

Revisión documental del uso potencial de entomovirus como control biológico en los mosquitos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* y sus implicaciones en el control biológico de insectos vectores



Presentado por:

María Alejandra Pinzón Gámez

Asesor interno:

Mauricio Humberto Rodríguez Panduro

**Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá, Mayo del 2020**

Agradecimientos

Primero gracias Dios, el cual me ha acompañado y me ha permitido llegar hasta este punto.

Agradezco a mi familia que siempre ha estado conmigo apoyándome en mis decisiones.

Agradezco a mis amigos de toda la vida Sebastián, Sofía, Diego y Herreño por acompañarme siempre y sacarme una sonrisa en todo momento.

Agradezco a Daniela Moreno por enseñarme a ser fuerte, a ver lo positivo en todo momento sin importar las circunstancias, a siempre dar lo mejor de mí y a ser mejor persona.

Gracias por estar conmigo. No habría logrado esto sin ustedes

Tabla de contenido

1. Resumen	9
2. Introducción	9
3. Pregunta problema	10
4. Objetivos	10
4.1 Objetivo general	10
4.2 Objetivos específicos	10
6. Antecedentes	12
7. Marco teórico	15
7.1 Ciclo de vida general de mosquitos	15
7.2 Herramientas de control actual	16
7.2.1 Control químico	16
7.2.2 Control biológico	17
7.2.2.2 Bacterias	17
7.2.2.3 Hongos	18
7.2.2.4 Entomovirus	19
7.3 Mecanismos de replicación viral y efecto sobre el insecto	26
8. Diseño metodológico	28
8.1 Tipo y nivel o alcance de la investigación	28
8.2 Población	28
8.3 Muestra	29
9. Resultados	29
9.1 <i>CuniNPV</i>	29
9.2 Iridovirus	31
9.3. <i>AeDNV</i>	32
9.4 <i>AaIDNV</i>	34
9.5 <i>AgDNV</i>	36
10. Discusión	38
11. Conclusiones	41
12. Bibliografía	43

ÍNDICE DE IMAGENES

Figura 1. Ciclo de vida general del mosquito.....	15
Figura 2. Estructura de Iridovirus	21
Figura 3. Microfotografías de Baculovirus	22
Figura 4. Micrografía electrónica de barrido de esferoides de un Entomopoxvirus.....	23
Figura 5. Microfotografía electrónica de cuerpos de oclusión de Culex nigripalpus nucleopolihedrovirus	25
Figura 6. Microfotografía crioelectrónica de Birnavirus. Vancini R. 2012.....	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de los experimentos de bioensayos que muestran la susceptibilidad de 14 especies de mosquitos expuestos a 1.6×10^7 OBs / ml de virus CuniNPV en 10 mM $MgCl_2$. Andreadis TG. 2003.....	30
Tabla 2. Efecto de los alimentos larvales sobre la susceptibilidad del segundo estadio Cx. pipiens y Cx. quinquefasciatus al virus CuniNPV en $MgCl_2$ 10 mM a una tasa de dosificación estimada de 1.6×10^7 OBs / ml. Andreadis TG. 2003	30
Tabla 3. Resultados de la exposición de larvas de primer y segundo estadio larvario de Aedes taeniorhynchus a MIV en diferentes periodos de tiempo. Woodard DB. 1968	31
Tabla 4. Resultados de infección de larvas criadas de Aedes taeniorhynchus a varias temperaturas después de ser expuestas por 24 horas a iridovirus. Woodard DB. 1968.....	32
Tabla 5. Porcentaje de infección en adultos que fueron expuestos a AeDNV desde primer estadio larvario. Jeremy P. 2004.....	33
Tabla 6. Efectos de la duración del contacto con AeDNV en la infección de mosquitos Aedes aegypti. Barreau C. 1996	35
Tabla 7. Tabla comparativa de los efectos de los entomovirus en mosquitos Aedes, Anopheles y Culex	37

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Porcentaje de pupación de <i>Aedes aegypti</i> al exponer las larvas a diferentes concentraciones virales. Jeremy P. 2004.....	32
Gráfica 2. Porcentaje de huevos infectados de <i>Aedes aegypti</i> con AeDNV analizados en el transcurso de 20 semanas. Suchman E. 2009.....	33
Gráfica 3. Comparación entre la producción de huevos de <i>Aedes aegypti</i> entre mosquitos infectados de los no infectados con AeDNV frente a un modelo matemático. Erica L. Suchman. 2009.....	34
Gráfica 4. Efectos de la temperatura en la mortalidad de <i>Aedes aegypti</i> a diferentes temperaturas. Barreau C. 1996.....	35
Gráfica 5. Mortalidad de <i>Aedes aegypti</i> después de la infección larval de primer estadio. Barreau C. 1996.....	36
Gráfica 6. Comparación de supervivencia de mosquitos <i>Anopheles</i> infectados con AgDNV, frente a mosquitos no infectados. Ren X. 2018.....	37

1. Resumen

Actualmente los mosquitos vectores como *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* son un problema de salud pública debido a las enfermedades que transmiten como Zika, Dengue, Chikungunya, Malaria, Filariasis y fiebre amarilla, entre otras. Una alternativa de control contra estos mosquitos son los entomovirus que son virus que infectan insectos. Se encontraron varios entomovirus (*CuniNPV*, *AgDNV*, *AeDNV*, *AaIDNV*, Birnavirus, *Aedes aegypti entomopoxvirus (AEEV)*, e Iridovirus) que infectan a los mosquitos en fase larvaria en el agua o que se infectan de manera vertical, comprometiendo así su desarrollo en las fases larvaria, de pupa y adulta. Se obtienen porcentajes de infección y mortalidad larvarias y en fase de pupa que varían entre virus. En el caso de los Iridovirus se obtienen porcentajes de infección y muerte de pupas de un 35%, un 98% de mortalidad en pupas y 100% de muertes en fase larvaria con el virus *AaIDNV*, 80 a 84% de infección en larvas con el virus *CuniNVP* y 96% de mortalidad en adultos cuando estos fueron expuestos desde la fase de larva para el virus *AeDNV*. Se necesitan factores controlados como temperatura del agua donde están las larvas y tiempo de exposición de la larva al virus para lograr estos resultados, además de que virus como *CuniNVP* para que sean infectivos necesitan la presencia de cationes de Mg^{2+} .

Palabras claves: *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, entomovirus, cuerpos de oclusión, arbovirus, Malaria, filariasis, Zika, Chikungunya, Fiebre amarilla.

2. Introducción

Actualmente los mosquitos vectores de enfermedades de interés en salud pública, principalmente de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*, son un problema de salud debido a las enfermedades que transmiten como pueden ser virus Zika (ZIKV), Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV), o parásitos como Malaria, Leishmaniasis y filarias siendo estas enfermedades el 17% de las enfermedades infecciosas al año ¹. Se han implementado varias herramientas de control contra estos mosquitos como el control químico y biológico. A pesar de que el control químico es efectivo contra las fases larvaria y adulta, se han reportado resistencias que han hecho que estos químicos pierden efectividad ², además del daño que causan a largo plazo a las personas que se exponen a estos químicos ya sea por su trabajo o de forma indirecta por consumir agua y vegetales contaminados. Los síntomas de intoxicación van desde problemas respiratorios y brotes en la piel, hasta la muerte ³.

Dentro de las alternativas de control biológico se encuentran los entomovirus, los cuales son virus específicos de insectos. Aunque hay más virus con capacidad infectiva contra estos mosquitos, los virus más usados han sido los Baculovirus y los Iridovirus por su capacidad infectiva contra mosquitos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*. El

promedio de infección varía entre géneros de mosquitos porque se deben tener en cuenta los factores necesarios para que el virus sea infectivo en sus respectivos hospederos, como temperatura del ambiente donde son esparcidos, que generalmente es el agua donde la hembra hace la oviposición, concentración viral y la presencia de cationes, ya que si no se tienen en cuenta estos requerimientos, el virus podría disminuir drásticamente sus promedios de infección ^{4, 5}. El propósito del presente trabajo es reunir información que permita saber si los entomovirus tienen potencial para ser usados como herramienta de control contra mosquitos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*, en lugar de los insecticidas químicos.

Se hizo una recopilación de textos científicos que permitieran resolver este punto. Primero se inició una búsqueda de antecedentes para buscar los trabajos que se han realizado con entomovirus desde su descubrimiento hasta la actualidad. Luego se describen los entomovirus que han sido aislados de los vectores de interés, sus porcentajes de infección y sus efectos citopáticos en el mosquito.

3. Pregunta problema

¿Podrían los entomovirus ser una alternativa para combatir las poblaciones de mosquitos vectores de interés en salud pública?

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Compilar información acerca de la aplicación actual del uso de los entomovirus como herramienta de control biológico de mosquitos de interés en salud pública.

4.2 Objetivos específicos

- Llevar a cabo una investigación documental acerca del uso de entomovirus como posible alternativa de control biológico de mosquitos vectores
- Describir las ventajas y desventajas del uso de entomovirus como herramienta de control biológico de mosquitos vectores
- Actualizar la información acerca de los entomovirus y el modo de acción en el cuerpo de los hospederos que infecta.

5. Justificación

El control de mosquitos vectores de enfermedades de importancia en salud pública es algo prioritario en varios países con climas tropicales en donde enfermedades como Dengue, Chikungunya, Zika, malaria, entre otros son un problema de salud pública que afectan a parte de la población que vive en zonas rurales lejos de un servicio de salud eficaz.

Según la organización mundial de la salud (OMS) las enfermedades transmitidas por vectores representan el 17% del total de enfermedades infecciosas en el mundo. En Colombia se registran varios casos de infecciones transmitidas por vectores, predominando la infección por malaria y Dengue. Las principales causas de que las poblaciones de vectores se expandan se deben a la expansión de los medios de transporte a nivel nacional e internacional con los tratados de libre comercio entre varios países, lo cual permite que muchos vectores en varias de sus fases de vida lleguen a otros territorios en donde no se encontraban y finalmente proliferan allí. Otra razón que también tiene que ver con la expansión del transporte son los viajes. Muchas personas no son cuidadosas con el uso de repelentes para mosquitos y otros insectos, o no son cuidadosos con sus costumbres para reducir las interacciones con otros tipos de insectos vectores. Muchas veces el resultado de estos descuidos, muy comunes entre muchos viajeros, resulta en una infección por alguna enfermedad transmitida por algún vector endémico. Dependiendo de la enfermedad, del tiempo de incubación, sintomatología y el sistema inmune de cada persona, la expresión de la enfermedad puede ser leve o severa.

Actualmente el uso de medidas de protección personal como el uso de repelentes, ropa de manga larga y mosquiteros impregnados o sin impregnar con insecticidas al dormir no son suficientes para evitar una posible infección. También se ha tratado de controlar los vectores a través de fumigaciones en campos con sustancias químicas que son nocivas no solo para los mosquitos, sino que también en muchas ocasiones pueden causar afectaciones en animales y humanos, por lo cual su uso tiene muchas contraindicaciones. Sin embargo estas sustancias han creado resistencia en los mosquitos que se exponen a estos químicos siendo más difícil combatirlos con esta herramienta.

Se ha investigado el uso de entomovirus para el control de mosquitos vectores. Una de las ventajas de este método es la especificidad de los virus por sus hospedadores infectando una población específica y en una fase específica, ya sea en fase larvaria o adulta. Esto disminuye claramente los riesgos de contaminación o intoxicación al medio ambiente y a animales y seres humanos, ya que se está aplicando un control biológico mucho más específico. En Colombia se ha implementado el uso de otros microorganismos para el control biológico de vectores, pero no se ha estudiado la idea de usar entomovirus para este propósito.

El propósito de este trabajo es reunir información de varias fuentes bibliográficas de internet, como textos de revistas científicas de diferentes lugares en los cuales se haya trabajado con entomovirus, con el fin de realizar una actualización acerca del uso de estos como control biológico de mosquitos vectores de enfermedades de salud pública. Durante el desarrollo del trabajo se tendrán en cuenta datos y resultados de investigaciones previas que permitan conocer qué tan efectiva podría ser esta herramienta de control biológico contra estos vectores y sus posibles ventajas y desventajas.

6. Antecedentes

Los mosquitos vectores de enfermedades han sido considerados como un problema en salud pública, ya que son portadores de muchas enfermedades que pueden poner en peligro la vida de las personas a las que pican. Según la organización mundial de la salud (OMS) las enfermedades transmitidas por vectores causan al año un promedio de 700.000 muertes en todo el mundo, convirtiendo estas enfermedades en el 17% del total de enfermedades infecciosas en el mundo ¹. Las enfermedades pueden ser víricas como virus del Zika (ZIKV), virus del Chikungunya (CHIKV), virus del Dengue (DENV), o enfermedades parasitarias como Leishmaniasis, filariasis o Malaria. Las personas más afectadas por estas enfermedades son principalmente personas que viven en áreas rurales lejos de una entidad prestadora de servicios de salud, en donde las condiciones son apropiadas para la vida y proliferación de insectos vectores ⁶. En Colombia se registraron más de cinco millones de casos de infecciones por enfermedades transmitidas por mosquitos en el periodo comprendido entre 1990 y 2016 predominando los casos causados por Malaria, Chagas y Dengue ⁷.

El método más usado para el control ha sido el uso de plaguicidas con clorofluorocarbonos (CFC) y los dicloro difenil tricloroetano (DDT), entre otros. Sin embargo, el uso de estos químicos a lo largo del tiempo ha sido más difícil debido a que estos vectores han desarrollado resistencia a las fumigaciones, lo cual se define como una disminución en la mortalidad de los mosquitos cuando estos son expuestos a una sustancia insecticida ². Aparte de este problema de resistencia, también está el hecho de que estas sustancias químicas pueden afectar animales y seres humanos, causando intoxicaciones y envenenamientos en alimentos y aguas ^{3, 8}.

En el periodo entre 1998 y 2011 se registraron más de 4800 muertes humanas causadas por la intoxicación por plaguicidas en zonas rurales, además de presentarse problemas de abortos espontáneos en las mujeres y nacimientos de niños con malformaciones ^{9, 10}. Económicamente la venta de los plaguicidas en los

últimos años ha ido en aumento y es un mercado muy amplio y su demanda es grande debido a la variedad de insectos vectores y plagas que están en el campo ¹¹. Colombia inició la producción en 1962 de sus propias sustancias plaguicidas, y para el 2015 el país logró una producción de 50,9 millones de litros y 24,5 millones de kilos de plaguicidas para varias áreas como control de plagas para cultivos ¹².

El término entomovirus se refiere a un virus que ataca insectos en fase de pupa, larva o adulto, y que le causa la muerte en un corto periodo de tiempo. Se ha visto que la tasa de resistencia por parte de los insectos a los virus es baja, y que hay virus que afectan plagas que son capaces de ser transmitidos de forma vertical u horizontal dependiendo del hospedero y las características del virus ^{13, 14}. La primera vez que se detectó un entomovirus fue en 1965 cuando se aisló un Iridovirus de un mosquito *Aedes* ¹⁵.

En 1968 Woodard y Chapman comprueban la transmisión transovárica vertical de los iridovirus por primera vez, detectando huevos y mosquitos infectados ¹⁶. Anderson en 1970 demuestra que los iridovirus causan muertes en la fase larvaria con más frecuencia que en la fase adulta, por lo que se sugiere que el virus está en el agua donde las hembras causan la oviposición ¹⁷.

En 1972 la OMS realizó una reunión en Ginebra para hablar del asunto de la resistencia de los mosquitos a los plaguicidas y el posible uso en el futuro de entomovirus para tratar de controlar estos vectores. Durante esta convención se discutieron asuntos como vectores de mayor importancia y modo de esparcimiento y acción del virus a usar ¹⁸.

En 1988 Derksen y Granados se dan cuenta que la infección por Baculovirus no se produce fácilmente y que esta se ve favorecida por daños en la membrana peritrófica del intestino del mosquito ¹⁹.

En 1994 Undeen y Fukuda se dan cuenta de que los iridovirus no infectan fácilmente al mosquito ya que este necesita un daño en la membrana peritrófica para causar infección ²⁰.

Entre el 2003 y el 2004 se hacen experimentos con *CuniNVP* y Dengovirus para saber si estos virus pueden infectar otros hospederos como *Aedes* y *Culex* respectivamente ^{21, 22}

Actualmente se están haciendo pruebas con varios géneros de entomovirus que podrían servir para control biológico en un futuro cercano ²³, sin embargo según algunas investigaciones, la eficacia de la infección por virus depende mucho del tropismo que el virus tenga por el mosquito, siendo variables los resultados dependiendo del tipo de virus y de mosquito ²⁴.

En Colombia se trabaja en la investigación de microorganismos de control biológico sobre plagas de cultivos. A pesar de los resultados obtenidos, aún no se están usando estos microorganismos como herramientas de control biológico contra mosquitos vectores, sino que estas herramientas siguen en fase de experimentación^{25, 26}.

Los mosquitos de mayor importancia con respecto a su capacidad vectorial de enfermedades virales y parasitarias en Colombia son *Anopheles* por la transmisión de Malaria en varios lugares rurales en Colombia^{27, 28}, mosquitos del género *Aedes*, sobre todo las especies *aegypti* y *albopictus* que transmiten principalmente arbovirus como DENV, CHIKV y ZIKV entre otros²⁹, mosquitos del género *Culex* que es el mosquito que está presente en Bogotá y cuyo pico de presencia se correlaciona con las temporadas de lluvias de la ciudad, causando molestias en los habitantes ya que su horario de picaduras es nocturno³⁰ y los *Flebótomos*, transmisores de la Leishmaniasis en varias regiones de Colombia, y que además según investigaciones recientes, su población se ha extendido por varias partes del país poniendo en riesgo a varias poblaciones^{31, 32, 33}. En Colombia se registraron más de cinco millones de casos de infecciones por enfermedades transmitidas por mosquitos en el periodo comprendido entre 1990 y 2016, predominando los casos causados por Malaria y Dengue³⁴.

7. Marco teórico

7.1 Ciclo de vida general de mosquitos

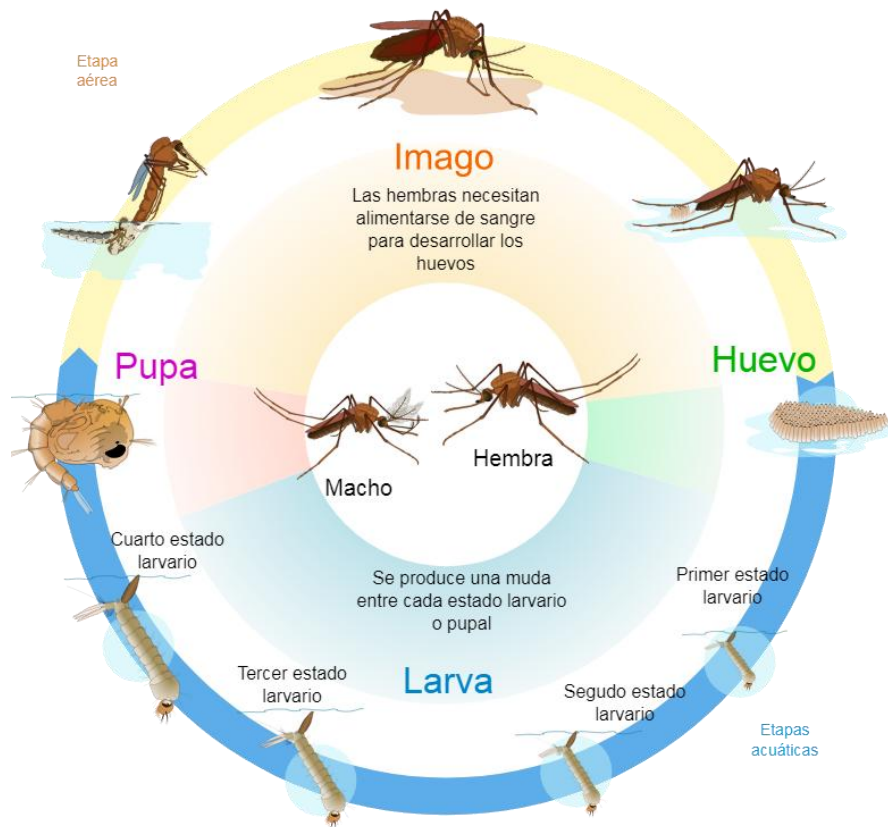


Figura 1. Ciclo de vida general del mosquito

Tomado de: wikipedia.org

El ciclo de vida de los mosquitos del género *Aedes*, *Culex* y *Anopheles* comienza con los huevos que ha puesto la hembra en las fuentes de agua. Las hembras pueden llegar a poner de 200 hasta 500 huevos, según el género. Los huevos se vuelven pegajosos y pueden llegar a agruparse. Las características de desarrollo pueden variar según el género del mosquito; la eclosión de los huevos del género *Aedes* puede durar hasta 8 meses sin agua³⁵. Los huevos tardan en eclosionar de dos a catorce días, según el género y las condiciones ambientales; cuanto mayor humedad y mejor las condiciones medioambientales, el tiempo para la eclosión del huevo en larva disminuye^{36, 37}.

Las larvas tienen diferentes estadios de evolución que pueden de tiempo una de la otra. En el caso de las larvas de *Aedes*, las fases larvarias tienen un tiempo de 48 horas entre sí ³⁸. La fase de larvaria dura entre cinco y diez días en promedio para las especies como *Aedes*, *Culex* y *Anopheles*. Hay factores que intervienen en el desarrollo de la fase larvaria y en donde las hembras depositan los huevos, como por ejemplo la calidad del agua y si es un lugar con sombra o soleado ³⁶.

La fase de pupa dura entre uno y dos días en el caso del género *Aedes* ³⁹, y entre dos y cinco días en el caso del género *Anopheles* ³⁸. En esta fase el mosquito permanece en el agua y no se alimenta ³⁹.

El tiempo estimado de vida de los mosquitos adultos varía según la especie y el sexo del mosquito. Los machos tienen una expectativa de vida más corta que la hembra, siendo la expectativa de vida de los machos de quince días aproximadamente, mientras que las hembras viven 4 semanas o más. Los machos viven de néctar, mientras que las hembras son hematófagas, y entre cada lapso de puesta de huevos, toman sangre ³⁹.

7.2 Herramientas de control actual

7.2.1 Control químico

El enfoque del trabajo con sustancias químicas, de tipo organofosforados y piretroides, organoclorados y carbamatos, es intervenir en alguna de las fases de desarrollo del mosquito. Es importante tener en cuenta que estos químicos tienen varios factores que se deben tener en cuenta al momento de usarlos como por ejemplo la dosis letal mínima para los mosquitos en fase adulta o larvaria, el ambiente en el que se usará, si puede afectar o no a otros seres vivos y el tiempo de degradación del químico. Se han utilizado varias herramientas y mezclas químicas cuyo resultado ha sido efectivo principalmente en contra de las larvas de mosquito, por lo cual se usan con más frecuencia estos químicos en el agua ⁴⁰.

Los insecticidas más usados en Colombia son, Deltametrina, Lambdacialotrina, Fenitrotion, Etofenprox, Temefos, Diflubenzuron, Pyriproxyfen (estos dos últimos inhibidores del crecimiento larvario), Malatión y Pirimifos-metil, los cuales se aplican en forma de nebulizaciones o se rocían en el aire en forma de diminutas perlas húmedas ⁴⁰.

Investigaciones recientes han probado la utilidad de varios compuestos químicos aislados en forma de aceites de ingredientes naturales como *Pterodon emarginatus*⁴¹, *Mentha piperita*⁴², *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus globulus* y *Eugenia caryophyllata*⁴³.

Estos compuestos larvicidas afectan el sistema nervioso del mosquito o limitan la capacidad de movimiento en el agua aumentando el riesgo de que este sea ingerido por algún depredador o limitando la capacidad de este que pueda buscar alimento. Todas estas herramientas han tenido éxito como larvicidas en cuerpos de agua, ya que como se usan en aceites, estas formas son mucho más resistentes a las condiciones del medio ambiente, son más seguras para el consumo de mamíferos, disminuye los daños colaterales para las personas que trabajan con estos compuestos y se mantienen en la superficie del agua donde se encuentran las larvas^{41, 42, 43}.

7.2.2 Control biológico

7.2.2.1 Larvas de peces

Los peces larvívoros se han usado como herramienta para el control de las larvas de mosquito en fuentes de agua permanentes. Se aprobó el uso de peces como *Gambusia affinis*. Este pez se ha demostrado que tiene una capacidad larvicida buena ya que fue aprobado por la OMS como especie oficial mundial para el control de larvas de mosquitos en cuerpos de agua permanentes⁴⁴. Sin embargo, el uso de *Gambusia affinis*, aunque es una especie resistente a las condiciones ambientales, también se evidenció que su comportamiento frente a otros peces era agresivo, llevando a especies endémicas de peces al borde de la extinción⁴⁵.

Otra opción que se evaluó con respecto al control de mosquitos fue el uso de ciertas especies de camarones, como el *Macrobrachium*, en cuerpos de agua, los cuales han demostrado ejercer un buen control biológico hacia larvas de mosquitos. Especies como *M. pantanalense*, *M. amazonicum*, *M. brasiliense* y *M. jelskii* han sido efectivos en el control de larvas de mosquitos *Aedes* y *Culex*⁴⁶.

En Colombia se trabajó con peces *Gambusia affinis* y *Poecilia reticulata*, pero su lento desarrollo evitaba que el trabajo larvicida fuera lento y poco rentable si se buscan resultados inmediatos, además sus características hacen que el agua de consumo humano se viera afectado con un sabor a pescado⁴⁰.

7.2.2.2 Bacterias

Bacillus thuringiensis y *Bacillus sphaerius* han demostrado ser bacterias con bastante utilidad para control biológico de mosquitos. En Colombia se han probado sus efectos en las fases larvianas de mosquitos del género *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*. El efecto letal que causan estas bacterias en las larvas, se produce por una Delta - toxina que forma poros en el epitelio intestinal, causando por la lisis celular la muerte larvaria entre las primeras 24 a 48 horas ^{47, 48}. Para usar este microorganismo, debe usarse en concentraciones que sean efectivas contra el mosquito, siendo en Colombia la forma más efectiva de comercialización la tableta, que viene dosificada a diferentes concentraciones ⁴⁷.

7.2.2.3 Hongos

La mayoría son de vida acuática y parásitos obligados y se han usado previamente como herramienta de control biológico, pero la dificultad para trabajar con ellos es porque se debe buscar la carga adecuada de hongos para causar la infección y muerte de los mosquitos. La forma infectiva debe soportar las condiciones del medio ambiente y seguir siendo efectiva contra el mosquito. Existen varios tipos de hongos entomopatógenos que se han usado con el tiempo y que van dirigidos a un mosquito diferente ⁴⁹.

Un hongo que se ha descubierto que es efectivo en el control larvario de mosquitos es el género *Pythium*, el cual ataca larvas de los mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*, entre otros géneros de mosquitos, Sin embargo la infección que el hongo causa a las larvas se debe a que este entra al insecto por algún tipo de daño mecánico en el cuerpo del mismo, por lo cual los índices de infección son bajos y no se recomienda su uso como biocontrolador ⁴⁹

Lagenidium giganteum o *culicidum* es un hongo que se aisló de mosquitos del género *Culex* y *Anopheles*. Su distribución es amplia y se le conoce bien por causar muertes en las cepas de mosquitos de laboratorio. En varios experimentos se ha descubierto que las larvas del género *Aedes*, *Culex* y *Ochlerotatus* mueren al tener contacto con las zoosporas (forma asexual) del hongo, presentándose mayores índices de mortalidad en larvas de 1 a 2 días. Sin embargo como uso de biocontrolador es poco lo que se puede usar ya que el cultivo del hongo es complicado, la forma asexual solo sobrevive 48 horas después de ser liberado de la larva infectada y además el hongo no sobrevive a las condiciones extremas ⁴⁹.

Crypticola es un hongo del que se ha hablado poco a lo largo del tiempo y se sabe que puede infectar a mosquitos de los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes* ⁴⁹. El hongo *Coelomomyces* es un hongo parásito obligado que infecta exclusivamente mosquitos de los géneros *Culex*, *Simulium* y Tábano ⁴⁹.

El género *Leptolegnia* se ha aislado del vector de malaria *Anopheles*. También es un efectivo controlador de las larvas de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* reportándose una mortalidad del 100% en las larvas expuestas a las 24 horas y se encontró una susceptibilidad similar en *Anopheles gambiae* a las 72 horas ⁵⁰.

Los hongos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* se ha demostrado que podrían ser buenas herramientas de control contra mosquitos *Aedes aegypti* y *Anopheles* debido a que pueden usarse en forma de espora rociada en el agua ⁵¹, o exponiendo machos a estos hongos para que al momento de reproducirse con las hembras, estas sean infectadas y mueran, disminuyendo así la población del mosquito ⁵². Los resultados de las investigaciones muestran que estos hongos causan una tasa de mortalidad alta ya sea en las hembras después de aparearse o como herramienta contra la pupación de mosquitos. Sin embargo hay que considerar el hecho de que el hongo necesita ser mezclado con sustancias químicas que le ayuden a sobrevivir en las condiciones ambientales y que los puntos donde se dispersan las esporas sean puntos críticos del ciclo de reproducción y crecimiento de las larvas ⁵².

7.2.2.4 Entomovirus

A) Entomovirus para insectos

Los entomovirus son un grupo de virus que atacan insectos como son polillas, grillos, escarabajos, triatominos y mosquitos, entre otros artrópodos. Muchos de estos virus se han usado previamente como control de plagas en cultivos, sin embargo, hay muchos que infectan en el medio ambiente en ciclos naturales. Muchos de estos virus cuando causan infección en el huésped crean cuerpos de oclusión (CO), los cuales son proteínas que en su interior albergan viriones que están listos para pasar a otro huésped y seguir adelante con su ciclo infectivo.

Durante la infección se producen en el cuerpo del insecto daños tisulares principalmente en el intestino, y cambios en el comportamiento. La infección se da por ingestión de los CO o por daños en la membrana externa durante la fase larvaria del insecto que permiten que el virus ingrese en el cuerpo, aunque algunos virus pueden pasarse de un insecto a otro por transmisión venérea o vertical. De las familias y géneros que se han encontrado que infectan insectos están:

Dicistroviridae: es una familia de pequeños virus no envueltos de 30 nm de diámetro con genomas de ARN monocatenario de sentido positivo de aproximadamente 8 - 10 kilobases. Pertenecen al grupo IV de la clasificación Baltimore. Son virus icosaédricos que en su superficie expresan las proteínas VP1,

VP2, VP3 y VP4, la cual tiene contacto con el genoma. El genoma de ARN codifica las proteínas no estructurales que son la ARN helicasa, cisteína proteasa y ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRP). Todos los miembros infectan a los huéspedes artrópodos. La replicación viral ocurre únicamente en el citoplasma celular. La mayoría de los virus de la familia *Dicistroviridae* exhiben tropismo por las células epiteliales del intestino y posteriormente arrojan partículas de virus a la luz intestinal donde el virus se acumula en las heces las cuales son una fuente importante de contaminación viral.

En abejas melíferas se ha descubierto que el virus es secretado por las glándulas que producen la jalea real de la cual se alimentan las larvas, potenciando la infección en la colonia. También se ha encontrado que el virus se replica en material graso y en las gónadas, favoreciendo la transmisión transovárica. Se ha encontrado que además de infectar abejas⁵³ también puede infectar moscas *Drosophila*, grillos, pulgones⁵⁴, hormigas de fuego y Triatominos⁵⁵.

Ascovirus: Son virus de ADN, con forma baciliforme u ovoide envueltos que pueden llegar a medir desde los 200-400 nm. Tienen un material genético de ADN de doble cadena de entre 100 y 200 kpb en donde el contenido G-C varía de 42 a 60%. Se encuentran en la clasificación Baltimore en el grupo I. El material genético codifica para 180 genes y proteínas estructurales y demás. Se reconoce una zona lipídica presente tanto en la envoltura externa como en el virión interno⁵⁶.

La infección por el virus a los diferentes huéspedes que tiene es difícil que se realice por vía oral. Los insectos infectados adquieren el virus por la oviposición parasitaria de una avispa, la cual se infecta poniendo sus huevos en una oruga previamente infectada. La avispa infecta a otras orugas después de que su saco ovipositor se a infectado con viriones o vesículas cargadas de viriones⁵⁶, que infectan larvas de lepidópteros. La transmisión oral es difícil, pero se ha descubierto que se transmite mecánicamente a través de la oviposición que hacen las avispas de los géneros *Ichneumonidae* y *Braconidae* encima de estas larvas. Ha sido muy utilizada como herramienta de control biológico contra plagas de interés agrícola como larvas del género *Spodoptera*, *Trichoplusia*, *Heliothis* y *Helicoverpa*⁵⁶.

Iridovirus: son virus icosaédricos de ADN de doble cadena que infectan insectos. Su clasificación Baltimore se encuentra en el grupo I. La subfamilia *Betairidoviridae* tiene los géneros *Iridovirus* y *Cloriridovirus* los cuales aparte de infectar anfibios, mosquitos de diferentes especies como dípteros y también infectan insectos lepidópteros y ortópteros⁵⁷.

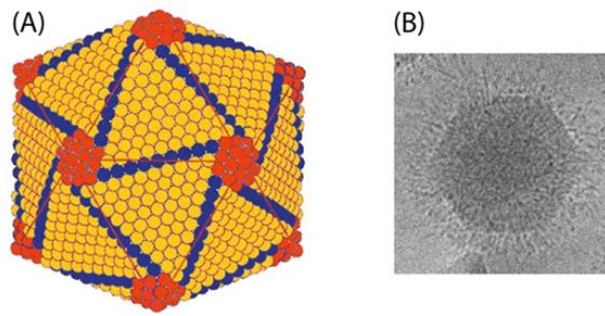


Figura 2. Estructura de Iridovirus

- A) Ilustración de las proteínas de superficie de Iridovirus
 B) Microfotografía electrónica de transmisión criogénica
 Tomado de: talk.ictvonline.org

Baculovirus: Es un virus cuyo material genético es una cadena doble de ADN superenrollado, por lo que su clasificación Baltimore está en el grupo I. La familia *Baculoviridae* está conformada por cuatro géneros que se clasifican por la variedad de los huéspedes que infectan, y la secuenciación del material genético: *Alphabaculovirus*, *Betabaculovirus*, *Gammabaculovirus* y *Deltabaculovirus*⁵⁷.

El material genético contiene de 80 a 180 kpb que contienen genes de expresión temprana, tardía y muy tardía, que codifican hasta 200 proteínas y los viriones pueden contener 40 o más polipéptidos diferentes. Los genes tempranos se transcriben mediante la ARN polimerasa II del huésped, mientras que los genes tardíos y muy tardíos se transcriben mediante una ARN polimerasa viral. La transcripción transitoria temprana y tardía de genes y los estudios de replicación de ADN sugieren que al menos tres proteínas codificadas por virus regulan la transcripción genética temprana, mientras que aproximadamente 20 de las proteínas virales codificadas son necesarias para la transcripción genética tardía. Varios ejemplos de las proteínas que codifica el material genético viral son las proteínas de la nucleocápside, una proteína de unión al ADN, una glicoproteína de la envoltura principal, la proteína Se8 y la proteína F, las cuales son proteínas de fusión de envoltura, y la poliedrina el cual es un polipéptido viral presente en la matriz de los CO virales de los *Alpha*, *Delta* y *Gammabaculovirus*, mientras que la granulina está presente para los virus del género *Betabaculovirus*^{58, 59}.

- *Alphabaculovirus*: tienen forma icosaédrica y forman CO que maduran dentro del núcleo de las células infectadas y que pueden llegar a medir de 0.15 a 5 micras. Los CO pueden tener hasta tres viriones en su interior. Se han aislado de insectos Lepidópteros.
- *Betabaculovirus*: los CO son ovoides y pueden llegar a medir de 0,12 a 0,50 micras. Los CO están compuestos de granulina y solo tienen un virión en su interior. Se han aislado de insectos Lepidópteros.
- *Gammabaculovirus*: son virus cuyo CO mide entre 0,4 y 1,1 micras. Los viriones maduran dentro del epitelio del intestino medio del huésped, que son insectos del orden *Hymenoptera*. de las cuales los tres primeros infectan

varias clases de artrópodos lepidópteros, como los insectos del género *Autographa*, *Galleria*, *Spodoptera*, *Trichoplusia*, entre otros.

- *Deltabaculovirus*: infectan dípteros del género *Culex*

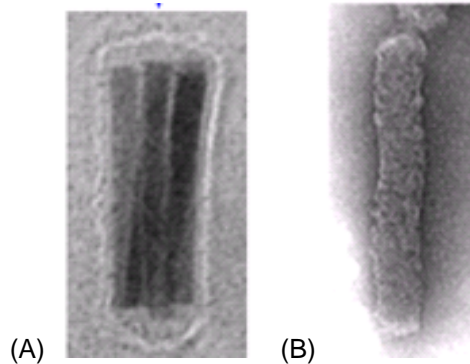


Figura 3. Microfotografías de Baculovirus

- A) Microfotografía electrónica de Baculovirus en occlusión
 - B) Nucleocápside teñida negativamente
- Imágenes tomadas de: talk.ictvonline.org

Entomopoxvirus: Subfamilia de la familia *Poxviridae*. Son virus de material genético de ADN de doble cadena por lo cual se ubican en la clasificación II de Baltimore. Los viriones pueden ser pleomórfico en forma de ladrillo de 70 a 250 nm x 350 nm aproximadamente. También pueden ser ovoides con una membrana superficial que posee un filamento espiral regular de 10 a 20 nm de diámetro aproximadamente. Los entomopoxvirus forman CO que pueden estar formados por una proteína estructural llamada esferoidina, en los cuales se ve que están ocluidos los virus maduros. Las enzimas que ayudan en su proceso de replicación son una ARN polimerasa, una DNasa de unión de muesca, topoisomerasa I. El ciclo replicativo viral se desarrolla en el citoplasma después de la fusión del virus en la célula y la liberación del núcleo viral en el citoplasma. Se multiplican en el citoplasma de las células de los hemocitos y células del tejido adiposo⁶⁰.

Esta subfamilia de virus se divide en tres géneros:

- *Alphaentomopoxvirus*: estos virus se han aislado de *coleópteros*. Los viriones son ovoides, de aproximadamente 450 por 250 nm de tamaño, con un cuerpo lateral. Las unidades globulares de superficie tienen 22 nm de diámetro. El ADN genómico tiene un tamaño de aproximadamente 260-370 kbp
- *Betaentomopoxvirus*: incluye virus aislados de lepidópteros y ortópteros. Los viriones son ovoides, de aproximadamente 350 x 250 nm de tamaño. Las unidades globulares de superficie tienen 40 nm de diámetro. El ADN

genómico tiene un tamaño de aproximadamente 225 kbp. El contenido de G + C es de aproximadamente 18.5%. Los virus producen una proteína del CO codificada por el gen de esferoidina.

- *Gammaentomopoxvirus*: afecta dípteros de los géneros *Aedes*

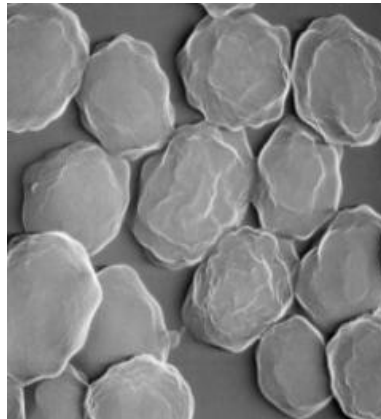


Figura 4. Micrografía electrónica de barrido de esferoides de un Entomopoxvirus

Tomado de: <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384984-7.00004-X>

B) Entomovirus para dípteros de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*

Hacen referencia a virus que infectan a los mosquitos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* y que causan infección, patología y muerte en estos mosquitos en fase larvaria, de pupa y adulta. Pueden clasificarse en entomovirus de ADN y ARN.

- Entomovirus de ADN

Entomopoxvirus: de sus tres géneros expuestos anteriormente, el género *Gammaentomopoxvirus* se ha aislado de mosquitos *Aedes aegypti* (AAEV). Los viriones tienen forma de ladrillo, aproximadamente 32 x 230 x 110 nm de tamaño, con dos cuerpos laterales. El ADN genómico tiene un tamaño de aproximadamente 250-380 kb⁶⁰. No se encontró información o datos sobre experimentación con entomovirus en la literatura buscada.

Iridovirus: Hacen parte de una de las dos subfamilias, según la clasificación ICTV en la cual la familia Iridoviridae se divide en dos subfamilias: *Alphairidovirinae* y *Betairidovirinae*, la cual a su vez se compone de los géneros *Iridovirus* y *Cloriridovirus*. El material genético del virus está compuesto de una cadena doble de ADN de 140-303 kpb por lo cual está en el grupo I de la clasificación Baltimore. La relación G-C puede variar de 27 a 55%⁵⁷.

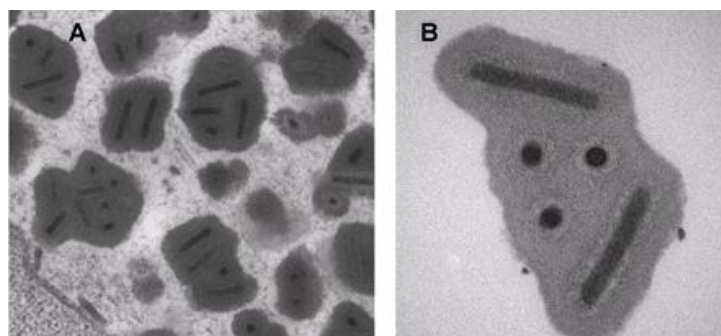
Los virus pueden tener una forma icosaédrica y pueden o no estar envueltos. Esto depende de si el virus después de su ensamblaje dentro del citoplasma celular y

durante la lisis celular toma parte de la membrana celular o no, sin embargo, la presencia o ausencia de la envoltura no afecta la infectividad de la partícula viral. El diámetro de una partícula puede estar entre los 120-130 nm de diámetro. La ICTV clasificó los Iridovirus según los invertebrados donde fueron aislados por primera vez, por lo cual existen varios virus que van desde los iridovirus para invertebrados IIV-1 hasta el IIV-31 ⁵⁷.

En general todos los Iridovirus tienen características similares, pero se diferencian en características genéticas mínimas y en los huéspedes de donde se han aislado. Afecta a mosquitos del género *Aedes*. La característica principal que tienen los insectos infectados con este virus es que muestran una iridiscencia que va desde el azul hasta el color turquesa ⁵⁷. El material genético de los Iridovirus comprende genes que codifican para proteínas estructurales como las que codifican para las proteínas de anclaje y la proteína principal de la cápside, la cual es una proteína altamente conservada en las diferentes especies de Iridovirus y se usa con frecuencia en las identificaciones del virus. Los genes también transcriben proteínas no estructurales las cuales ayudan a la multiplicación y demás actividades infectivas virales, como por ejemplo la proteína transactivadora transcripcional que dirige la expresión de genes virales inmediatos tempranos. Del mismo modo, se han detectado una serie de actividades enzimáticas asociadas al virus, incluida una proteína quinasa, nucleótido fosfohidrolasa, una ribonucleasa específica, desoxirribonucleasas, y una proteína fosfatasa. Por último, también se han encontrado genes que ayudan a disminuir la la respuesta inmune del huésped ⁵⁷.

Baculovirus: De los cuatro géneros que conforman esta familia de virus, solo el género *Deltabaculovirus* contiene un virus que infecta dípteros: *Culex nigripalpus nucleopolihedrovirus* (*Cuni NPV*), la cual infecta a mosquitos *Culex*. Los viriones se multiplican dentro del epitelio intestinal de las larvas. Los CO miden entre 0,5 y 5 micras y pueden albergar desde cuatro hasta cincuenta viriones y la proteína del CO no es homóloga de la granulina o la polihedrina ⁵⁸.

El virus tiene dos fenotipos: una forma ocluida que inicia la infección en las células epiteliales del intestino medio, y una forma en brote que propaga la infección dentro del intestino medio ^{21, 61}. Los viriones se multiplican dentro del epitelio intestinal de de las larvas.



Brevidensovirus: es un género de la subfamilia *Densoviridae*. Su material genético se compone de una cadena sencilla de ADN, por lo cual en la clasificación Baltimore están en el grupo II. Se reconocen dos miembros del género: *Dipteran Brevidensovirus 1 (AgDENV)* que infectan a mosquitos *Anopheles gambiae* y *Dipteran Brevidensovirus 2 (AeDENV)* que ataca mosquitos *Aedes aegypti*. Causan daño en los órganos del mosquito y causa muerte por falla multiorgánica ⁶².

El densovirus *AeDENV* es un virus del género *Brevidensovirus*, subfamilia *Densovirinae*, que se encuentra por lo general en el agua donde las hembras hacen la oviposición y ataca principalmente larvas de mosquitos *Aedes aegypti* reduciendo significativamente su población ⁶³. Este virus también disminuye la tasa de crecimiento de las larvas que sobreviven ^{22, 63}.

El virus *AaDENV*, nombrado así porque se aisló de la línea celular C6/36 por primera vez, pertenece al género densovirus y tiene un material genético de ADN de cadena sencilla ⁶⁴. Pertenece al grupo II de la clasificación Baltimore. Infectan mosquitos *Aedes aegypti*.

AgDENV es un densovirus de ADN de cadena sencilla, que está en la clasificación Baltimore, en el grupo II. Pertenece a la subfamilia *Densovirinae*, que a su vez pertenece a la familia *Parvoviridae* que infecta mosquitos *Anopheles gambiae* ⁶⁵. Varios estudios han encontrado que este virus aunque infecta mosquitos *Anopheles*, no es mucho el efecto patógeno que causa en los adultos, ya que las poblaciones adultas infectadas no mueren más rápido que las poblaciones no infectadas ⁶⁵. Un estudio llevado a cabo para verificar que factores intervienen en la infección por este virus en los mosquitos *Anopheles* se llegó a la conclusión de que los factores como alimentación o edad no alteraban la infección, pero las hembras son más permisivas para la infección con este virus que los machos ⁶⁶. Este virus se probó in vitro en líneas celulares de otras especies de mosquito para saber si había tropismo por otros mosquitos, pero los resultados arrojaron que las líneas celulares tuvieron un índice de infección muy bajo de partículas virales, por lo cual tampoco se considera este virus como patógeno para otras especies de mosquitos ⁶⁶.

- Entomovirus de ARN

Birnaviridae: Es una familia conformada por virus icosaédricos no envueltos con un material genético de ARN de sentido positivo de doble cadena. Pertenece al grupo III de la clasificación Baltimore. Tiene cuatro géneros que son los géneros *Aquabirnavirus*, *Avibirnavirus*, *Blosnavirus*, y *Entomobirnavirus* ⁶⁷. Dentro de este último este género se encuentra el virus Drosophila X y el virus *Espíritu Santo* llamado así por el estado en Brasil donde se aisló por primera vez de un paciente

con DENV en un cultivo celular de la línea C6/36 donde se descubrió como contaminante, causando vacuolización de las células infectadas ⁶⁸.

El genoma de los Birnavirus comprende dos segmentos genómicos de ARN de sentido positivo de doble cadena que tiene un porcentaje C-G de 44-47%. Su material genético de ARN no está poliadenilado en los extremos, y es traducido por la maquinaria celular del huésped en el citoplasma ⁶⁷. Las proteínas que traduce el material genético son las proteínas VP1 (RdRp), VP2 y VP3 que hacen parte de la cápside viral y VP4 que ayuda a la conformación estructural de VP2 ⁶⁸.

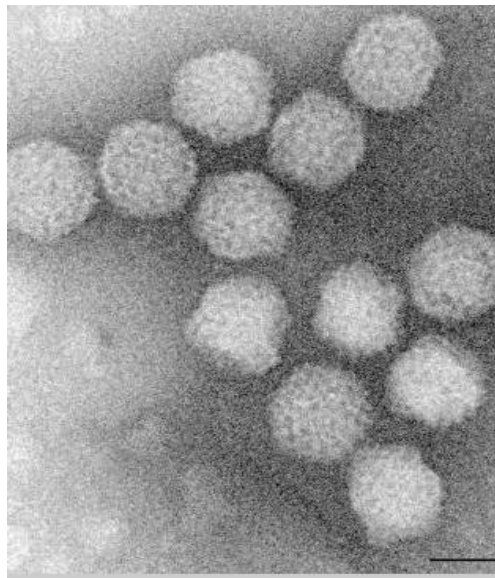


Figura 6. Microfotografía crioelectrónica de Birnavirus. Vancini R. 2012

7.3 Mecanismos de replicación viral y efecto sobre el insecto

La mayoría de los entomovirus causa como efecto citopático dentro de los insectos infectados cuerpos de oclusión (CO), que son proteínas virales en forma de cápsulas que albergan en su interior partículas virales. La función de estos CO es mantener protegido el virus.

Los virus pueden entrar al hospedero por vía oral, aunque también pueden entrar por vía mecánica, vertical como en el caso de los Baculovirus y algunos Iridovirus, y algunos por vía horizontal durante el apareamiento o canibalismo, como en el caso de estos últimos ⁶⁹.

Los Baculovirus infectan al insecto por vía oral, en el cual ingiere los CO. Otra hipótesis es que el insecto puede infectarse durante la muda, sin embargo, esto sigue en estudio. En los Baculovirus las nucleocápsides tienen un promedio de 30–

60 nanómetros de diámetro y 250–300 nanómetros de longitud y una vez que el virus entra al insecto, éste llega primeramente al lumen del intestino medio. Dentro de éste, debido al alto pH de los jugos intestinales que va de 9.5 a 11.5 y posiblemente a la acción de algunas enzimas hidrolíticas, se degradan los CO y se liberan los viriones envueltos que se fusionan a las microvellosidades de las células epiteliales ¹⁹. El pH de liberación en el cual los CO se rompen y liberan los viriones del dentro del cuerpo del insecto depende del tipo de virus y de hospedero, ya que los CO pueden degradarse a pH ácidos o alcalinos. Posterior a la ruptura de los CO y la liberación de los virus, estos infecta las células del intestino delgado y las nucleocápsides desnudas se dirigen hacia al núcleo celular, en el cual se replica el virus. Al final del ciclo de replicación viral, se arman nuevos CO en el tejido infectado del insecto. El material genético se replica dentro del núcleo celular, que en algunos casos como lo visto en la infección por el género *Deltabaculovirus*, termina por deformarse. Se sabe que la replicación se realiza en las células de la luz intestinal, sin embargo, la infección puede alcanzar otros órganos y el cuerpo graso del insecto. Se ha observado que cuando la larva está infectada, cambia su comportamiento y casi no come. Los CO formados dentro del insecto se esparcen en el ambiente tras la muerte del insecto y la descomposición del cuerpo ^{5, 59}.

En las infecciones causadas por los entomopoxvirus, existe una degradación del CO similar a la de los Baculovirus y los viriones penetran a la célula huésped vía una fagocitosis y solamente dentro de ésta, se desnuda la nucleocápside viral. El proceso de replicación viral tiene lugar en el citoplasma de las células de insecto (hemocitos y células de tejido adiposo). Los viriones maduros generalmente están ocluidos en esferoides compuestos por una proteína principal del cuerpo de oclusión cristalina denominada "esferoidina". Los CO también se degradan en el intestino medio y liberan a los viriones los cuales se fusionan a las microvellosidades de las células epiteliales del intestino medio, pero a diferencia de los Baculovirus, la replicación ocurre en el citoplasma celular ⁶⁰.

El efecto citopático más conocido de los Iridovirus es la iridiscencia que causan los cuerpos de los insectos infectados, que van desde el color amarillo y naranja, hasta el azul turquesa, debido a la acumulación paracrística de viriones en los tejidos del insecto ^{17, 57} y al tamaño del virus ⁷⁰. Un estudio probó que los Iridovirus pueden entrar a través de daños en la barrera primaria de la larva ²⁰.

Los iridovirus entran a las células por endocitosis y se transportan como endosomas, para posteriormente replicarse en el núcleo de la célula. En una primera etapa la partícula viral entra en la célula por el mecanismo de endocitosis dependiente de caveolina o endocitosis, mediada por receptor. El ADN desnudo es transportado al núcleo donde comienza la primera fase de replicación. La expresión génica viral también comienza en el núcleo donde comienza la transcripción viral temprana de transcriptomas, que luego son sintetizados usando el ADN viral como molde y comienza la transcripción de los genes primarios ^{17, 57}. Los viriones se

ensamblan y se acumulan en el citoplasma en grandes arreglos paracrystalinos o brotan a través de la membrana para luego infectar otras células ¹⁷.

Se ha detectado que el virus está primero en el tórax y luego se desplaza al abdomen ⁵. En las larvas infectadas se ha visto que aquellas que sobreviven a la infección tienen bajo peso en la pupa o pupa con malformaciones, adultos con poca fertilidad, y en algunos casos los adultos que sobreviven a la infección en su fase larvaria podían pasar el virus de forma vertical ¹⁶. Los Iridovirus tienden a replicarse primeramente en el cuerpo graso de la larva, la cual es una fuente importante de nutrientes para larva durante la fase de pupa, por lo cual si este tejido se ve comprometido, la larva no puede terminar su desarrollo en esta fase y muere antes de convertirse en adulto ⁷¹.

8. Diseño metodológico

8.1 Tipo y nivel o alcance de la investigación

Este proyecto es un estudio documental cualitativo descriptivo, en el cual lo que se busca es la recopilación y actualización de información proveniente de varias fuentes bibliográficas como Las bases de datos y revistas consultadas a través de internet de donde se obtuvieron los textos fueron Scielo, Sciencedirect, Biomédica, Atlas of Invertebrate Viruses, Parasites & Vectors, Researchgate, International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), National Center for Biotechnology Information (NCBI), Revista de la Asociación Americana de Control de Mosquitos (JAMCA), Journal of Invertebrate Pathology y textos del Instituto Nacional de Salud (INS) sobre el uso de entomovirus como herramienta para el control biológico de vectores y sus resultados en dichos experimentos para obtener una vista más amplia del tema y conocer los puntos a favor y en contra del uso de esta herramienta para control biológico.

8.2 Población

Publicaciones relacionadas con experimentos con entomovirus en mosquitos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* y sus efectos en el cuerpo del insecto infectado en fase larvaria y adulta

8.3 Muestra

En total se reunieron 86 artículos en inglés y español. Se tuvieron en cuenta los textos que hablan de experimentos y efectos de los entomovirus en los mosquitos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*. Para la elaboración de esta revisión bibliográfica se inició con la recolección y clasificación de los textos que cumplieron con los criterios de inclusión:

- Características virales y su efecto citopático en los insectos, ya que es necesario saber cómo opera el virus dentro del huésped para entender porque podría funcionar como herramienta de control vectorial.
- Características morfológicas virales
- Uso de entomovirus para experimentación y/o como herramienta de control biológico

Se descartaron todos aquellos textos que cumplieron con alguno de estos criterios de exclusión:

- Texto al cual no se pueda tener acceso completamente
- Artículos que hablen de virus que causen efectos citopáticos en artrópodos que no sean de importancia en salud pública

Los textos seleccionados se usaron para el desarrollo de antecedentes, marco teórico, resultados y discusión.

9. Resultados

9.1 *CuniNPV*

En el caso de *CuniNPV*, su infectividad se ha visto en mosquitos *Culex quinquefasciatus* y *Culex pipiens*, sin infección en otros géneros de mosquitos. En el caso de *Culex pipiens* se observó un promedio de infección del 80% de las larvas expuestas en el agua, con una dosis viral de $1,6 \times 10^7$ cuerpos de oclusión/ml de agua. En el caso de *Culex quinquefasciatus* se observó un porcentaje de infección del 84% usando la misma concentración viral (Tabla 1). Estos resultados se observaron en larvas de los cuatro estadios, en fase acuática²².

Table 1. Results of bioassays experiments showing susceptibility of 14 mosquito species exposed to 1.6×10^7 OBs/ml of CuniNPV virus in 10 mM $MgCl_2$

Species	Date	Source ^a	Exposure group			Cumulative % infection (days postinoculation)		
			No.	Stage ^b	Temp.	2	3	4
<i>Cx. pipiens</i>	2/13	L	97	L ₂	27°C	13.4	—	14.4
	3/11	L	99	L ₄	27°C	6.0	10.0	26.0
	3/18	L	88	L ₂	27°C	23.6	26.8	48.0
	3/18	L	127	L ₄	27°C	28.4	40.9	75.0
	3/28	L	103	L ₂	17°C	—	75.7	78.6
	5/23	L	100	L ₂	20°C	—	—	26.0
	7/10	F _e	100	L ₂	27°C	76.0	—	83.0
<i>Cx. pipiens f. molestus</i>	2/26	L	92	L ₂	27°C	80.4	—	—
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	2/7	L	193	L ₂	27°C	84.5	—	—
<i>Cx. restuans</i>	4/17	F _e	96	L ₂	27°C	12.5	12.5	12.5
	7/15	F _e	75	L ₂	27°C	8.0	18.7	21.3
	7/22	F _e	100	L ₂	27°C	3.0	11.0	20.0
<i>Cx. salinarius</i>	7/10	F _e	102	L ₂	27°C	43.1	47.1	48.0
<i>Cx. territans</i>	7/10	F ₁	100	L ₂	27°C	0	0	0
<i>Cs. morsitans</i>	5/23	F ₁	63	L ₂	20°C	0	0	0
<i>Ae. vexans</i>	4/12	F ₁	66	L ₂	17°C	0	0	0
<i>Oc. canadensis</i>	3/18	F ₁	99	L ₂	27°C	0	0	0
	4/12	F ₁	24	L ₂	17°C	0	0	0
<i>Oc. cantator</i>	4/12	F ₁	100	L ₂	17°C	0	0	0
<i>Oc. communis</i>	4/12	F ₁	100	L ₂	17°C	0	0	0
<i>Oc. excrucians</i>	3/26	F ₁	101	L ₂	17°C	0	0	0
<i>Oc. japonicus</i>	4/5	F ₁	100	L ₂	17°C	0	0	0
<i>Oc. stimulans</i>	4/5	F ₁	100	L ₂	17°C	0	0	0
<i>Oc. triseriatus</i>	2/15	L	100	L ₂	27°C	0	0	0

^a L = lab colony, F_e = field-collected eggs, F₁ = field-collected larvae

^b L_{2,4} = Larval instar.

Tabla 1. Resultados de los experimentos de bioensayos que muestran la susceptibilidad de 14 especies de mosquitos expuestos a 1.6×10^7 OBs / ml de virus CuniNPV en 10 mM $MgCl_2$. Andreadis TG. 2003

En el estudio se puede observar que hubo factores que intervinieron en estos resultados, ya que para facilitar la infección larvaria se tuvieron que agregar cationes divalentes Mg^{2+} y se tuvo que tener en cuenta la temperatura en donde se tuvieron mejores porcentajes de infección, la cual fue a una temperatura de 17°C^{5, 22}. A una temperatura mayor, los porcentajes de infección disminuyeron. Hasta la alimentación influye en el resultado, ya que la presencia de cationes como el Ca^{2+} (Tabla 2) causa efectos inhibitorios en la infección por este virus. El 100% de las larvas infectadas mostraron daños en el intestino delgado, entraron en un estado letárgico y murieron²².

Table 2. Effect of larval food on the susceptibility of second instar *Cx. pipiens* and *Cx. quinquefasciatus* to CuniNPV virus in 10 mM $MgCl_2$ at an estimated dosage rate of 1.6×10^7 OBs/ml

Species	Larval food			
	Alfalfa/hog chow		Liver/yeast	
	No.	% infection	No.	% infection
<i>Cx. pipiens</i>	100	91.0	102	7.8 ^a
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	102	100	100	5.0 ^a

^a Significantly lower than % infection with alfalfa/hog chow by Chi-square analysis ($P < 0.001$).

Tabla 2. Efecto de los alimentos larvales sobre la susceptibilidad del segundo estadio *Cx. pipiens* y *Cx. quinquefasciatus* al virus CuniNPV en $MgCl_2$ 10 mM a una tasa de dosificación estimada de 1.6×10^7 OBs / ml. Andreadis TG. 2003

9.2 Iridovirus

Los Iridovirus también infectan las fases larvarias de mosquitos *Aedes taeniorhynchus* que se encuentran en el agua, infectado durante la ecdisis. La proliferación del virus en el agua se produce por la muerte de larvas infectadas, que durante la descomposición del cuerpo esparcen los CO, y produce la infección en otras larvas. El promedio de infección máximo es de 35% con un tiempo de exposición de 48 horas (Tabla 3) ¹⁶.

RESULTS OF EXPOSING LATE FIRST- OR EARLY SECOND-INSTAR LARVAE OF *A. taeniorhynchus* TO MIV OF *A. taeniorhynchus* FOR VARIOUS PERIODS ^a

Length of exposure (hr)	No. of fourth-instar larvae examined	Percent patent infection
1	310	2
3	502	2
6	326	7
12	486	11
24	522	20
48	480	35
168 ^b	606	37
Control	756	—

Tabla 3. Resultados de la exposición de larvas de primer y segundo estadio larvario de *Aedes taeniorhynchus* a MIV en diferentes periodos de tiempo. Woodard DB. 1968

Si la larva se infecta en los estadios larvarios 3° y 4° y sus probabilidades de sobrevivir y pasar a fase adulta aumentan y puede pasar el virus a su progenie. Una forma de infección puede ser de forma oral por la ingestión de viriones y otra puede ser por daños en la pared intestinal que facilitan la infección de las células intestinales. Del total de los huevos puestos por las hembras infectadas durante la fase larvaria, entre el 18 y el 50% resultaron infectados con Iridovirus. El 20% aproximadamente de las larvas que son progenie de mosquitos infectados en fase larvaria, desarrollarán la infección por Iridovirus. A demás que hay que tener en cuenta la temperatura del agua ya que se logran mayores porcentajes de infección con un temperatura en el agua de entre 25°C y 30°C (Tabla 4) ¹⁶.

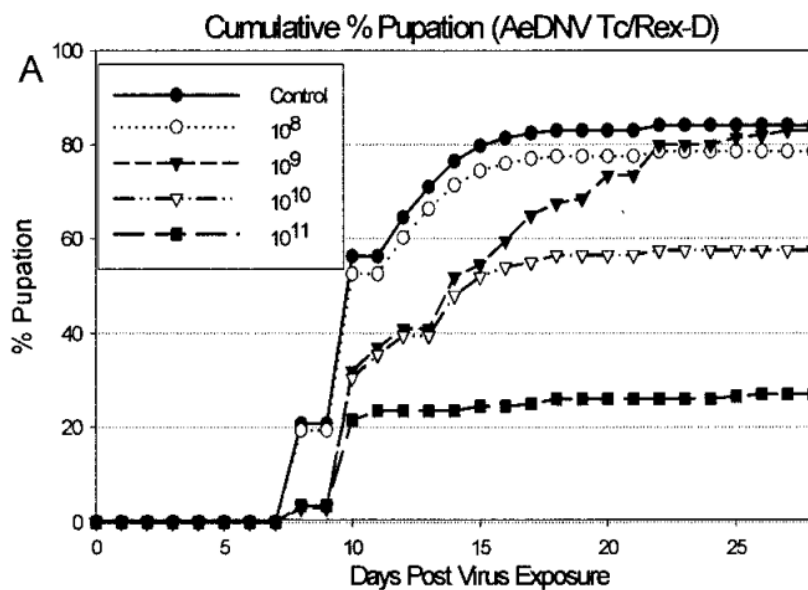
RESULTS OF REARING LARVAE OF *A. taeniorhynchus*
 AT VARIOUS TEMPERATURES AFTER 24-HR
 EXPOSURE TO MIV OF *A. taeniorhynchus*
 IN THE LABORATORY ^a

Temperature (°C)	Rearing time ^b (days)	No. of fourth-instar larvae examined	Percent patent infection
20	18	765	5
25	8	2129	12
30	5	967	15
Control (ambient)	7	—	—

Tabla 4. Resultados de infección de larvas criadas de *Aedes taeniorhynchus* a varias temperaturas después de ser expuestas por 24 horas a iridovirus. Woodard DB. 1968

9.3. AeDNV

La infección por el densovirus *AeDNV* se desarrolla en las larvas de mosquitos *Aedes aegypti*. El virus está presente en el agua donde la hembra hace la oviposición, e infecta a las larvas las cuales se desarrollan más lento y hace que disminuya el promedio de pupación (Gráfica 1) ²².



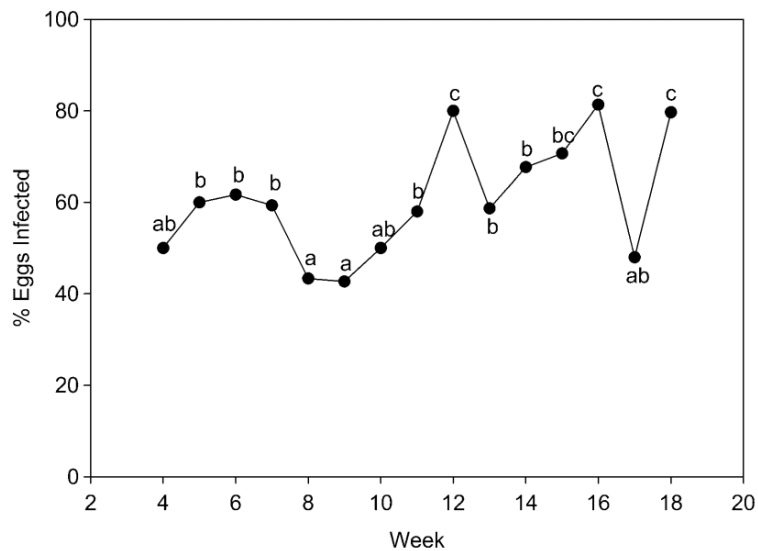
Gráfica 1. Porcentaje de pupación de *Aedes aegypti* al exponer las larvas a diferentes concentraciones virales. Jeremy P. 2004

Actividades como la oviposición de las hembras y la muerte de las larvas causan el aumento de los títulos virales en el agua, aunque se ha visto que con títulos desde 1×10^8 y concentraciones mayores se puede llegar a un porcentaje de infección en adultos si la larva se expone desde el primer estadio, de entre el 75 y el 96% (Tabla 5)²².

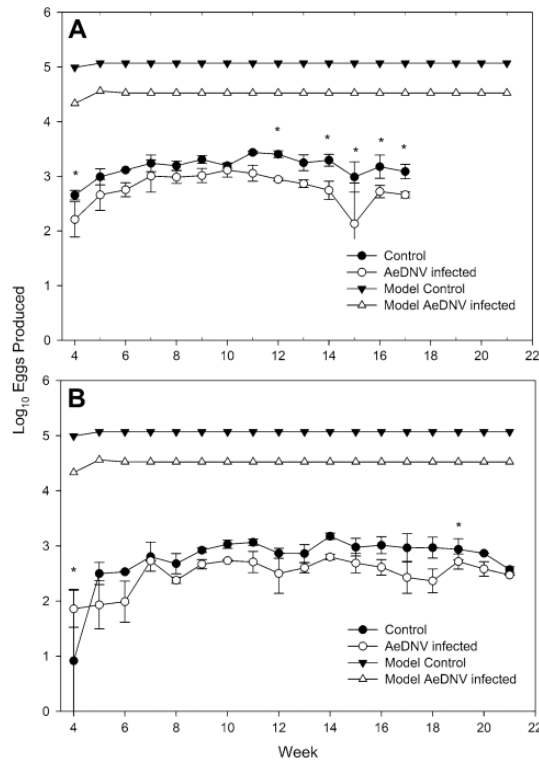
Initial dose (geq/ml)	AeDNV		
	n	Percent infected ^a	Titer (log)
Control	18	0	<2 ^b
10 ⁸	43	83.3 ± 8.5	8.4 ± 1.5
10 ⁹	65	75.0 ± 10.2	8.5 ± 1.7
10 ¹⁰	96	96.4 ± 13.9	9.8 ± 1.9
10 ¹¹	27	87.0 ± 10.5	10.6 ± 1.5
P values		0.034	<0.0001

Tabla 5. Porcentaje de infección en adultos que fueron expuestos a AeDNV desde primer estadio larvario. Jeremy P. 2004

Las hembras pueden pasar el virus transovaricamente infectando entre el 50 y el 80% de los huevos, además de que el promedio de producción de huevos disminuye (Gráficas 2 y 3)⁶².



Gráfica 2. Porcentaje de huevos infectados de Aedes aegypti con AeDNV analizados en el transcurso de 20 semanas. Suchman E. 2009



Gráfica 3. Comparación entre la producción de huevos de *Aedes aegypti* entre mosquitos infectados de los no infectados con AeDNV frente a un modelo matemático. Erica L. Suchman. 2009

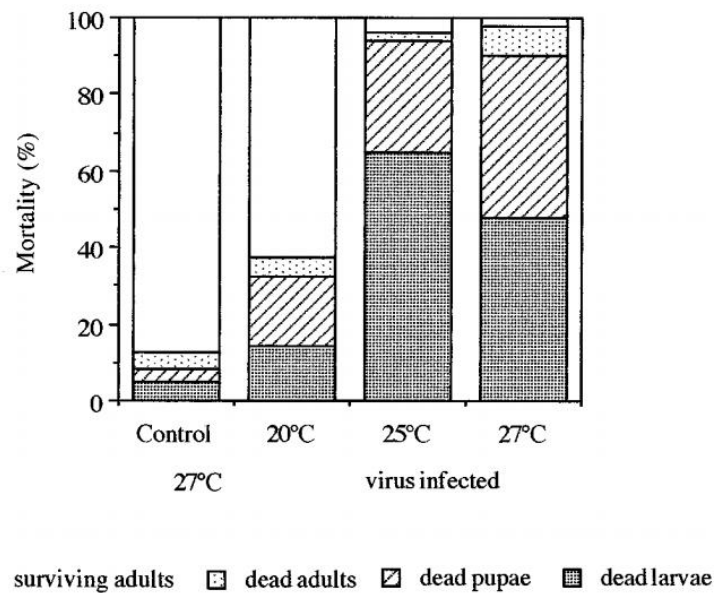
9.4 *AaIDNV*

Con el virus *AaIDNV* la infección se produce en la fase larvaria en el agua, ya que son las larvas infectadas que elevan los títulos virales en el agua. Se ha visto que el tiempo de exposición que tienen los mosquitos al virus influye en los porcentajes de infección y muerte de los mismos. La totalidad de las larvas que se infectan mueren al estar expuestas al virus en fases tempranas de la fase larvaria, pero en la fase de pupa donde la larva se infecta en el último estadio larvario, hay una variación de mortalidad con respecto al tiempo que se expusieron al virus. Por ejemplo en un estudio cuando las larvas se expusieron al virus antes de entrar a fase de pupa, el porcentaje de pupas infectadas y que murieron fue mayor cuando la larva se expuso al virus por un lapso de 48 horas con una muerte en fase de pupa de un 98% aproximadamente, frente a aquellas que tuvieron contacto por 36 horas con un porcentaje de mortalidad del 97% (Tabla 6). Estos resultados de infección y muerte en fase larvaria y de pupa se deben a que estas son las fases más críticas en el desarrollo del mosquito hasta su fase adulta. También influye la temperatura ambiental en la cual se produce la etapa de infección viral, pues a una temperatura de 25°C se produce un mayor porcentaje de infección y mortalidad en fase larvaria y de pupa (Gráfica 4) ⁴.

Effect of Duration of Virus Contact on the Infection Rate of *Ae. aegypti* Mosquitoes

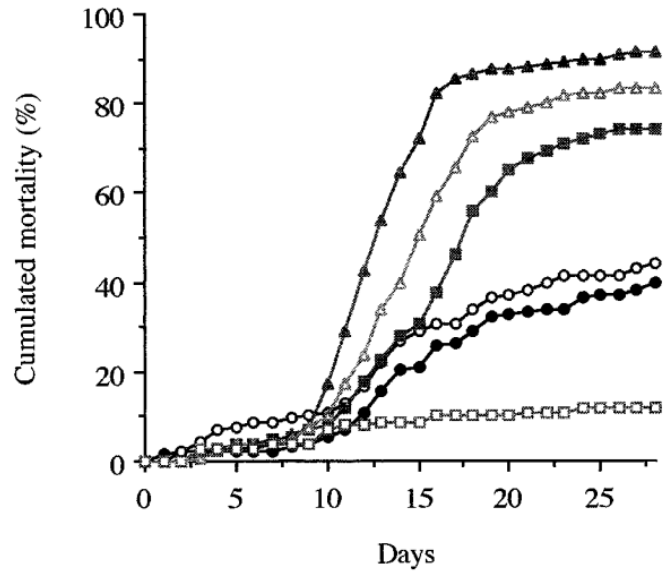
	36 hr contact			48 hr contact		
	No. of tested individuals	No. of infected individuals	Percentage of infection	No. of tested individuals	No. of infected individuals	Percentage of infection
Dead larvae	36	36	100.0	59	59	100.0
Dead pupae	40	39	97.5	76	75	98.7
Dead males	17	15	88.2	12	11	91.7
Dead females	6	5	83.3	7	7	100.0
Surviving males	78	19	24.4	29	10	34.5
Surviving females	62	21	33.9	17	5	29.4
Total No. of dead mosquitoes	99	95	96.0	154	152	98.7
Total No. of surviving mosquitoes	140	40	28.6	46	15	32.6
Total	239	135	56.5	200	167	83.5

Tabla 6. Efectos de la duración del contacto con AeDNV en la infección de mosquitos *Aedes aegypti*. Barreau C. 1996



Gráfica 4. Efectos de la temperatura en la mortalidad de *Aedes aegypti* a diferentes temperaturas. Barreau C. 1996

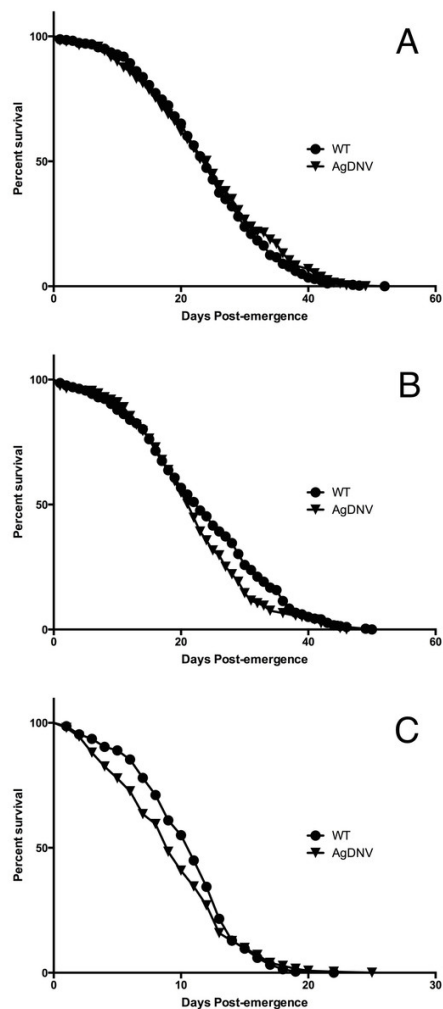
El porcentaje de larvas infectadas también aumenta con el tiempo, ya que desde los 7 días de la primera infección pueden verse un porcentaje de infección del 10% y luego aumentar a un 90% o incluso un 100% al cabo de 28 días después de la infección (Gráfica 5) ⁴.



Gráfica 5. Mortalidad de *Aedes aegypti* después de la infección larval de primer estadio. Barreau C. 1996

9.5 AgDNV

AgDNV es un virus que causa poco daño en la fase larvaria y el adulto de los mosquitos *Anopheles*, aunque puede causar una disminución leve de la esperanza de vida en estas fases. Puede infectar hasta el 100% de las larvas de *Anopheles* por lo cual es un virus altamente infeccioso pero no es patológico, lo cual es una ventaja para su uso en paratransgénesis que es el uso de este virus dentro del cuerpo del mosquito para afectar al parásito de *Plasmodium* en su interior ya que se necesita al mosquito vivo para este propósito (Gráfica 6) ²⁴.



Gráfica 6. Comparación de supervivencia de mosquitos Anopheles infectados con AgDNV, frente a mosquitos no infectados. Ren X. 2018

	<i>CuniNPV</i>	<i>AeDNV</i>	<i>AaIDNV</i>	<i>AgDNV</i>	<i>Iridovirus</i>	<i>Entomopoxvirus</i>	<i>Birnavirus</i>
Hospederos	Mosquitos género <i>Culex</i>	Mosquitos género <i>Aedes</i>	Mosquitos género <i>Aedes</i>	Mosquitos género <i>Anopheles gambiae</i>	Mosquitos género <i>Aedes</i>	Mosquitos genero <i>Aedes</i>	Células C6/36
% de infección y muerte	80 - 84%	96%	98%	100%	35%	N/A	N/A
Fase de infección	Larvaria	Larvaria	Larvaria	Larvaria y adulto	Larvaria	N/A	N/A
Transmisión vertical	No	Si	En estudio	Si	Si	N/A	N/A
Efecto citopático	Cuerpos de oclusión, cambios en el comportamiento larvario	Perdida de función multiorganica	Perdida de función multiorganica	N/A	Iridescencia, daño en el intestino	Destrucción de los hemocitos del tejido adiposo	Vacuolización de las células infectadas

Tabla 7. Tabla comparativa de los efectos de los entomovirus en mosquitos Aedes, Anopheles y Culex

10. Discusión

Según la OMS, al año mueren 700.000 personas por enfermedades transmitidas por vectores y casi 4000 millones de personas están en riesgo de contraer alguna enfermedad transmitida por vectores como Dengue, Chikungunya, Fiebre amarilla, malaria, leishmaniasis, etc ¹. Muchos de estos vectores son mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* que pueden transmitir estas enfermedades. Los riesgos aumentan en zonas donde el clima ayuda a la proliferación de estos vectores y donde las condiciones socioeconómicas y de higiene son pobres ⁷¹. Según la OPS en América existen alrededor de 145 millones de personas viven en zonas de riesgo para enfermedades transmitidas por vectores, y las tasas de infección de varias de estas enfermedades está en aumento como por ejemplo enfermedades como Leishmaniasis y otras enfermedades parasitarias ⁷².

En Colombia la prevalencia de casos de infecciones por arbovirus se presenta en lugares con una altura inferior a los 2200 m.s.n.m, lo cual corresponde a una gran área del territorio nacional, además de que las enfermedades tienen un pico epidémico cada cierto tiempo, en el cual los casos de infectados aumentan. No solo los factores territoriales afectan al aumento de estas arbovirosis o parasitosis, sino que también la actividad humana como la minería, la deforestación y la migración del campo a la ciudad, transportar estos vectores a lugares donde no son endémicos, la falta de responsabilidad con respecto a las medidas que se deben tomar para evitar la proliferación del mosquito, la poca higiene y la desigualdad social ⁷³.

En lo que va del año 2020 el reciente brote de Dengue ha causado 57 muertes a nivel nacional y más de 30.600 casos, además de que comparado con años anteriores, este virus ha tenido un aumento de casos que lo han convertido en una epidemia en Colombia ⁷⁴.

En Colombia las diferentes especies de mosquitos, principalmente del género *Aedes*, se están estableciendo en lugares donde antes no se encontraban dentro del territorio nacional, por lo que se hace importante mantener una vigilancia entomológica activa de los lugares donde estos vectores están y saber cuáles de ellos están infectados con algún arbovirus ⁷⁵.

El uso de insecticidas y plaguicidas en Colombia para control de plagas de cultivos y mosquitos ha sido una herramienta muy usada en el país a lo largo de los años y ha sido una pieza clave en la economía de muchos departamentos del país ¹¹. El problema está en que muchos de estos compuestos debido a su naturaleza plaguicida tienden a tener compuestos que no solo afectan a estos insectos, sino que también afecta otros seres vivos como plantas, animales y seres humanos. Incluso se sabe que hay muchos plaguicidas cuyos compuestos penetran la tierra

hasta contaminar las fuentes de aguas subterráneas ⁷⁶. Debido a todos estos factores el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) hizo una lista de resoluciones en la cual están los plaguicidas que ya son prohibidos en Colombia debido a su efecto dañino sobre el ambiente y los seres humanos debido a los daños colaterales para las personas que trabajan con estos compuestos ⁷⁷. Los compuestos organofosforados causan en los trabajadores daños psicológicos inmediatos y a largo plazo como depresión y alucinaciones ⁷⁸. En los niños que se han expuesto a estos químicos se ha evidenciado trastornos en el desarrollo psicomotor, convulsiones y coma ^{78, 79}. Los organofosforados causan una inhibición en la acetilcolinesterasa, que es una enzima que hidroliza el neurotransmisor encargado de la sinapsis del sistema nervioso central con el músculo esquelético. Cuando esta enzima se inhibe, hay una acumulación de acetilcolina lo cual se evidencia como disminución del ritmo cardíaco y presión arterial, además de cambios en la respiración y mareos ⁷⁹.

Se han presentado resistencias por parte de los mosquitos a varios de los compuestos químicos usados a lo largo del tiempo, siendo lo más característico adaptaciones enzimáticas como la producción de esterasas y las enzimas conjugadas de la fase I y II y las oxidasas de función mixta de fase I que ayudan a la desintoxicación del mosquito, resistencias en la penetración del químico en el mosquito y aumento de la eliminación del químico del cuerpo del insecto ⁸⁰, como por ejemplo en Brasil donde se ha encontrado resistencia de *Aedes aegypti* a Deltametrina, Temefos y Diflubenzuron debido a estas enzimas ⁸¹. Otro ejemplo es la resistencia que han desarrollado las larvas de diferentes géneros de mosquitos en diferentes partes del mundo a los organofosforados y a los piretroides por el uso de dos mecanismos: mutación en el canal de sodio dependiente de voltaje o por niveles elevados de monooxigenasas que ayudan a la desintoxicación larvaria ^{82, 83, 84}.

En Colombia con el fin de vigilar las respectivas resistencias que desarrollan los mosquitos, anualmente se hacen ensayos en los cuales se mide la resistencia de ciertas especies de mosquitos frente a sustancias como piretroides, organofosforados y carbamatos ⁸⁵.

Una alternativa al uso de químicos es el uso de controles biológicos los cuales son mucho más seguros con el medio ambiente y los animales. El uso de hongos, bacterias y peces larvicidas son una buena herramienta de control ya que pueden atacar mosquitos, en muchos casos sin importar el estadio de desarrollo del mismo. Sin embargo, estos organismos deben ser usados con moderación ya que su uso implica introducir estas especies en hábitats en donde puede que no sean endémicos. Aparte de esto se deben tener en cuenta los factores ambientales adecuados para que estos organismos tengan buenos índices de crecimiento e infectividad.

Debido a lo anterior se propone el uso de entomovirus, los cuales en diferentes experimentos anteriormente mencionados, se sabe que estos son específicos de sus huéspedes y que pueden ser útiles para atacar al mosquito sobre todo en fase larvaria. Las larvas que sobreviven a esta fase después de ser infectados con entomovirus, tienen la capacidad de pasar estos virus durante el apareamiento a mosquitos sanos y a las larvas, lo cual favorece el esparcimiento del virus ^{16, 20, 64}.

Sin embargo, para su uso se debe tener en cuenta factores como el tropismo que tiene el virus por su respectivo hospedero ⁶⁴, las células que infecta, qué tanto nivel de mortandad tiene en los individuos infectados y las condiciones que necesita el virus en el medio ambiente para ser infectivo ^{5, 64}, ya que los resultados obtenidos, se obtuvieron en condiciones controladas en un laboratorio.

Por ejemplo *CuniNVP* es un virus que solo tiene tropismo por mosquitos *Culex*, por lo cual su uso es muy limitado ya que no tiene tropismo por otros géneros de mosquitos de interés en salud pública como *Aedes* y *Anopheles* ²². Aunque según los experimentos el promedio de infección en larvas es alta, se necesitó la adición de cationes divalentes de Mg^{2+} para lograr ser infectivo ^{5, 22}. La temperatura del agua también influyó en los resultados, ya que a una temperatura de 17°C se obtuvieron mejores porcentajes de infección que a temperaturas superiores ²².

Con el virus *AeDNV* las tasas de pupación disminuyeron en el caso de larvas infectadas desde los primeros estadios. Sin embargo, estos resultados se obtuvieron bajo condiciones de temperatura y tiempo de exposición controlados, ya que la concentración viral en el agua donde están las larvas y el tiempo al que estas deben exponerse al virus, que según los resultados debe ser por un tiempo de 48 horas para que más del 90% se infecte y muera, son variables que deben tenerse en cuenta al momento de usar este virus en el medio ambiente ^{22, 62}.

En el caso de los virus *AaIDNV* y los iridovirus el tiempo de exposición que tienen las larvas con el virus y la temperatura también son factores importantes, pues cuanto más tiempo se expongan las larvas al virus, a una concentración viral específica, y a una temperatura entre los 25°C y los 30°C, los porcentajes de infección se elevan entre el 98 y 100% para las larvas infectadas con *AaIDNV* y 35% para las larvas infectadas con iridovirus ^{4, 16}. A pesar de que la ingestión de iridovirus puede ser una vía para la infección por este virus, se necesita un daño en la pared peritrófica del intestino de la larva para que se produzca una infección que pueda ser fatal para la larva ⁶⁸, y por eso no se recomienda su uso como biocontrolador ²⁰.

En el caso de *AgDNV* se ha observado que este virus no causa una letalidad significativa en el huésped en su fase larvaria ni en su fase adulta, y que además tiene muy poco tropismo por otros mosquitos como *Aedes*, *Culex* y otros artrópodos ^{24, 64, 65}. Su uso últimamente se ha estudiado para infectar el parásito *Plasmodium* de forma paratransgénica, en la cual es una ventaja que este virus no cause un

daño significativo en el mosquito adulto. Otro aspecto que se observó de la infección viral es que las hembras que fueron infectadas después del apareamiento con machos infectados, contuvieron el virus en sus espermatecas y no se diseminan por el resto del cuerpo. La posibilidad de que el virus pueda generar alguna infección de forma vertical sigue en estudio ⁶⁴.

Los Birnavirus son virus que aunque se han aislado de líneas celulares C6/36, se ha visto que necesita de una coinfección con virus DENV para su replicación. Aún no está muy claro cómo funciona esta coinfección entre ambos virus, pero se ha visto que en los cultivos celulares los títulos de DENV se ven disminuidos ya que no pueden replicarse. Parece que el Birnavirus *Espíritu Santo* compite por los receptores que utiliza la cepa DENV-2 44/2 para infectar las células, evitando así la proliferación del virus ⁶⁷.

Con respecto a la inmunidad que el mosquito pudiera presentar ante los entomopatógenos usando células presentes en la hemolinfa del insecto como plasmocitos, células granulares que fagocitan, hasta los hemocitos que producen proteínas como lisozima, lectinas, la hemolinfa y cecropinas que destruyen bacterias, virus, parásitos y hongos, también existen otros métodos de ataque inmunitario por parte del sistema inmune de los dípteros como la encapsulación de los patógenos bajo un grupo de células inmunes llamadas células melanóticas, las cuales encierran los patógenos para su destrucción. Estas herramientas inmunitarias son efectivas con ciertos patógenos, ya que algunos parásitos no pueden ser atacados ni fagocitados por su gran tamaño, y hay hongos y bacterias causan inmunosupresión del insecto y logran infectar hasta causar su muerte ⁸⁶.

Teniendo esto en cuenta, factores como la temperatura del agua donde están el virus y las larvas, concentraciones virales en el ambiente, capacidad de transmisión vertical, fase en la que los mosquitos se infectan y la condición del sistema inmune del insecto, hacen que esta herramienta de control biológico siga aún en estudio. Sin embargo en el caso de los Birnavirus y *AgDENV* sus posibles usos contra los microorganismos que están dentro del cuerpo del vector y que luego son transmitidos a los humanos a través de la picadura del mosquito, ofrece un punto de trabajo diferente para el uso de los entomovirus. Faltan estudios que permitan usar los entomovirus *in vivo* con estos propósitos.

11. Conclusiones

- La revisión bibliográfica demuestra que se ha experimentado en laboratorios con diferentes entomovirus dirigidos a géneros de mosquitos de interés en salud pública como *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*

- Los entomovirus pueden ser una alternativa de control efectiva contra mosquitos de interés en salud pública debido a su especificidad de hospedero, sus porcentajes de infección y mortalidad en las fases de larva y pupa, al daño que puede producir en los mosquitos infectados y la capacidad de algunos entomovirus para pasarse de manera vertical a la progenie.
- La especificidad de hospederos de los entomovirus es una desventaja ya que se necesitaría un entomovirus contra cada género de mosquito. Además que las condiciones que necesitan estos entomovirus para tener altos porcentajes de infección como temperatura ambiental y en algunos casos, la presencia o ausencia de cationes, hacen que los entomovirus sean aún una alternativa de control biológico en estudio.

12. Bibliografía

1. Organización mundial de la Salud. Enfermedades transmitidas por vectores. WHO sitio web mundial [Internet]. 2015 [Consultado 29 Jul 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
2. Centro Para el Control y Prevención de las Enfermedades. Resistencia a los insecticidas. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Zoonóticas y Emergentes (NCEZID) [Internet]. 2016 [Consultado 29 Jul 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/zika/es/vector/insecticide-resistance.html>
3. Idrovo AJ. Vigilancia de las Intoxicaciones con Plaguicidas en Colombia. Rev Salud Pública [Internet]. 2000 [Consultado 29 Jul 2019];2(1):36–46. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v2n1/0124-0064-rsap-2-01-00036.pdf>
4. Barreau C, Jousset FX, Bergoin M. Pathogenicity of the Aedes albopictus Parvovirus (AaPV), a Denso-like Virus, for Aedes aegypti Mosquitoes. Journal of Invertebrate Pathology [Internet] 1996 Nov;68(3):299-309. [Consultado 22 Feb 2020] Disponible en: <https://scihub.tw/https://doi.org/10.1006/jipa.1996.0100>
5. Becnel, J. J. Transmission of viruses to mosquito larvae mediated by divalent cations. Journal of Invertebrate Pathology [Internet] 2006 [Consultado 10 Ene 2020] 92: 141-145. Disponible en: <https://scihub.tw/https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.03.007>
6. Organización Panamericana de la Salud. Ministros de la Salud de las Américas acuerdan fortalecer acciones para prevenir las enfermedades transmitidas por vectores. OPS Colombia [Internet]. 2015 [Consultado 29 Jul 2019], Disponible en: https://www.paho.org/coL/index.php?option=com_content&view=article&id=3044:ministros-de-la-salud-de-las-americas-acuerdan-fortalecer-acciones-para-prevenir-las-enfermedades-transmitidas-por-vectores-leer-mas&Itemid=562
7. Angulo VM, Esteban L, Urbano P, Hincapié E, Núñez LA. Escenarios de transmisión de las principales enfermedades transmitidas por vectores en Colombia, 1990-2016. Biomédica [Internet]. 2016 [Consultado 29 Jul 2019];33(4):24. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v37s2/0120-4157-bio-37-s2-00027.pdf>
8. Nivia E. Los plaguicidas en Colombia. Rev Semillas. 2016 [Consultado 29 Jul 2019]. Disponible en: <http://www.semillas.org.co/es/los-plaguicidas-en-colombia>
9. Chaparro-Narváez P, Castañeda-Orjuela C. Mortalidad debida a intoxicación por plaguicidas en Colombia entre 1998 y 2011. Biomédica [Internet]. 2016 [Consultado 29 Jul 2019];35(0):90–102. Disponible en: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2472/2806>

- 10.A DPDG. Informe de Evento Intoxicaciones por Sustancias Químicas, Colombia, 2017. Inst Nac Salud [Internet]. 2016 [Consultado 29 Jul 2019];16. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/INTOXICACIONES%202017.pdf>
11. Superintendencia de industria y comercio. Estudio sobre plaguicidas en Colombia. Estud Económicos Sect [Internet]. 2016 [Consultado 19 Ago 2019];7(7):286. Disponible en: http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/Estudios-Academicos/Documentos-Elaborados-Grupo-Estudios-Economicos/7_Estudio_Sobre_Sector_Plaguicidas_Colombia_Diciembre_2013.pdf
12. Vega JP. Los agroquímicos son un mercado que mueve cerca de US\$600 millones al año. Agronegocios [Internet]. 2017 [Consultado 19 Ago 2019]. Disponible en: <https://www.agronegocios.co/agricultura/los-agroquimicos-son-un-mercado-que-mueve-cerca-de-600-millones-al-ano-2723848>
13. Gomez-Palacios J. Control biológico del cogollero del maíz Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: noctuidae) con aislados de Poliedrovirus. Universidad autónoma agraria antonio narro división de agronomía [Internet]. 2017 [Consultado 19 Ago 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3757/T17704%20GOMEZ%20PALACIOS,%20JOSE%20ELEAZAR%20%20TESIS.pdf?sequence=1>
14. Villamizar L, Cuartas P, Gómez J, Barrera GP, Espinel C, Lopez-ferber M. Entomopathogenic viruses in the biological control of insects. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros [Internet]. 2017 [Consultado 19 Ago 2019];(7):367-409. Disponible en: <https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/34072/CB%20CAPITULO%207%20-%20WEB.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
15. Clark TB, Kellen WR, Lum PT. A mosquito iridescent virus (MIV) from Aedes taeniorhynchus (Wiedemann). Journal of Invertebrate Pathology [Internet]. 1965. [Consultado 20 Feb 2020] 7(4), 519–521. Disponible en: [https://sci-hub.tw/10.1016/0022-2011\(65\)90133-3](https://sci-hub.tw/10.1016/0022-2011(65)90133-3)
16. Woodard DB, Chapman HC. Laboratory studies with the mosquito iridescent virus (MIV). Journal of Invertebrate Pathology [Internet] 1968 [Consultado 10 Ene 2020] ;11(2):296-301. Disponible en: [https://sci-hub.tw/http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011\(68\)90162-6](https://sci-hub.tw/http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011(68)90162-6)
17. Anderson, J. F. An Iridescent Virus Infecting the Mosquito Aedes stimulans. Journal of. Invertebrate Pathology [Internet]. 1970 [Consultado 10 Ene 2020] 15: 219-224. Disponible en: [https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/0022-2011\(70\)90238-7](https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/0022-2011(70)90238-7)
18. Organización Mundial de la Salud. Serie de informes técnicos. El empleo de virus para combatir plagas de insectos y vectores de enfermedades. FAO: estudios agropecuarios [Internet] N° 91. 1972 [Consultado 19 Ago 2019]. Disponible en:

- https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/38781/WHO_TRS_531_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
19. Derksen ACG, Granados RR. Alteration of a lepidopteran peritrophic membrane by baculoviruses and enhancement of viral infectivity. *Virology* [Internet] 1988 [Consultado 10 Ene 2020];167(1):242-250. Disponible en: [https://sci-hub.tw/http://dx.doi.org/10.1016/0042-6822\(88\)90074-8](https://sci-hub.tw/http://dx.doi.org/10.1016/0042-6822(88)90074-8)
 20. Undeen AH, Fukuda T. Effects of host resistance and injury on the susceptibility of *Aedes taeniorhynchus* to mosquito iridescent virus. *Journal of the American Mosquito Control Association* [Internet] 1994 [Consultado 10 Ene 2020] Mar;10(1):64-66. Disponible en: https://www.biodiversitylibrary.org/content/part/JAMCA/JAMCA_V10_N1_P064-066.pdf
 21. Andreadis TG, Becnel JJ, White SE. Infectivity and Pathogenicity of a Novel Baculovirus, CuniNPV from *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae) for Thirteen Species and Four Genera of Mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* [Internet] 2003 [Consultado 22 Ago 2019] Jul;40(4):512-517. Disponible en: <https://academic.oup.com/jme/article/40/4/512/998931>
 22. Jeremy P. Ledermann, Erica L. Suchman, William C. Black, Jonathan O. Carlson, Infection and Pathogenicity of the Mosquito Dengueviruses AeDENV, HeDENV, and APeDENV in *Aedes aegypti* Mosquitoes (Diptera: Culicidae), *Journal of Economic Entomology* [Internet], Volume 97, Issue 6, 1 December 2004 [Consultado 19 Ago 2019], Pages 1828–1835. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1093/jee/97.6.1828>
 23. Jimenez Martinez E, Sandino Diaz V, Valle Gomez N. Métodos de control de plagas. [Internet] Universidad Nacional Agraria Dirección de investigación, extensión, y posgrado. 2018 [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/2457/1/nh10j61c.pdf>
 24. Ren X, Hughes GL, Niu G, Suzuki Y, Rasgon JL. Anopheles gambiae dengue virus (AgDENV) has negligible effects on adult survival and transcriptome of its mosquito host. *PeerJ* [Internet]. 2018 [Consultado 21 Ago 2019];2:e584. Disponible en: <https://peerj.com/articles/584/>
 25. Barreto N, Rodriguez A, Martinez C, Memorias. XXXVII Congreso sociedad colombiana de entomología [Internet] 274-277. Pontificia Universidad Javeriana. 2018 [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: http://www.socolen.org.co/images/stories/pdf/37_Congreso.pdf
 26. Villamizar L, Espinel C, Cotes AM. Efecto de la radiación ultravioleta sobre la actividad insecticida de un nucleopoliedrovirus de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev Colomb Entomol* [Internet]. 2018 [Consultado 22 Ago 2019];35(2):116–21. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v35n2/v35n2a02.pdf>
 27. Montoya C, Bascuñan P, Rodriguez Zabala J, Correa M. Article O. Abundance, composition and natural infection of *Anopheles* mosquitoes from two malaria-endemic regions of Colombia *Rev Biomedica* [Internet]. 2018

- [Consultado 22 Ago 2019];(37):98–105. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3553/3695>
28. Montoya-Lerma J, Solarte YA, Giraldo-Calderón GI, Quiñones ML, Ruiz-López F, Wilkerson RC, et al. Malaria vector species in Colombia: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2018 [Consultado 23 Ago 2019];106 Suppl 1:223–38. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v106s1/28.pdf>
 29. Pérez-Pérez J, Sanabria WH, Restrepo C, Rojo R, Henano E, Triana O, et al. Vigilancia virológica de *Aedes (Stegomyia) aegypti* y *Aedes (Stegomyia) albopictus* como apoyo para la adopción de decisiones en el control del dengue en Medellín. *Biomédica* [Internet]. 2017 [Consultado 22 Ago 2019];37(2):155–66. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v37s2/0120-4157-bio-37-s2-00155.pdf>
 30. Andrés M, Esmeralda RG, Renteria-Iledzma AMLQPL. Actividad de picadura de *Culex quinquefasciatus* (SAY, 1863) en Bogotá, Colombia. *Rev Fac Med* [Internet]. 2018 [Consultado 23 Ago 2019];61(3):261–6. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/42654/4759>
 31. Cabrera OL, Mosquera L, Santamaría E. Flebótomos (Diptera: Psychodidae) del departamento de Guaviare, Colombia, con nuevos registros para el país. *Biomédica* [Internet]. 2018 [Consultado 23 Ago 2019];29(1):73. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/43/44>
 32. Contreras-Gutiérrez MA, Vélez ID, Porter C, Uribe SI. Lista actualizada de flebotómicos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) de la región cafetera colombiana. *Biomédica* [Internet]. 2017 [Consultado 23 Ago 2019];34(3):483–98. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v34n3/v34n3a17.pdf>
 33. Estrada LG, Aponte OA, Bejarano EE. Registros nuevos de especies de *Lutzomyia* (DIPTERA: PSYCHODIDAE) en el departamento de Cesar, Colombia. *Acta Biológica Colombiana* [Internet] 2015 Sep [Consultado 9 Ene 2020] 1,;20(3):225-228. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v20n3/v20n3a21.pdf>
 34. Kalman B. El ciclo de vida del mosquito [Internet]. New York, NY: Crabtree Pub. Co; 2005 [Consultado 3 Sep 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/spanish/MosquitoLifecycle-sp.pdf>
 35. Para Técnicos en Entomología y Control Vectorial, (Nivel Básico). Manual de Capacitación en Entomología de la Malaria. RTI International [Internet]. 2012 Septiembre [Consultado 5 Sep 2019] Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2012/2012-cha-manual-capacitacion-entomologia-malaria.pdf>
 36. EcuRed contributors. *Culex pipiens* [Internet]. *EcuRed*. [Actualizado 24 julio 2019. Consultado en Octubre de 2019]. Disponible en: https://www.ecured.cu/Culex_pipiens#Ciclo_de_vida
 37. Pan American Health Organization. Ciclo de vida del zancudo. Semana de acción contra mosquitos Guatemala [Internet] 2017 [Consultado 5 Sep 2019]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&ca

- [tegor_y_slug=afiches-2&alias=49864-semana-accion-contra-mosquitos-2017-guatemala-poster-3-873-1&Itemid=270&lang=es](#)
38. Transmisores de Dengue, Zika, Chikungunya y Fiebre Amarilla. *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. CEIP [Internet]. 2016 [Consultado 5 Sep 2019]. Disponible en: http://www.ceip.edu.uy/documentos/galerias/prensa/1243/pre_aedes_aegypti.pdf
 39. Gestión para la vigilancia, entomológica y control de la, transmisión de malaria [Internet]. [Consultado 30 Ago 2019] Disponible en: https://www.paho.org/col/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=publicaciones-ops-oms-colombia&alias=1221-gestion-para-la-vigilancia-entomologica-y-control-de-la-transmision-de-malaria&Itemid=688
 40. Gestión para la vigilancia, entomológica y control de la, transmisión de dengue. Gestión para la vigilancia entomológica y control de la transmisión de dengue. [Internet]. [Consultado 30 Ago 2019] Disponible en: https://www.paho.org/col/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=publicaciones-ops-oms-colombia&alias=1215-gestion-para-la-vigilancia-entomologica-y-control-de-la-transmision-de-dengue&Itemid=688
 41. Oliveira, Anna E M F M, Duarte JL, Cruz RAS, Souto RNP, Ferreira RMA, Peniche T, et al. *Pterodon emarginatus* oleoresin-based nanoemulsion as a promising tool for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) control. *Journal of nanobiotechnology* [Internet]. 2017 [Consultado 15 Ago 2019] Jan 3,;15(1):2. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5209835/>
 42. Da Silva Ramos R, Rodrigues ABL, Farias ALF, Simões RC, Pinheiro MT, Ferreira, Ricardo Marcelo Dos Anjos, et al. Chemical Composition and In Vitro Antioxidant, Cytotoxic, Antimicrobial, and Larvicidal Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). *TheScientificWorldJournal* [Internet] 2017 [Consultado 3 Sep 2019];2017:4927214. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5237462/>
 43. Riveros Toledo I, Lugo L, Cárdenas E. Efecto insecticida de cuatro aceites esenciales sobre adultos de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* en condiciones experimentales. *Entomotrópica: Revista internacional para el estudio de la entomología tropical* [Internet] 2013 [Consultado 10 Feb 2020] ;28(1):1-10. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/278312555_Efecto_insecticida_de_cuatro_aceites_esenciales_sobre_adultos_de_Aedes_aegypti_y_Anopheles_albimanus_en_condiciones_experimentales
 44. Imbahale, S.S., Mweresa, C.K., Takken, W. *et al.* Development of environmental tools for anopheline larval control. *Parasites Vectors* [Internet] 2011 [Consultado 22 Ago 2019] 4, 130. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-130>.

45. Hamouda S, Samraoui B. Ecological impact of *Gambusia affinis* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) on the Aquatic Environments. *Journal of Animal and Veterinary Advances* [Internet] 2007 [Consultado 22 Ago 2019];6(6):828-832. Disponible en: <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2007/828-832.pdf>
46. Coelho WMD, de Carvalho Apolinário Coêlho, Juliana, Bresciani KDS, Buzetti WAS. Biological control of *Anopheles darlingi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae using shrimps. *Parasite Epidemiology and Control* [Internet] 2017 [Consultado 22 Ago 2019] Aug;2(3):91-96. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5952683/>
47. Gómez-Vargas W, Valencia-Jiménez K, Correa-Londoño G, Jaramillo-Yepes F. Novel larvicide tablets of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: Assessment of larvicidal effect on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Colombia. *Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud* [Internet] 2018 [Consultado 20 Ago 2019] Aug 1,;38:95-105. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3940/3996>
48. Ocampo CB, Giraldo Calderon GI, Pérez M, Morales CA. Evaluación del triflumurón y la mezcla de *Bacillus thuringiensis* más *Bacillus sphaericus* para el control de las formas inmaduras de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* en sumideros en Cali, Colombia. *Biomédica* [Internet] 2008 [Consultado 18 May 2020] Jun 1,;28(2):224-233. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/93/91>
49. Ernst-Jan Scholte, Bart G.J. Knols, Robert A. Samson, Willem Takken, Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review. *Journal of Insect Science* [Internet], Volume 4, Issue 1, 2004 [Consultado 18 Ago 2019], 19. Disponible en: <https://academic.oup.com/jinsectscience/article/4/1/19/885790>
50. Pelizza SA, Scorsetti AC, Tranchida MC. Los efectos subletales del hongo entomopático *Leptogorgia chapmanii* en algunos parámetros biológicos del vector del dengue *Aedes aegypti*. *J Insect Sci* [Internet]. 2013 [Consultado 20 Ago 2019]; 13:22. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3735114/>
51. García-Munguía AM, Garza-Hernández JA, Rebollar-Tellez EA, Rodríguez-Pérez MA, Reyes-Villanueva F. Transmission of *Beauveria bassiana* from male to female *Aedes aegypti* mosquitoes. *Parasites & vectors* [Internet] 2011 [Consultado 20 Ago 2019] Feb 26,;4(1):24. <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-24>
52. Bukhari ST, Takken W, Koenraadt CJM. Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. *Parasites & Vectors* [Internet] 2011 [Consultado 20 Ene 2020];4(1):23. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-23>

53. Dicistroviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. Marzo 2017 [Consultado 20 Ene 2020]. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/picornavirales/w/dicistroviridae
54. Género Cripavirus. Familia Dicistroviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/picornavirales/w/dicistroviridae/560/genus-cripavirus
55. Triatovirus. Familia Dicistroviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. [Consultado 22 Ago 2019] Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-ense-rna-viruses/picornavirales/w/dicistroviridae/561/genus-triatovirus
56. Ascoviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. Diciembre 2016 [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/ascoviridae
57. Género Iridovirus, Familia Iridoviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. [Consultado 22 Ago 2019] Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/iridoviridae/613/genus-iridovirus
58. Baculoviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. Junio 2018 [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/baculoviridae
59. Sciocco de Cap, A. Biología y pathogenesis de los baculovirus. Los Baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Universidad pública de Navarra, Phytoma. 2001 Pp 47-72.
60. Poxviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. 2011 [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsdna-viruses-2011/w/dsdna_viruses/74/poxviridae
61. Género Deltabaculovirus, Familia Baculoviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsdna-viruses/w/baculoviridae/960/genus-deltabaculovirus
62. Género Brevidensovirus. Familia Parvoviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. [Consultado 22 Ago 2019]. Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/parvoviridae/1050/genus-brevidensovirus
63. Erica L. Suchman, Joseph Piper, Megan Wise De Valdez, Brian Kleker, Lenden Neeper, Emily Plake, et al. Aedes aegypti Densonucleosis Virus Amplifies, Spreads, and Reduces Host Populations in Laboratory Cage Studies. Journal of Medical Entomology [Internet] 2009 [Consultado 19 Ago 2019];46(4):909-918. Disponible en: <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1603/033.046.0425>

64. Género Parvoviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. Diciembre 2018. [Consultado 22 Ago 2019] Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/parvoviridae#Virion.
65. Barik TK, Suzuki Y, Rasgon JL. Factors influencing infection and transmission of Anopheles gambiae densovirus (AgDNV) in mosquitoes. PeerJ [Internet] 2016 [Consultado 12 Sep 2019];4:e2691. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5111888/>
66. Suzuki Y, Barik TK, Johnson RM, Rasgon JL. In vitro and in vivo host range of Anopheles gambiae densovirus (AgDNV). Scientific reports [Internet] 2015 Jul 29 [Consultado 19 Ago 2019];5(1):12701. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4518260/>
67. Birnaviridae. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. Octubre 2018. [Consultado 22 Ago 2019] Disponible en: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/dsrna-viruses/w/birnaviridae
68. Vancini R, Paredes A, Ribeiro M, Blackburn K, Ferreira D, Kononchik JP Jr, et al. Espirito Santo Virus: a New Birnavirus That Replicates in Insect Cells. Journal of Virology [Internet] 2012 Mar 1;86(5):2390-2399. [Consultado 22 Feb 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3302246/#B8>
69. Fukuda T, Clark TB. Transmission of the mosquito iridescent virus (RMIV) by adult mosquitoes of Aedes taeniorhynchus to their progeny. Journal of Invertebrate Pathology [Internet] 1975;25(2):275-276. [Consultado 22 Feb 2020]. Disponible en: [https://sci-hub.tw/10.1016/0022-2011\(75\)90080-4](https://sci-hub.tw/10.1016/0022-2011(75)90080-4)
70. Chapman, H. C., Clark, T. B., Woodard, D. B., Kellen, W. R. Additional hosts of the mosquito iridescent virus. Journal of Invertebrate Pathology [Internet] 1966 [Consultado 10 Ene 2020] 8: 545-546. Disponible en: [https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/0022-2011\(66\)90089-9](https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/0022-2011(66)90089-9)
71. Adams, J. R., Bonami, J. R. Introduction and classification of viruses of invertebrates. Atlas of Invertebrate Viruses 1991 [Consultado 10 Ene 2020] 1-8.
72. Enfermedades transmitidas por vectores. Organización Mundial de la Salud [Internet]. 2 de Marzo de 2020 [Consultado 1 Nov 2019] <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
73. Ardila MM, Carrillo-Bonilla L, Pabón A, Robledo SM. Surveillance of phlebotomine fauna and Didelphis marsupialis (Didelphimorphia: Didelphidae) infection in an area highly endemic for visceral leishmaniasis in Colombia. Biomédica [Internet] 2019 Jun 15 [Consultado 10 Feb 2020] ;39(2):252-264. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3905/4070>
74. Padilla JC, Lizarazo FE, Murillo OL, Mendigaña FA, Pachón E, Vera MJ. Transmission scenarios of major vector-borne diseases in Colombia, 1990-2016. Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud [Internet] 2017

- [Consultado 1 Nov 2019] Mar 29,;37:27-40. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3769/3688>
75. Boletín epidemiológico semanal 09 de 2020. Instituto Nacional de Salud [Internet]. 2020 Feb 29 [Consultado 9 Mar 2020]. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2020_Boletin_epidemiologico_semana_9.pdf
76. Informe técnico entomológico de arbovirus, Colombia 2018. Dirección redes en salud pública, subdirección laboratorio nacional de, referencia, grupo de entomología [Internet]. 2019 [Consultado 15 Oct 2019] Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe-tecnico-entomologico-Arbovirus-2018.pdf>
77. Plaguicidas: peligro no termina con prohibirlos [Internet]. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 30 de Abril de 2018. [Consultado 19 Sep 2019]. Disponible en: <https://www.palmira.unal.edu.co/index.php/noticias/palmira/486-plaguicidas-peligro-no-termina-con-prohibirlos>
78. Listado de plaguicidas prohibidos en Colombia. Subgerencia protección y regulación agrícola, restricciones y prohibiciones de plaguicidas de uso agrícola en, colombia, subgerencia protección y regulación agrícola restricciones, prohibiciones y suspensión de registros de plaguicidas de uso, agrícola en Colombia. Anexo 4 [Internet]. [Consultado 15 Oct 2019] Disponible en: https://www.minagricultura.gov.co/convocatorias/Documents/Apertura_Registro_2016_2018/Anexo_4_listado_de_plaguicidas_prohibidos_en_Colombia.pdf
79. Daniel G. Fernández A., Liliana C. Mancipe G. y Diana C. Fernández A. Intoxicación por organofosforados. Rev. fac. med [Internet] 2010 [Consultado 15 Oct 2019](8):84-92. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/med/v18n1/v18n1a09.pdf>
80. Guía de prevención y manejo de la intoxicación por insecticidas Carbamatos y Organofosforados y medición de Colinesterasa. Centro nacional de programas preventivos y control de enfermedades, CENAPRECE. Estados Unidos Mexicanos [Internet]. [Consultado 15 Oct 2019]. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/55007/GuiaPrevencionManejoIntoxicacion.pdf>
81. Bisset JA. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. Revista Cubana de Medicina Tropical [Internet] 2002 [Consultado 15 Oct 2019] Dec 1,;54(3):202-219. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602002000300005
82. Bellinato DF, Viana-Medeiros PF, Araújo SC, Martins AJ, Lima JBP, Valle D. Resistance Status to the Insecticides Temephos, Deltamethrin, and Diflubenzuron in Brazilian Aedes aegypti Populations. BioMed research

- international [Internet] 2016 [Consultado 1 Sep 2019] ;2016:8603263. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4932163/>
83. Khan HAA, Akram W, Shehzad K, Shaalan EA. First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), from Pakistan. *Parasites & vectors* [Internet] 2011 [Consultado 1 Sep 2019] Jul 22;4(1):146. Disponible en: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-146>
84. Morales D, Ponce P, Cevallos V, Espinosa P, Vaca D, Quezada W. Resistance Status of *Aedes aegypti* to Deltamethrin, Malathion, and Temephos in Ecuador. *Journal of the American Mosquito Control Association* [Internet] 2019 [Consultado 20 Feb 2020] Jun;35(2):113-122. Disponible en: <https://mosquito-jamca.org/doi/pdf/10.2987/19-6831.1>
85. McInnis SJ, Goddard J, Deerman JH, Nations T, Varnado WC. Insecticide Resistance Testing of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* from Mississippi. *Journal of the American Mosquito Control Association* [Internet] 2019 [Consultado 20 Feb 2020] Jun;35(2):147-150. Disponible en: <https://mosquito-jamca.org/doi/pdf/10.2987/18-6795.1>
86. Red de vigilancia de la resistencia a insecticidas de uso en salud pública en Colombia. Instituto Nacional de Salud [Internet] 2018 [Consultado 1 Sep 2019] Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe-VRI-2018.pdf>
87. Gillespie and JP, Kanost MR, Trenczek T. Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology* [Internet] 1997 [Consultado 14 May 2020] Jan;42(1):611-643. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.ento.42.1.611>