 2023, de <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2514>
- Rossi, G. C., y Almirón, W. R. (2004). Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontradas en criaderos artificiales en la Argentina,



Buenos Aires, República Argentina: Fundación mundo sano. Recuperado en 05 de octubre de 2023, de

<https://www.mundosano.org/download/bibliografia/Monografia%205.pdf>

Ríos Castro , N. (2022). La Evaluación y el Manejo del Dolor en Pacientes con Enfermedad Terminal. Revista Científica De Salud Y Desarrollo Humano, 3(2), 80-95.

<https://doi.org/10.61368/r.s.d.h.v3i2.37>

Sinti-Hesse, C., Díaz-Soria, F., Casanova-Rojas, W., Carey-Ángeles, C., Tello-Espinoza, R., Espinoza, J., & Zevallos, K. (2019). Embarcaciones fluviales como medio de dispersión de *Aedes aegypti* hacia zonas fronterizas de la amazonia peruana. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 36(3), 392-399.

<https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2019.363.4558>

Serrano Ruiz, R. E. (2023). Prevalencia de infecciones TORCH en mujeres embarazadas del cantón Olmedo: Un llamado a la prevención y control. Estudios Y Perspectivas Revista Científica Y Académica , 3(1), 174-194. <https://doi.org/10.61384/r.c.a.v3i1.29>

Tyagnes-Hanindia D, Sumanto D, Sayono S. (2023). Predatory efficiency of larvivorous fish against mosquito larvae in different water temperature levels: Implication in control measure of dengue vector. J Arthropod Borne Dis. 17(2):120-127. doi: 10.18502/jad.v17i2.13617. PMID: 37822759; PMCID: PMC10562203.

Wong JM, Adams LE, Durbin AP, Muñoz-Jordán JL, Poehling KA, Sánchez-González LM, Volkman HR, Paz-Bailey G. (2022). Dengue: A Growing Problem With New Interventions. Pediatrics.149(6):e2021055522. doi: 10.1542/peds.2021-055522. PMID: 35543085.

