

Competencia vectorial: consideraciones entomológicas y su influencia sobre la epidemiología del Dengue

Diana Carolina Quintero Gil¹, Jorge Emilio Osorio Benítez², Marlén Martínez-Gutiérrez³

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por vectores constituyen un complejo problema de salud en el ámbito mundial, especialmente en áreas tropicales y subtropicales, que por sus condiciones ambientales favorecen la supervivencia del vector. El dengue es la principal enfermedad transmitida por vectores en el mundo, cuyo agente etiológico es el Virus Dengue, el cual es transmitido por la picadura de mosquitos hematófagos de la especie *Aedes aegypti*. La interacción virus-vector es esencial para una transmisión efectiva y depende de factores tanto virales como vectoriales. Entre los factores relacionados con el vector, la competencia vectorial es considerada de gran importancia, pues se refiere a la capacidad intrínseca del vector para infectarse con el virus, permitir su replicación y posteriormente su transmisión a un huésped susceptible. A su vez, la habilidad para ser un buen vector depende principalmente de barreras naturales a la infección, barreras inmunológicas y presencia de receptores específicos para el virus. Todas estas características, sumadas a las características propias del virus, favorecerán o no la transmisión del mismo. Un estudio integral de la relación virus-vector permitirá comprender sus implicaciones en la epidemiología de la enfermedad. Estos temas han sido revisados en el presente documento, discutiendo su importancia dentro del contexto entomológico y epidemiológico.

Palabras clave

Aedes aegypti, Competencia vectorial, Virus Dengue

SUMMARY

Vector competence: Entomological considerations and its implications on the epidemiology of Dengue

Vector-borne diseases are a serious problem in public health, especially in tropical and subtropical areas where environmental conditions favor the survival and expansion of vectors into new habitats. Dengue fever is one of the most important vector-borne diseases transmitted by arthropods

¹ Bióloga. Becaria Programa Jóvenes Investigadores-COLCIENCIAS. Estudiante de Maestría. Instituto de Biología. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET. Universidad de Antioquia.

² Médico veterinario PhD. Assistant Professor of Infectious Diseases Department of Pathobiological Sciences. School of Veterinary Medicine. University of Wisconsin-Madison. USA. Director Unidad Virosis Tropicales. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET. Universidad de Antioquia. Profesor Ad Honorem, Universidad de Antioquia.

³ Bacterióloga. MSc. PhD (c). Coordinadora Unidad Virosis Tropicales. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales –PECET. Universidad de Antioquia. Docente de cátedra Universidad de Antioquia.

Correspondencia: Marlén Martínez Gutiérrez mmartinezg@pecet-colombia.org

Recibido: septiembre 14 de 2009

Aceptado: febrero 17 de 2010

(arbovirosis) worldwide. The etiologic agent of the disease is the dengue virus, which is transmitted by the bite of bloodsucking *Aedes aegypti* mosquitoes. The virus-vector interaction is essential for the efficient transmission of the disease, and depends on both, viral factors and vector competence or intrinsic vector capacity to be infected with the virus. Vector competence allows virus replication and subsequent transmission to susceptible hosts. Factors that influence vector capacity include: natural barriers to infection, immunological defenses as well as the presence of receptors for the virus. All these factors in addition to the viral characteristics will determine the degree of transmission. There is a need for a better understanding of the virus-vector relationship and its epidemiological implications. These issues are addressed in this article.

Key words

Aedes aegypti, Dengue virus, Vector competence

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades virales transmitidas por artrópodos, o arbovirosis, son enfermedades de gran importancia en el mundo, pues los insectos vectores colonizan rápidamente nuevos hábitats urbanos incrementando la problemática en salud. En la actualidad, la arbovirosis de mayor importancia mundial es la causada por el Virus Dengue (DENV, por sus siglas del inglés Dengue Virus), la cual puede presentarse en varias formas clínicas comúnmente conocidas como Dengue, ya sean leves, como la Fiebre de Dengue (DF); o severas, como la Fiebre de Dengue Hemorrágico (FDH) o el Síndrome de Shock hipovolémico (SSD). El desarrollo de las formas severas de la enfermedad se ha asociado a múltiples factores, algunos relacionados con el virus mismo y la virulencia de algunas cepas, y otros relacionados con la respuesta inmune del hospedero.¹ Cada año se reportan cerca de 50 millones de casos de Dengue en el mundo, principalmente en áreas tropicales y subtropicales, siendo algunas regiones de los continentes Asiático,^{2,3} Africano⁴ y Americano⁵ las más afectadas, lo que equivale a decir que cerca de la mitad de la población mundial se encuentra en riesgo de padecer las enfermedades causadas por DENV. Según datos de la Organización Panamericana de Salud, en el año 2008 se reportaron cerca de 90 mil casos de fiebre por DENV en la región Andina, cifras a las que Colombia aportó 26.738 casos

reportados como sospechosos y 3.394 confirmados por laboratorio.⁶ En América y en particular en Colombia, la problemática en salud ocasionada por el DENV se ha agravado en los últimos años debido en gran parte, a que la población de vectores ha ido en aumento⁷ porque desafortunadamente las estrategias de control no han resultado del todo efectivas.⁸ Adicionalmente, existe un pobre conocimiento de la interacción virus-vector, siendo este hecho de gran importancia en países endémicos como el nuestro, en el que co-circulan serotipos, genotipos y cepas virales que pueden ser transmitidas de una forma más o menos eficiente en el vector, situación que hace plantear la necesidad de evaluar la forma en que el vector puede aportar a la transmisión del virus, y las consecuencias epidemiológicas de la interacción virus-vector.

AGENTE ETIOLÓGICO: DENV

El DENV es un virus envuelto, de cerca de 11Kb, cuyo genoma es una cadena sencilla de RNA con polaridad positiva, que pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus*.⁹ Se han identificado cuatro serotipos de DENV antigénicamente diferentes (DENV-1 a DENV-4) y a su vez dentro de cada serotipo se encuentran variaciones genéticas que originan subtipos o genotipos filogenéticamente diferenciables por secuenciación del gen de la proteína de envoltura viral¹⁰ (tabla n.º 1). Algunos de estos genotipos son de amplia distribución, como el genotipo III (serotipo 1) mientras que otros están restringidos a localidades particulares, o incluso son considerados extintos como el genotipo IV (serotipo 3).^{11,12} Finalmente, dentro de cada genotipo existen cepas caracterizadas por compartir un ancestro común, pero que difieren entre ellas por sustituciones nucleotídicas producto de la deriva genética y de eventos de selección específicos del hospedero.¹³ La co-circulación de los cuatro serotipos en regiones geográficas específicas se ha asociado con el potencial epidémico,¹⁴ lo que resulta de particular interés en nuestro país, pues a pesar de que en los últimos años el serotipo predominante ha sido DENV-3¹⁵⁻¹⁷ es frecuente la co-circulación de los cuatro serotipos.¹⁸

VECTOR

Los mosquitos del género *Aedes* (Diptera: *Culicidae*, Subgénero *Stegomyia*) son considerados los vectores

naturales del DENV, siendo *Aedes aegypti* el principal vector en áreas urbanas¹⁹ y *Aedes albopictus* el segundo vector en importancia.¹⁰ Adicionalmente, otras especies de *Aedes* como *A. luteocephalus*, *A. furcifer*, *A. taylori*, y *A. vittatus*, han sido descritas como vectores activos en el ciclo selvático en el oeste del continente Africano.¹⁰ En general, estos mosquitos habitan zonas por debajo de los 2000 metros sobre el nivel del mar (msnm), no obstante existen en nuestro país algunos registros de su presencia en zonas por encima de 2200 msnm.²⁰

En los mosquitos, la frecuencia de alimentación está determinada por la necesidad de ingerir sangre para completar su ciclo gonotrófico (tiempo durante el cual los ovarios maduran hasta convertirse en folículos desarrollados completamente).²¹ En el caso de la hembra de *A. aegypti* este ciclo incluye por lo general una sola ingesta de sangre, aunque en algunos casos puede alimentarse varias veces dentro del mismo ciclo con el fin de aumentar la dispersión de su progenie.²² Una vez ha completado su ciclo gonotrófico la hembra oviposita en depósitos de agua debido a que las larvas y pupas dependen de este medio para su subsistencia. Por esta razón, el desarrollo de estos vectores, en especial de *A. aegypti*, está directamente relacionado con los asentamientos humanos ya que estos proporcionan criaderos artificiales que favorecen la reproducción del vector.²³ *A. albopictus* es el segundo vector en importancia. En Colombia, se reportó su presencia por primera vez en la región del Amazonas a finales de los 90s,²⁴ pero reportes más recientes indican que este vector ha avanzado a regiones más centrales del país,²⁵ hecho de gran relevancia epidemiológica, puesto que esta especie es considerada como el principal vector en algunas regiones de Europa y Asia, aunque comparta hábitat con *A. aegypti*.²⁶

INTERACCIÓN VECTOR-VIRUS

Después de que el virus es ingerido por el mosquito, mediante el proceso de picadura de un hospedero virémico, se transporta hasta las células epiteliales del intestino medio donde se replica.²⁷ Posteriormente, la progenie viral es liberada, diseminándose a través de la hemolinfa a los órganos blanco secundarios (tráquea, cuerpo graso, musculatura torácica, túbulos de Malpighi, ovarios, sistema nervioso) hasta que finalmente llega a las glándulas salivares, las cuales son consideradas como los órganos más importantes para una transmisión efectiva.²⁸ Desde allí el virus es liberado en la saliva durante la picadura del mosquito a un nuevo hospedero.²⁹

La replicación del virus dentro del vector requiere de un periodo de tiempo conocido como periodo de incubación extrínseco (PIE), el cual tiene una duración de 7 a 14 días, y que depende de la cepa de mosquito, del serotipo viral y de las características ambientales que le confieran viabilidad al mosquito.³⁰ El PIE comienza en el momento en que el mosquito ingiere la sangre infectada y termina cuando el mosquito pica nuevamente e infecta otro hospedero.²⁸

Para que la diseminación viral dentro del vector sea exitosa, el virus deberá poder replicarse en las células del intestino medio, liberando nuevos viriones que infectarán células vecinas hasta llegar a los órganos blanco secundarios. Si las características genéticas del vector impiden que el virus establezca una infección en el intestino medio, se dice que ha ocurrido una barrera de infección al intestino medio (MIB, del inglés Midgut Infection Barrier). Una vez los viriones superan esta primera barrera deberán tener la capacidad de diseminarse e infectar órganos blanco secundarios, superando así la barrera de escape al intestino medio (MEB, del inglés Midgut Escape Barrier).²⁷

Hasta el momento nos hemos referido a las características del virus y de algunos aspectos del vector, pero la interacción del virus con el mosquito es un evento clave en la transmisión del DENV, pues para que esta sea efectiva, se deben cumplir ciertas características que le permitan al virus completar su ciclo dentro del vector; el conjunto de características que hacen del mosquito un buen vector ha sido denominado capacidad vectorial.

CAPACIDAD VECTORIAL

La efectiva transmisión del DENV se asocia principalmente a las características que le permiten al vector, bajo condiciones espacio-temporales dadas, transmitir el patógeno. La habilidad para transmitir un patógeno es conocida como capacidad vectorial.²⁷ La capacidad vectorial de especies que son vectoras de enfermedades infecciosas comprende factores extrínsecos o ecológicos entre los que se encuentran la longevidad, el PIE y la abundancia del vector; y factores intrínsecos, relacionados con las bases genéticas del vector los cuales incluyen la susceptibilidad a la infección, la permisividad para el desarrollo del patógeno y la eficiencia en la transmisión, los cuales son definidos en conjunto como competencia vectorial.^{19,31}

COMPETENCIA VECTORIAL

La competencia vectorial, definida como la habilidad intrínseca del vector para transmitir una enfermedad causada por un patógeno,³² está determinada principalmente por factores genéticos que influyen sobre la capacidad del vector de transmitir tal agente infeccioso. Cuantitativamente, puede definirse como el número de picaduras infecciosas que un hospedero recibe diariamente; en otras palabras, es una medida del potencial que tiene un vector de ser infectado y posteriormente, de poder transmitir el patógeno.²⁷

La capacidad vectorial comprende tanto la interacción del vector con el patógeno, como la interacción de éste con el hospedero; mientras que la competencia vectorial está restringida exclusivamente a la interacción vector-patógeno.³² Por lo tanto, la competencia vectorial depende de factores propios del vector (genéticos) como de factores relacionados al patógeno, los cuales discutiremos a continuación.

Factores dependientes del vector

- **Receptores virales en órganos blanco del vector**

Como se mencionó anteriormente, de la presencia de receptores virales en las células del intestino dependerá el inicio de una infección exitosa. Las proteínas de 67 y 80KDa del intestino medio de *A. aegypti* se han postulado como receptores para los cuatro serotipos de DENV.³³ Para determinar la importancia de estas proteínas en la competencia vectorial se llevaron a cabo ensayos usando tres cepas de mosquitos cuyas diferencias en la susceptibilidad a la infección las hacían refractarias (resistentes), susceptibles, o susceptibles sólo a la infección en células de intestino medio (mosquitos en los cuales la infección no se diseminaba). En la cepa refractaria, una variante de 64KDa de la proteína de 67KDa resultó ser más abundante en las células del intestino medio, y en esta misma cepa se observó una disminución en los niveles de infección de estas células respecto a las células de cepas de mosquitos susceptibles, en las cuales se expresaba la proteína de 67KDa con su peso normal.³⁴ A raíz de lo anterior, la proteína de 67KDa ha sido postulada como un marcador de competencia vectorial, y se sugiere que aquellos individuos que tienen en la superficie de sus células epiteliales esta proteína pueden ser más susceptibles a la infección con DENV-2. Una vez establecida la infección en el intestino del vector, el virus

debe diseminarse hasta las glándulas salivares, órganos esenciales para la transmisión a un nuevo hospedero. Estudios recientes han permitido identificar proteínas en glándulas salivares de mosquitos del género *Aedes* que pueden llegar a estar involucradas en la entrada de los cuatro serotipos de DENV a estos órganos.³⁵ Usando ensayos de unión a proteínas virales se han identificado en extractos de glándulas salivares de mosquitos *A. aegypti* cuatro proteínas, de 77, 58, 54 y 37 KDa respectivamente, capaces de unirse a los cuatro serotipos de DENV;³⁵ estos primeros estudios abren la puerta a investigaciones que permitan caracterizar los receptores involucrados en la entrada del virus a las glándulas salivares del vector.

- **Barreras naturales a la infección**

Si luego de ser ingeridos los virus la infección es bloqueada en el intestino medio del vector, se considera que la MIB, fue efectiva; pero si el virus logra superar esa barrera, replicándose en el intestino medio, pero sin lograr el paso a la hemolinfa y diseminarse a otros órganos, se considera que la MEB fue efectiva.²⁹ En *A. aegypti* estas dos barreras están bajo el control de dos locus, uno que controla la MIB y otro que controla la MEB; la presencia o ausencia de los genes que componen estos locus pueden contribuir a los estados de susceptibilidad o resistencia a la infección.³¹ En el año 2002 se reportó la variación en la competencia vectorial en diferentes colecciones de *A. aegypti* provenientes de México y Estados Unidos, basados en la caracterización de los mosquitos según la presencia o ausencia de estas barreras a la infección.³⁶ Este estudio reportó que poblaciones de mosquito que presentaban bajas MIB y MEB mostraron tener una mayor susceptibilidad a la infección, lo cual se correlaciona directamente con un aumento en la competencia vectorial de estas poblaciones de *A. aegypti*.³⁶ La expresión de una característica fenotípica tan compleja, como la competencia vectorial, está bajo el control de múltiples locus de genes, los cuales adicionalmente pueden verse influenciados por factores ambientales. La suma de estos factores (genéticos y ambientales) convierten al vector en un individuo susceptible o resistente a la infección que puede heredar a su progenie este fenotipo, ya que estos estados están asociados a genes particulares. Este tipo de herencia, originada a partir del control de varios genes y de la influencia del ambiente, se conocen como herencia de rasgos cuantitativos, puesto que las características asociadas al

genotipo y fenotipo adquiridos están bajo el control de múltiples genes.³¹ En los últimos años se han encontrado genes pertenecientes a *loci* de rasgos cuantitativos (QTLs, por sus siglas del inglés Quantitative Trait Loci) en los cromosomas I, II y III de mosquitos *A. aegypti* que están involucrados en la habilidad del vector de transmitir el DENV; estos resultados han sido obtenidos gracias al cruce de cepas de mosquitos refractarias y resistentes a la infección, las cuales han permitido el mapeo de estos grupos de genes.³⁷ En Colombia se han hecho estudios similares, por inmunofluorescencia de órganos de los mosquitos infectados experimentalmente, en los que se han identificado cepas de campo susceptibles o

resistentes a la infección con DENV-2; estas cepas han sido caracterizadas según el porcentaje de susceptibilidad o resistencia a la infección respecto a una cepa de mosquitos con un porcentaje alto de competencia vectorial.³⁸ Aunque el mapeo de los genes involucrados en la resistencia natural de estas poblaciones aún no se ha hecho, se han logrado identificar los niveles de expresión de algunos genes que pueden estar involucrados en el fenotipo de susceptibilidad y/o resistencia a la infección, los cuales se expresaban en intestino medio de mosquitos *A. aegypti*, con el fin de determinar si se relacionaban con la competencia vectorial.³⁹

Tabla n.º 1. Distribución geográfica mundial de los genotipos que componen cada uno de los cuatro serotipos de DENV

Serotipo	Genotipo	Origen geográfico	Referencias
DENV-1	I	Sudeste Asiático, China, Este de África	55-56
	II	Tailandia	
	III	Cepas Selváticas aisladas en Malasia	
	IV	Islas del oeste del Pacífico y Australia	
	V	América, Oeste de África y algunas Asiáticas	
DENV-2	Americano	América Latina, Caribe, India e islas del Pacífico	57
	Asiático 1	Malasia y Tailandia	
	Asiático 2	Vietnam, China, Taiwan, Sri Lanka y Filipinas	
	Americano/Asiático Cosmopolitan	Tailandia, Vietnam, América Amplia distribución	
DENV-3	I	Indonesia, Malasia, Filipinas, Islas del Pacífico	58-59
	II	Tailandia, Vietnam, Bangladesh	
	III	Sri Lanka, África, India, Samoa	
	IV	Puerto Rico, América central, América Latina, Tahití	
DENV-4	I	Tailandia, Sri Lanka, Filipinas, Japón	60-62
	II	Indonesia, Malasia, Tahití, Caribe, América	
	III	Tailandia	
	IV	Selváticas	

• Barreras inmunológicas a la infección

El intestino medio es una de las principales barreras de protección del vector, pues representa tanto una barrera física como una barrera inmunológica, ya que las células epiteliales que lo componen secretan factores de la inmunidad innata encargados de limitar la infección, como las defensinas y las enzimas proteolíticas secretadas dentro del lumen del intestino medio.⁴⁰ Una de las vías por las que se regulan los mecanismos relacionados con

la inmunidad innata en insectos es la vía de receptores tipo Toll; se ha visto que la activación de esta vía de señalización es clave en la regulación de la infección por DENV-2, puesto que al inducir experimentalmente la activación de esta vía se ve una disminución en los niveles de infección, mientras que la regulación negativa de la misma origina su incremento.³⁰ El RNA de interferencia (RNAi) es otro potente mecanismo antiviral considerado como parte de la inmunidad innata en insectos.⁴¹ En

mosquitos *A. aegypti* y en cultivos de células de esta misma especie (Aag2) infectados artificialmente con DENV-2, se ha reportado la producción de RNAi específicos contra este virus, los cuales, aunque no evitan completamente la replicación, si pueden estar participando en la disminución de los niveles de infección.⁴²

- **Tamaño corporal del vector**

Otro factor del vector que se ha relacionado con su capacidad para diseminar el virus es su tamaño corporal, el cual se espera que pudiera servir como un patrón predictivo de la competencia vectorial en mosquitos del género *Aedes*.⁴³ Respecto a la influencia entre el tamaño del vector sobre la competencia vectorial, las posiciones son ambiguas; algunos estudios han demostrado que no existen diferencias significativas en cuanto a la relación de la susceptibilidad a la infección con DENV y el tamaño del vector⁴⁵ y que estas diferencias en tamaño no se correlacionan con los niveles de infección en intestino medio y cabezas de los mosquitos empleados en el estudio.³¹ De otro lado, tanto la competencia vectorial como el tamaño, son rasgos que no dependen exclusivamente de la genética del individuo, sino que también se ven afectados por factores ambientales (efectos pleiotrópicos); en estas condiciones, determinar el grado de susceptibilidad a la infección⁴⁵ dependiendo de la relación entre tamaño y competencia vectorial es un campo de estudio abierto, como se discutirá con un ejemplo en el siguiente apartado.

- **Competencia entre especies del vector por el hábitat**

La competencia inter-específica por el hábitat acuático entre larvas de *A. aegypti* y *A. albopictus* ha sido considerada como un factor determinante en el tamaño de los mosquitos adultos. La reducción de la disponibilidad de recursos para una población conlleva la disminución del tamaño de los individuos adultos, situación que afecta directamente la cantidad de ingestas de sangre que la hembra tenga durante su vida. De esta manera, individuos de menor tamaño podrán aumentar el número de veces que ingieren sangre, incrementando así el riesgo de transmisión del virus.⁴⁴ Adicionalmente, se ha demostrado que hembras de *A. aegypti* de menor tamaño tienen mayores niveles de infección y diseminación que hembras de mayor tamaño⁴⁵ favoreciendo la hipótesis propuesta. Estos reportes sugieren que la competencia entre las larvas por el hábitat acuático debe considerarse

como otro factor determinante para la evaluación de la competencia vectorial.

Factores dependientes del virus

- **Serotipos Virales**

Como se mencionó anteriormente, en regiones endémicas co-circulan permanentemente los cuatro serotipos del DENV, lo que podría favorecer la existencia de infecciones mixtas con varios serotipos en el vector, afectando la competencia vectorial frente a uno u otro serotipo. Sin embargo, son pocos los estudios de infección mixta que se conocen, y hasta el momento la evaluación ha sido *in vitro* y teniendo como base infecciones individuales.⁴⁶ Con estos estudios se ha demostrado que en infecciones mixtas con los serotipos 2 y 4 los niveles de replicación entre las cepas disminuyen respecto a las infecciones individuales de cada serotipo, y adicionalmente, en las infecciones mixtas los niveles de replicación de DENV-2 fueron menores que los de DENV-4, a pesar de que en infecciones individuales los niveles fueron similares.⁴⁶ En nuestra línea de investigación hemos venido trabajando en estudios similares, en los que se han comparado los niveles de infección con los serotipos 2 y 3 en infecciones individuales de mosquitos *A. aegypti*.⁴⁷ En estos ensayos, los mosquitos son alimentados oralmente con sangre que contiene la misma cantidad de virus de cada serotipo; la cuantificación de genoma viral mediante la técnica de PCR en tiempo real a partir de RNA extraído de céfalotórax de estos mosquitos en diferentes días post-alimentación indican que existen diferencias en la cantidad de genoma viral detectado entre los dos serotipos, observándose una mayor cantidad de genoma viral en mosquitos infectados con DENV-2 respecto a mosquitos infectados con DENV-3, lo cual sugiere una replicación más efectiva de este serotipo en estos mosquitos.⁴⁷ Estos primeros resultados pueden estar sugiriendo variaciones en la competencia vectorial de *A. aegypti* a dos serotipos del virus de gran importancia epidemiológica.

- **Genotipos virales**

El genotipo asiático perteneciente al serotipo 2 (DENV-2) se encuentra más ampliamente distribuido en el mundo¹⁹ y se asocia generalmente con la severidad de la enfermedad.⁴⁸ Adicionalmente, se ha postulado que tiende a desplazar al genotipo americano perteneciente

también al serotipo 2⁴⁹ razón por la cual hay un interés en estudiar las diferencias en competencia vectorial de estos dos genotipos. Los estudios demuestran que los virus pertenecientes al genotipo asiático tienen mayor potencial de infección en mosquitos del género *Aedes*, lo cual implica un mayor potencial epidémico de estos virus,^{19,50} y por tanto, una mayor probabilidad también de causar epidemias e infecciones más severas en las poblaciones humanas.

• Variantes o cepas virales

Como se mencionó anteriormente, las cepas o variantes virales se encuentran dentro de cada genotipo y difieren entre ellas por sustituciones nucleotídicas, producto de la deriva genética y de eventos de selección específicos del hospedero.¹³ Se han hecho estudios para determinar la competencia vectorial de mosquitos colectados en África frente a dos cepas virales, una proveniente del ciclo selvático y otra de un ciclo epidémico. En este caso particular no se reportaron diferencias en cuanto la competencia vectorial a estas dos cepas entre los mosquitos de las diferentes localidades, pero sí se sugiere una diferencia en la tasa de infección dependiente del título viral.⁵¹

En otros estudios similares se evaluaron dos cepas del Genotipo III de DENV-3, una de las cuales desplazó la cepa circulante. En este caso, la cepa circulante se replicó de forma menos efectiva en el intestino medio de los mosquitos infectados, y mostró una disminución en los niveles de diseminación respecto a la cepa por la que fue desplazada.⁵² Esto demuestra que la competencia vectorial puede estar afectando la diseminación de cepas que puedan ser más virulentas.

En Colombia se han caracterizado molecularmente diferentes cepas virales aisladas en la ciudad de Medellín en los últimos años, y se ha demostrado que existe una gran variabilidad entre ellas.⁵³ Es probable que esa gran variabilidad pueda conferirle a algunas cepas virales mayor capacidad replicativa dentro de los mosquitos. Dos cepas pertenecientes al serotipo 2, genotipo Asiático-Americano, y dos cepas pertenecientes al serotipo 3, genotipo III, las cuales mostraron un alto grado de evolución entre ellas, fueron usadas para retar oralmente mosquitos *A. aegypti*.^{47,54} Durante varios días post-infección se llevan a cabo disecciones de intestino medio y céfalo-tórax de los mosquitos infectados para evaluar antígeno y genoma viral, respectivamente;

los resultados obtenidos hasta el momento nos indican que no existen diferencias significativas en la cantidad de genoma viral entre las dos cepas del genotipo Asiático-Americano, cuantificado en cabezas de mosquitos infectados durante los diferentes días evaluados.⁵⁴ De modo similar, no se encontraron diferencias en la cantidad de genoma viral obtenido de mosquitos infectados con las cepas de genotipo III de DENV-3, excepto al día ocho post-infección, en el que una de las cepas mostró una mayor cantidad de genoma viral.⁴⁷ A partir de los estudios anteriores, nuestro grupo de trabajo se interesó en evaluar infecciones mixtas, usando una de las cepas de DENV-2 y una de DENV-3, pues a pesar de que entre las cepas no se encontraron diferencias, entre los serotipos habíamos visto una tendencia del serotipo 2 a replicarse mejor. Resultados preliminares indican que en infecciones mixtas la cepa perteneciente al serotipo 2 muestra mayor replicación en *A. aegypti*,⁴⁷ resultados que pueden ser de gran importancia para evaluaciones posteriores de competencia vectorial en infecciones mixtas.

Para finalizar, es importante señalar que esta primera etapa de la investigación se ha llevado a cabo en mosquitos de laboratorio, y que debido a que las dinámicas poblacionales del vector y del virus pueden estar alterando la interacción virus-vector gracias a patrones co-evolutivos que se presenten es posible que mosquitos colectados en campo muestren diferencias en la competencia vectorial a una u otra cepa, algo que no puede determinarse en mosquitos de laboratorio que de forma natural son susceptibles a la infección. A raíz de lo anterior, la evaluación de la competencia vectorial de mosquitos de campo a estas cepas será el siguiente objetivo de nuestra investigación.

CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Las condiciones medio ambientales en nuestro país favorecen tanto la colonización como la permanencia de las especies que actúan como vectores en nuevos hábitats, generando un riesgo constante para la población humana, sobre todo para aquella que habita en áreas periurbanas, especialmente si las condiciones de salubridad no son adecuadas. Los patrones de transmisión del DENV dependen en gran medida de que el vector encuentre condiciones óptimas para su desarrollo, condición que en Colombia se ve favorecida por factores socio-económicos, agravando la problemática en el campo de la salud.

En los últimos años, las campañas de erradicación del vector han sido la estrategia más usada para el control de la enfermedad; sin embargo, esto ha generado un cambio en las poblaciones de vectores. Un ejemplo de ello son las poblaciones resistentes a insecticidas. Los cambios genotípicos asociados al fenotipo de resistencia están bien caracterizados, por tanto, resultaría importante evaluar si existen diferencias en la competencia vectorial de mosquitos con fenotipo resistente, en comparación con aquellas poblaciones que todavía se conservan susceptibles.

De otro lado, no sólo las estrategias de control hacen parte de los temas de estudio relacionados con los vectores; como se mencionó, la capacidad vectorial es un estado que debe ser evaluado para poder determinar la susceptibilidad de las poblaciones para transmitir infecciones. En nuestro medio como hemos visto, no sólo tenemos dos especies de mosquitos susceptibles de infección por DENV, sino que además, co-circulan los cuatro serotipos del virus, aumentando así el riesgo de transmisión de la enfermedad. Existe entonces la necesidad de estudiar poblaciones naturales de mosquitos con el fin de evaluar la competencia vectorial, y para el caso de *A. albopictus* es necesario comenzar una evaluación que permita determinar que tan buen vector puede llegar a ser en las condiciones de nuestro país. Finalmente, el hecho de que en Colombia co-circulen los cuatro serotipos de DENV puede estar influyendo en la capacidad vectorial para un serotipo u otro, lo cual puede afectar las dinámicas de las poblaciones virales. Este aspecto puede llegar a ser de gran importancia epidemiológica, puesto que algunas manifestaciones graves de la enfermedad se asocian a cepas más virulentas, y también con el fenómeno de potenciación dependiente de anticuerpos, en el que anticuerpos no neutralizantes, producto de una primera infección con un serotipo, pueden favorecer la entrada del virus durante una segunda infección con otro serotipo diferente, dando como resultado las complicaciones asociadas a la infección con más de un serotipo. Si los cuatro serotipos están co-circulando, una competencia intra-huésped puede favorecer a unas variantes genotípicas, de ahí que resulte interesante plantear estudios de infección mixta que lleven a determinar si existe un desplazamiento de algunas variantes por otras; es decir, si hay una diferencia en la capacidad vectorial frente algunos serotipos. A partir de lo anterior, es posible concluir que los estudios de vigilancia epidemiológica

deben comenzar con un conocimiento pleno del estado ecológico de los vectores, siendo la competencia vectorial un componente clave para la generación de dicho conocimiento; esto con el fin de determinar cómo influyen las características propias de estas poblaciones en las dinámicas de transmisión de las enfermedades.

En general, la competencia vectorial de *A. aegypti* para DENV es un tema en el cual todavía falta mucho por explorar, puesto que existen múltiples factores que afectan esta característica dentro de dos grupos: los que son propios del vector, y los que tienen que ver con el virus.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República, Proyecto No. 2558-2009.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Clyde K, Kyle JL, Harris E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. *J Virol* 2006; 80:11418-11431.
2. Chaturvedi UC, Nagar R. Dengue and dengue haemorrhagic fever: Indian perspective. *J Biosci* 2008; 33: 429-441.
3. Kanakarathne N, Wahala WM, Messer WB, Tissera HA, Shahani A, Abeysinghe N, *et al*. Severe dengue epidemics in Sri Lanka, 2003-2006. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:192-199.
4. Diallo M, Ba Y, Sall AA, Diop OM, Ndione JA, Mondo M, *et al*. Amplification of the sylvatic cycle of dengue virus type 2, Senegal, 1999-2000: entomologic findings and epidemiologic considerations. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 362-367.
5. Gómez-Dantés H, Willoquet JR. Dengue in the Americas: challenges for prevention and control. *Cad Saude Publica* 2009; 25 Suppl 1: S19-31.
6. Organización Panamericana de Salud. 2008: Number of Reported Cases of Dengue & Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), Region of the Americas (by country and subregion). Disponible en: <http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/dengue-cases-2008.htm>. Consultado el 13 de septiembre de 2009.
7. González-Obando R, Gamboa F, Perafán O, Suárez MF, Montoya-Lerma J. Experiencia de un análisis

- entomológico de criaderos de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* en Cali, Colombia. *Revista Colombiana Entomología* 2007; 33:148-156.
8. González-Obando R, Zielinski-Gutierrez E, Scott TW, Rosenberg R. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Med* 2008; 5: 362-366.
 9. Gubler DJ, Kuno G, Markoff L. Flaviviruses. En: Knipe DM, Howley P editors. *Fields Virology*. Volume one. 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. Estados Unidos. 2007. p. 1154-1252.
 10. Kyle JL, Harris E. Global spread and persistence of dengue. *Annu Rev Microbiol* 2008; 62:71-92.
 11. Weaver SC, Vasilakis N. Molecular evolution of dengue viruses: contributions of phylogenetics to understanding the history and epidemiology of the preeminent arboviral disease. *Infect Genet Evol* 2009; 9: 523-540.
 12. Zhang C, Mammen MP Jr, Chinnawirotpisan P, Klungthong C, Rodpradit P, Monkongdee P, et al. Clade replacements in dengue virus serotypes 1 and 3 are associated with changing serotype prevalence. *J Virol* 2005; 79: 15123-15130.
 13. Messer WB, Gubler DJ, Harris E, Sivananthan K, de Silva AM. Emergence and global spread of a dengue serotype 3, subtype III virus. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 800-809.
 14. King CC, Chao DY, Chien LJ, Chang GJ, Lin TH, Wu YC, et al. Comparative analysis of full genomic sequences among different genotypes of dengue virus type 3. *Virology* 2008; 5: 63-76.
 15. Ocazonez RE, Cortés FM, Villar LA, Gómez SY. Temporal distribution of dengue virus serotypes in Colombian endemic area and dengue incidence. Re-introduction of dengue-3 associated to mild febrile illness and primary infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101: 725-731.
 16. Usme-Ciro JA, Mendez JA, Tenorio A, Rey GJ, Domingo C, Gallego-Gomez JC. Simultaneous circulation of genotypes I and III of dengue virus 3 in Colombia. *Virology* 2008; 5: 101-111.
 17. Villabona-Arenas CJ, Miranda-Esquível DR, Jimenez RE. Phylogeny of dengue virus type 3 circulating in Colombia between 2001 and 2007. *Trop Med Int Health* 2009; 14: 1-10.
 18. Ocazonez RE, Gómez SY, Cortés FM. Dengue hemorrhagic fever serotype and infection pattern in a Colombian endemic area. *Rev Salud Pública (Bogotá)* 2007; 9: 262-274.
 19. Anderson JR, Rico-Hesse R. *Aedes aegypti* vectorial capacity is determined by the infecting genotype of dengue virus. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 75: 886-892.
 20. Rodríguez H, de la Hoz F. Dengue and dengue and vector behaviour in Cáqueza, Colombia, 2004. *Rev Salud Pública (Bogotá)*. 2005; 7: 1-15.
 21. Black IV WC, Moore CG. Population Biology as a tool of Study Vector-Borne Diseases. En: Marquardt WC, editor. *Biology of Disease Vectors*. 2nd Edition. Elsevier Academic Press. 2005. p. 187-206.
 22. Honorio NA, Silva Wda C, Leite PJ, Gonçalves JM, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98:191-198.
 23. Troyo A, Calderón-Arguedas O, Fuller DO, Solano ME, Avendaño A, Arheart KL, et al. Seasonal profiles of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larval habitats in an urban area of Costa Rica with a history of mosquito control. *J Vector Ecol* 2008; 33:76-88.
 24. Vélez ID, Quiñónez M, Suárez M, Olano V, Murcia LM, Correa E, et al. Presencia de *Aedes albopictus* en Leticia, Amazonas, Colombia. *Biomedica* 1998; 18:192-198.
 25. Cuéllar-Jiménez ME, Velásquez-Escobar OL, González-Obando R, Morales-Reichmann CA. Detection of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in the city of Cali, Valle del Cauca, Colombia. *Biomédica* 2007; 27: 273-279.
 26. Vazeille M, Moutailler S, Pages F, Jarjaval F, Failloux AB. Introduction of *Aedes albopictus* in Gabon: what consequences for dengue and chikungunya transmission? *Trop Med Int Health* 2008; 13:1176-1179.
 27. Beerntsen BT, James AA, Christensen BM. Genetics of mosquito vector competence. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64:115-137.
 28. Salazar MI, Richardson JH, Sánchez-Vargas I, Olson KE, Beaty BJ. Dengue virus type 2: replication and tropisms in orally infected *Aedes aegypti* mosquitoes. *BMC Microbiol* 2007; 7: 9-22.

29. Black WC 4th, Bennett KE, Gorrochótegui-Escalante N, Barillas-Mury CV, Fernández-Salas I, de Lourdes Muñoz M, *et al.* Flavivirus susceptibility in *Aedes aegypti*. *Arch Med Res* 2002; 33: 379-388.
30. Xi Z, Ramirez JL, Dimopoulos G. The *Aedes aegypti* toll pathway controls dengue virus infection. *PLoS Pathog* 2008; 4:1-12.
31. Bosio CF, Beaty BJ, Black WC 4th. Quantitative genetics of vector competence for dengue-2 virus in *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59: 965-970.
32. Higgs S, Beaty BJ. Natural cycles of vector-borne pathogens. En: Marquardt WC, editor. *Biology of Disease Vectors*. 2nd Edition. Elsevier Academic Press 2005. p. 167-185.
33. Mercado-Curiel RF, Esquinca-Avilés HA, Tovar R, Díaz-Badillo A, Camacho-Nuez M, 48. Muñoz M de L. The four serotypes of dengue recognize the same putative receptors in *Aedes aegypti* midgut and *Ae. albopictus* cells. *BMC Microbiol* 2006; 6: 85-95.
34. Mercado-Curiel RF, Black WC 4th, Muñoz Mde L. A dengue receptor as possible genetic marker of vector competence in *Aedes aegypti*. *BMC Microbiol* 2008; 8:118-133.
35. Cao-Lorameau VM. Dengue viruses binding proteins from *Aedes aegypti* and *Aedes polynesiensis* salivary glands. *Virology* 2009; 6: 35-39.
36. Bennett KE, Olson KE, Muñoz Mde L, Fernandez-Salas I, Farfan-Ale JA, Higgs S, *et al.* Variation in vector competence for dengue 2 virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67: 85-92.
37. Bennett KE, Flick D, Fleming KH, Jochim R, Beaty BJ, Black WC 4th. Quantitative trait loci that control dengue-2 virus dissemination in the mosquito *Aedes aegypti*. *Genetics* 2005; 170: 185-194.
38. Caicedo PA, Barón OL, Ocampo CB. Selección de cepas susceptibles y resistentes de *Aedes aegypti* a la infección con virus dengue 2. *Biomédica* 2007; 27: 255.
39. Barón OL, Ursic R, Lowenberger C, Ocampo CB. Expresión genética diferencial de genes del intestino medio de líneas resistentes y susceptibles de *Aedes aegypti* a la infección con virus dengue 2. *Biomédica* 2007; 27: 255.
40. Dimopoulos G. Insect immunity and its implication in mosquito-malaria interactions. *Cell Microbiol* 2003; 5: 3-14.
41. Wang XH, Aliyari R, Li WX, Li HW, Kim K, Carthew R, *et al.* RNA interference directs innate immunity against viruses in adult *Drosophila*. *Science* 2006; 312: 452-454.
42. Sánchez-Vargas I, Scott JC, Poole-Smith BK, Franz AW, Barbosa-Solomieu V, Wilusz J, *et al.* Dengue virus type 2 infections of *Aedes aegypti* are modulated by the mosquito's RNA interference pathway. *PLoS Pathog* 2009; 5:1-11.
43. Schneider JR, Mori A, Romero-Severson J, Chadee DD, Severson DW. Investigations of dengue-2 susceptibility and body size among *Aedes aegypti* populations. *Med Vet Entomol* 2007; 21: 370-376.
44. Alto BW, Lounibos LP, Mores CN, Reiskind MH. Larval competition alters susceptibility of adult *Aedes* mosquitoes to dengue infection. *Proc Biol Sci* 2008a; 275: 463-471.
45. Alto BW, Reiskind MH, Lounibos LP. Size alters susceptibility of vectors to dengue virus infection and dissemination. *Am J Trop Med Hyg* 2008b; 79: 688-695.
46. Pepin KM, Lambeth K, Hanley KA. Asymmetric competitive suppression between strains of dengue virus. *BMC Microbiol* 2008; 8: 28-38.
47. Quintero-Gil C, Martínez-Gutiérrez M, Díaz F, Ospina M, Hoyos O, Osorio JE. Estudios de competencia vectorial en *Aedes aegypti* con cepas colombianas de virus dengue 2 y 3 aisladas en diferentes años. *Memorias XXXVI Congreso SOCOLEN*. 2009, p.145
48. Armstrong PM, Rico-Hesse R. Efficiency of dengue serotype 2 virus strains to infect and disseminate in *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68: 539-544.
49. Loroño-Pino MA, Farfán-Ale JA, Zapata-Peraza AL, Rosado-Paredes EP, Flores-Flores LF, García-Rejón JE, *et al.* Introduction of the American/Asian genotype of dengue 2 virus into the Yucatan State of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 71: 485-492.
50. Cologna R, Armstrong PM, Rico-Hesse R. Selection for virulent dengue viruses occurs in humans and mosquitoes. *J Virol* 2005; 79: 853-859.
51. Diallo M, Ba Y, Faye O, Soumare ML, Dia I, Sall AA. Vector competence of *Aedes aegypti* populations from Senegal for sylvatic and epidemic dengue 2 virus isolated in West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 493-498.
52. Hanley KA, Nelson JT, Schirtzinger EE, Whitehead SS, Hanson CT. Superior infectivity for mosquito vectors

contributes to competitive displacement among strains of dengue virus. *BMC Ecol* 2008; 8: 1-10.

53. Díaz FJ, Ospina MC, Higueta EA, Osorio JE. Molecular characterization of dengue viruses isolated in Medellín, Colombia and surrounding areas. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77: S5:118.
54. Quintero-Gil C, Martínez-Gutiérrez M, Uribe A, Hoyos O, Díaz FJ, Ospina MC, *et al.* Vectorial Competence in *Aedes aegypti* of two different Dengue Virus type 2 isolated from the same geographic area in Medellín, Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79: S6: 497.
55. Gonçalves AP, Escalante AA, Pujol FH, Ludert JE, Tovar D, Salas RA, Liprandi F. Diversity and evolution of the envelope gene of dengue virus type 1. *Virology* 2002; 303: 110-119.
56. Rico-Hesse R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology* 1990; 174: 479-493.
57. Lewis JA, Chang GJ, Lanciotti RS, Kinney RM, Mayer LW, Trent DW. Phylogenetic relationships of dengue-2 viruses. *Virology* 1993; 197: 216-224.
58. Lanciotti RS, Lewis JG, Gubler DJ, Trent DW. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. *J Gen Virol* 1994; 75: 65-75.
59. Araújo JM, Nogueira RM, Schatzmayr HG, Zanotto PM, Bello G. Phylogeography and evolutionary history of dengue virus type 3. *Infect Genet Evol* 2009; 9: 716-725.
60. Lanciotti RS, Gubler DJ, Trent DW. Molecular evolution and phylogeny of dengue-4 viruses. *J Gen Virol* 1997; 78: 2279-2284.
61. Foster JE, Bennett SN, Vaughan H, Vorndam V, McMillan WO, Carrington CV. Molecular evolution and phylogeny of dengue type 4 virus in the Caribbean. *Virology* 2003; 306: 126-134.
62. Klungthong C, Zhang C, Mammen MP Jr, Ubol S, Holmes EC. The molecular epidemiology of dengue virus serotype 4 in Bangkok, Thailand. *Virology* 2004; 329: 168-179.

