

Evaluación de la influencia de *Escherichia coli* sobre los estados inmaduros de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Girardot, Colombia

Assessment of the influence of *Escherichia coli* on the immature stages of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Girardot, Colombia

LINA MARCELA GARAY-GUTIÉRREZ¹, GABRIEL PINILLA-AGUDELO², DIANA CAROLINA GARCÍA-SÁNCHEZ³ y JULIANA QUINTERO-ESPINOSA⁴

Resumen: Las poblaciones bacterianas se encuentran de manera frecuente en el agua, especialmente en estanques y aguas residuales de zonas urbanas y rurales. Sus abundancias parecen tener efecto sobre la presencia de inmaduros de algunos insectos acuáticos como mosquitos. En el presente estudio se buscó establecer la relación entre los estados inmaduros de *Aedes aegypti* y la presencia de *Escherichia coli* en depósitos de agua potable de la ciudad de Girardot, Colombia. Para ello se realizó un muestreo aleatorio de 30 reservorios en diferentes casas, la mitad de ellos con presencia de diferentes cantidades de inmaduros de *Ae. aegypti*. En todos los casos se tomaron muestras para hacer recuentos directos de *E. coli* en placas de 3MTM PetrifilmTM Aqua. Se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas para determinar diferencias y correlacionar las poblaciones de bacterias y vectores. Se encontró una relación significativa entre el número de UFC mL⁻¹ de *E. coli* y las abundancias de los inmaduros de *Ae. aegypti*. Se estableció que hubo diferencias en las abundancias bacterianas entre depósitos con cantidades bajas, moderadas y altas de inmaduros del mosquito. Se verificó que el aumento en el número de larvas y pupas del vector fue superior en la medida en que las muestras de agua contenían mayor cantidad de *E. coli*.

Palabras clave: Bacterias. Larvas. Pupas. Albercas. Mosquitos.

Abstract: Bacterial populations are common in water, especially in ponds and sewage in urban and rural areas. Their abundance seems to affect the presence of some immature aquatic insects. This study aimed to establish the relationship between immature *Aedes aegypti* states and the presence of *Escherichia coli* in drinking water reservoirs in the city of Girardot, Colombia. Therefore, a random sampling of 30 water containers in different houses, half of them with the presence of different quantities of immature *Ae. aegypti*, was made. In all cases, samples were taken in order to make direct counts of *E. coli* in 3MTM PetrifilmTM Aqua. Nonparametric statistical tests were performed to determine differences and to correlate bacterial populations and vectors. It was found that there is a significant relationship between the number of CFU mL⁻¹ of *E. coli* and the abundance of immature *Ae. aegypti*. It was established that there were differences in bacterial abundances between deposits with low, moderate, and high amounts of immature mosquitoes. It was verified that the increase in the number of larvae and pupae of the vector was higher as water samples had higher amounts of *E. coli*.

Key words: Bacteria. Larvae. Pupae. Pools. Mosquitoes.

Introducción

Las poblaciones bacterianas se encuentran de manera frecuente en el agua, especialmente en estanques y aguas residuales de zonas urbanas. Dentro de las poblaciones bacterianas el grupo de las enterobacterias juega un papel importante en el ciclo de reproducción de diferentes mosquitos (Minard *et al.* 2013). Este es el caso de *Aedes aegypti* (L., 1762) (Diptera: Culicidae), un mosquito doméstico originario de África (Ponnusamy *et al.* 2010), del cual aún existen cepas silvestres (Powell y Tabachnick 2013). *Ae. aegypti* es el principal vector de virus que producen enfermedades como dengue, chikungunya y zika, cuya distribución actual es, principalmente, tropical y subtropical. En estas regiones del mundo el mosquito encuentra las condiciones ambientales propicias para su reproducción y expansión poblacional (Fernández *et al.* 1998). Las hembras ponen los huevos en las paredes secas muy cerca de la superficie del agua, donde hay menor incidencia de la radiación solar directa (Joy *et al.* 2010). Las investigaciones en Tailandia, Laos y Malasia han demostrado la influencia de las bacterias en la ovoposición de *Ae. aegypti*

en aguas contaminadas (Dada *et al.* 2013; Arbaoui y Chua 2014; Dada *et al.* 2014).

El dengue es una enfermedad endémica y en ocasiones ha alcanzado características epidémicas en más de 100 países de zonas tropicales de América, África y Asia, donde la prevalencia está asociada a su principal vector, *Ae. aegypti* (González *et al.* 2007; Maestre *et al.* 2010; Mohammed y Chadee 2011). La incidencia de esta infección ha aumentado extraordinariamente en todo el mundo en los últimos años, como lo muestran los datos de Brady *et al.* (2012) y Bhatt *et al.* (2013). Aproximadamente 3.900 millones de personas de 128 países corren el riesgo de contraer la enfermedad (Brady *et al.* 2012) y se estima que se producen 390 millones de infecciones por dengue cada año (Bhatt *et al.* 2013), de los cuales 96 millones se manifiestan clínicamente (independientemente de la gravedad de la enfermedad). En Colombia, en 2014 se notificaron 110.473 casos y de estos 107.696 (97,5 %) fueron de dengue y 2.777 (2,5 %) de dengue grave (antes denominado hemorrágico). Para 2015 se informó de 294 muertes probables por dengue, 88 de ellas confirmadas (INS 2014). Estos casos de dengue y dengue grave se han registrado en el país

¹ Microbióloga Agrícola y Veterinaria, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, linisg1@hotmail.com. ² Profesor titular, Ph. D. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Cr 30 #45-03, Ed. 421, Of. 205, Bogotá, Colombia, gapinillaa@unal.edu.co, autor para correspondencia.

³ Bióloga, M. Sc. Centro de Estudios e Investigación en Salud de la Fundación Santa Fe de Bogotá, Cr 7 B #123-90, Bogotá, Colombia, diegarciasa@unal.edu.co. ⁴ Médico, M. Sc. Centro de Estudios e Investigación en Salud de la Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, Colombia, juliana.quintero@fsfb.org.co.

desde 1978 (Suárez *et al.* 2009). Además del dengue, *Ae. aegypti* transmite virus causantes de otras enfermedades como la fiebre amarilla urbana, el chikungunya y el zika (Marchette *et al.* 1969; Martínez y Gómez 2014). En el transcurso del primer trimestre de 2015 se registraron 1.379.788 casos y 191 muertes por chikungunya en el continente americano (OMS 2015). Estos datos resaltan la urgencia de encontrar alternativas de control vectorial que sean eficaces y que permitan disminuir la transmisión de estas enfermedades.

La ciudad de Girardot presenta las condiciones ambientales y demográficas adecuadas para el desarrollo del mosquito y la transmisión de los virus (Suárez *et al.* 2009). Es uno de los municipios catalogados como hiperendémicos para dengue en el país, debido a que aporta casi el 50 % de los casos de esta enfermedad en Cundinamarca (Padilla y Rojas 2012). Estudios recientes han evidenciado que más del 90 % de la productividad de estadios inmaduros para esta especie se da en recipientes ubicados en el interior de las viviendas. La costumbre de almacenar agua, que se debe más a aspectos culturales que a recortes en el suministro, incide directamente en el éxito biológico de *Ae. aegypti* a nivel local (Suárez *et al.* 2009; Padilla y Rojas 2012; García-Betancourt *et al.* 2015).

En estudios internacionales se han encontrado relaciones positivas entre *E. coli* y la ocurrencia de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* (Dada *et al.* 2013). En Colombia, a pesar de las numerosas investigaciones llevadas a cabo sobre enfermedades de transmisión por mosquitos vectores, los estudios para determinar el vínculo entre las condiciones microbiológicas del agua y el ciclo de vida de *Ae. aegypti* son pocos y han tratado el tema bacteriano de manera indirecta. Por ejemplo, el trabajo realizado en Leticia, amazonía colombiana, por Carvajal *et al.* (2009) mostró que las abundancias de *Ae. albopictus* se relacionaron positivamente con algunos taxones de invertebrados y de microalgas (bacilariofíceas, clorofíceas y cianofíceas), pero no se evaluaron las bacterias. En escuelas primarias rurales de La Mesa y Anapoima en Cundinamarca, Overgaard *et al.* (2014) utilizaron la presencia de *E. coli* como indicador para el riesgo de infecciones diarreicas y sugieren que los recipientes utilizados para almacenar agua pueden ser el vínculo entre la diarrea y el dengue, si bien no estudiaron los nexos directos entre las abundancias de bacterias y de mosquitos.

El presente trabajo preliminar es el primero en Colombia que busca determinar de manera directa si la presencia de *E. coli* en depósitos domésticos de almacenamiento de agua potabilizada (categorizados como tipo alberca) está relacionada positivamente con el número de larvas y pupas de *Ae. aegypti* en tales recipientes, en zonas urbanas de la ciudad de Girardot, donde el dengue es endémico (Padilla y Rojas 2012). Esta información podría ayudar a orientar posteriores estudios para el control del agente transmisor de esta enfermedad.

Materiales y métodos

Área de estudio. La investigación se realizó en la zona urbana de la ciudad de Girardot, departamento de Cundinamarca, localizada en las coordenadas 4°18'18"N y 74°48'06"O, a 290 msnm. La temperatura media es de 33 °C, la humedad relativa promedio es de 67 % y la precipitación media anual es de 1.230 mm (CAR 2012). La selección de las casas para la recolección de información se hizo aleatoriamente dentro

de un grupo de 2.000 hogares que hicieron parte del “Estudio multi país con enfoque Eco-Bio-Social en enfermedades de Dengue y Chagas en Latino América y el Caribe” (Quintero *et al.* 2014), lo que facilitó el acceso a las viviendas.

Muestreo. De acuerdo con Quintero *et al.* (2014) y Alcalá *et al.* (2015), las albercas y tanques bajos de la ciudad de Girardot aportan más del 87 % de las pupas de *Ae. aegypti* en las viviendas de los conglomerados visitados. Para el muestreo, realizado en agosto de 2013, se escogieron albercas bajo techo que no estuvieran intervenidas con ningún agente químico o biológico y que pertenecieran a la categoría tipo 2 propuesta por Alcalá *et al.* (2015) (construidas en cemento y sin divisiones). Los estanques seleccionados tuvieron una capacidad de almacenamiento entre 500 y 800 L, la temperatura promedio del agua fue 28,5 °C, la conductividad fluctuó entre 132 y 135 $\mu\text{S cm}^{-1}$ y la saturación de oxígeno varió entre 79 y 85 % (datos de un estudio simultáneo realizado por García, 2015). La toma de muestras microbiológicas se hizo en frascos de vidrio de 100 mL, previamente esterilizados, los cuales se introdujeron en el centro de cada estanque, se abrieron a 15 cm de profundidad y se cerraron antes de sacarlos del agua. Estas muestras se colectaron en 30 depósitos de agua, 15 de ellos con presencia de estadios inmaduros de *Ae. aegypti* (los cuales fueron confirmados taxonómicamente) y 15 sin la ocurrencia del vector. Los frascos de ambos tipos de albercas se etiquetaron y se mantuvieron refrigerados a 4 °C en neveras de poliestireno hasta su análisis en el laboratorio de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana, el cual se realizó en las siguientes 6 h después del muestreo. Simultáneamente con el muestreo bacteriológico, se estimó la abundancia de *Ae. aegypti* en los depósitos de agua con presencia del mosquito mediante estimación visual de la cantidad de larvas y la determinación indirecta del número de pupas siguiendo el método de barrido establecido por Romero-Vivas *et al.* (2007).

Identificación y cuantificación de *E. coli*. En el laboratorio cada muestra se sembró por recuento directo en una Placa 3M™ Petrifilm™ (3M 2015) Agua de coliformes para recuento de *E. coli*, para lo cual se utilizó 1 mL de agua. Las placas se incubaron a 35-37 °C durante 24 h. Cuando *E. coli* está presente, las colonias en las placas 3M™ Petrifilm™ se tiñen de azul, debido a que éstas tienen un indicador de la actividad de la glucuronidasa y *E. coli* posee la enzima beta-glucuronidasa, lo cual facilita la identificación y cuantificación de las unidades formadoras de colonias (UFC). Este método simplificado reemplaza la técnica tradicional, en la que se filtran 100 mL en una membrana que posteriormente se siembra en agar chromocult (APHA *et al.* 2005) y tiene resultados igualmente confiables y estadísticamente similares (Vail *et al.* 2003; Schraft y Watterworth 2005), incluso en muestras de suelo (Samarajeewa *et al.* 2010), con costos y tiempos menores.

Análisis estadístico. Se utilizaron las correlaciones de Spearman y Kendall para conocer el grado de asociación entre el número de *E. coli* y la abundancia de inmaduros de *Ae. aegypti*. Esta última variable se trabajó como intervalos de abundancia. Los intervalos establecidos se basaron en un trabajo similar realizado en Tailandia (Strickman y Kittayapong 2002), en el que se crearon tres categorías de infestación del mosquito, que definen la densidad de larvas encontradas en

cada uno de los depósitos. Las agrupaciones fueron: densidad baja (1-9 individuos por alberca), densidad moderada (10-50 individuos) y densidad alta (> 50 individuos). El test de Kruskal-Wallis permitió establecer las diferencias significativas en la mediana del número de UFC mL⁻¹ entre los intervalos de abundancia mencionados de *Ae. aegypti* para el grupo de albercas con presencia del vector. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM SPSS versión 22 (IBM 2015).

Resultados

El análisis microbiológico de las muestras de agua permitió identificar las colonias de *E. coli* en los depósitos de agua con y sin presencia de *Ae. aegypti* (Tabla 1). Se observa que las muestras con un intervalo alto de infestación del mosquito tuvieron un promedio superior de UFC de *E. coli* y que a mayor número de bacterias hubo un mayor número de inmaduros del culicido en los depósitos de agua (Fig. 1). En los depósitos sin presencia de inmaduros del mosquito la cantidad de UFC de *E. coli* fue extremadamente baja o ausente en la mayoría de los casos (Tabla 1). Según las pruebas estadísticas de Spearman y Kendall, existe una correlación significativa entre los intervalos de estados inmaduros y el número de UFC mL⁻¹ de *E. coli* (Rho de Spearman = 0,741, P = 0,002; Tau de Kendall = 0,668, P = 0,004).

La prueba de Kruskal-Wallis realizada para los tres intervalos establecidos, rechaza la hipótesis nula de igualdad de las medianas de las abundancias de UFC mL⁻¹ de *E. coli* en todos los casos. Para la comparación de las abundancias de bacterias entre los intervalos bajo y moderado de densidad de *Ae. aegypti*, se obtuvo un *p*-valor menor al nivel de significancia del 5 % (H = 5,33; P = 0,0114), lo que implica el rechazo de la hipótesis de igualdad. Similares resultados se obtuvieron al comparar el intervalo bajo con el alto (H = 7; P = 0,0049) y el intervalo moderado con el alto (H = 7; P = 0,0043).

Discusión

Varias investigaciones fuera de Colombia relacionan las bacterias con las distintas fases de desarrollo de los mosquitos y con la influencia que ejercen para atraerlos a determinados sustratos de ovoposición (Trexler *et al.* 2003; Lindh *et al.* 2008; Ponnusamy *et al.* 2008; Ponnusamy *et al.* 2010). Aunque las hembras grávidas de *Ae. aegypti* ovipositan preferentemente en aguas limpias (Nelson 1986), se conoce que también pueden hacerlo en reservorios con diferentes grados de contaminación, como cajas de registro, alcantarillas y drenajes (Marquetii 2008). Al parecer la presencia de materia orgánica favorece la actividad bacteriana y por tanto la atracción de los mosquitos (Rejmankova *et al.* 2005). En el presente caso, las albercas domésticas muestreadas almacenaban agua potabilizada, de manera que pueden considerarse en general limpias, aunque con posible contaminación orgánica. El uso que hacen los habitantes de este tipo de recipientes (limpieza del hogar, lavado de ropa y de elementos de cocina en algunos casos) puede significar una fuente externa de materia orgánica en el agua (García-Betancourt *et al.* 2015).

La relación positiva que se observó en este estudio entre la presencia de *E. coli* y la cantidad de individuos inmaduros de *Ae. aegypti* puede estar influenciada por algunos compuestos que son fermentados por las bacterias, las cuales emiten gases que atraen a las hembras del mosquito. Estas ovipositarían preferentemente en las albercas contaminadas con la bacteria, de manera similar a como fue descrito para *Anopheles* (Rejmankova *et al.* 2005). Algunos de esos compuestos atrayentes producidos por las bacterias son el 3-metil-1-butanol, el 2-metil-3-decanol, el ácido decanoico, el ácido carboxílico, el fenilmetanol y el 2-feniletanol (Ikeshoji *et al.* 1975; Rejmankova *et al.* 2005; Leroy *et al.* 2011). Se ha demostrado que algunos ácidos carboxílicos y ésteres metílicos específicos de origen bacteriano son po-

Tabla 1. Número de UFC mL⁻¹ de *Escherichia coli* e intervalos de infestación de *Aedes aegypti* en depósitos de agua positivos (+) y negativos (-) para la presencia del vector.

Positivos (UFC mL ⁻¹) <i>E. coli</i>		Intervalo inmaduros <i>Ae. aegypti</i>	Negativos (UFC mL ⁻¹) <i>E. coli</i>		Control (Nº inmaduros <i>Ae. aegypti</i>)
1(+)	11	Moderado	1(-)	0	0
2(+)	10	Moderado	2(-)	0	0
3(+)	11	Alto	3(-)	0	0
4(+)	9	Bajo	4(-)	0	0
5(+)	8	Bajo	5(-)	0	0
6(+)	11	Moderado	6(-)	0	0
7(+)	12	Alto	7(-)	1	0
8(+)	10	Alto	8(-)	1	0
9(+)	11	Alto	9(-)	0	0
10(+)	12	Alto	10(-)	0	0
11(+)	9	Moderado	11(-)	0	0
12(+)	10	Moderado	12(-)	0	0
13(+)	10	Bajo	13(-)	0	0
14(+)	11	Moderado	14(-)	0	0
15(+)	9	Bajo	15(-)	1	0

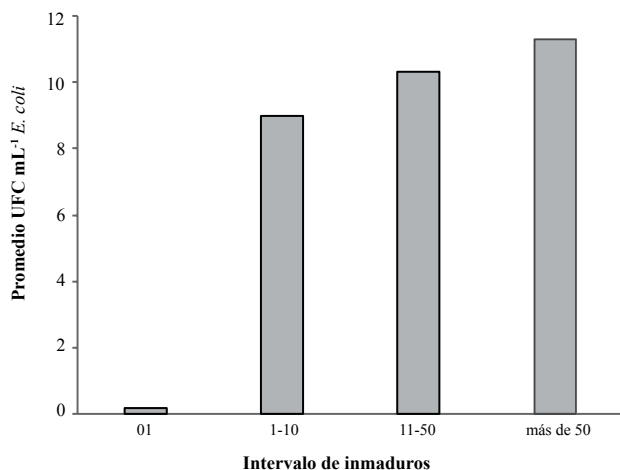


Figura 1. UFC mL⁻¹ de *Escherichia coli* vs. los diferentes intervalos de los estados inmaduros de *Aedes aegypti*.

tentes kairomonas (sustancias químicas liberadas por una especie y que afectan positivamente a otras especies) para la oviposición de las hembras grávidas de *Ae. aegypti* (Leroy *et al.* 2011). Las diferencias significativas entre las densidades de *E. coli* en los distintos intervalos de abundancia de *Ae. aegypti* halladas en Girardot, parecen señalar que a muy bajas cantidades de enterobacterias (menos de 10 UFC mL⁻¹) el efecto de atracción sobre las hembras de mosquito es escaso. Se necesitarán ensayos experimentales para confirmar esta suposición.

Algunos estudios indican que, por el contrario, la oviposición de *Ae. aegypti* se reduce cuando está presente *E. coli* (Hasselschwert y Rockett 1988). Sin embargo, nuestros resultados, aunque preliminares, se asemejan a los hallazgos de Dada *et al.* (2013) en Tailandia y Laos, quienes encontraron que el número de bacterias estuvo directamente relacionado con el número de larvas en los depósitos de agua. En esa investigación las condiciones fueron similares a las del presente estudio, pero dichos autores evaluaron varios tipos de recipientes, como floreros, albercas, llantas, cisternas, etc. Nuestra exploración se llevó a cabo en una sola localidad (Girardot- Cundinamarca) bajo circunstancias análogas a las de Tailandia y Laos (Dada *et al.* 2013), aunque solo en albercas de un mismo material. Incluso con estas restricciones en los tipos de reservorios y en la cantidad de muestras, los resultados preliminares logrados en Girardot mostraron que existe un efecto positivo de las enterobacterias sobre las abundancias de individuos inmaduros del mosquito.

Muchos organismos causantes de enfermedades (bacterias, virus, protozoarios) se desarrollan en depósitos de agua contaminados con heces (Borbolla-Sala *et al.* 2005). El uso del agua de estos reservorios puede provocar la transmisión de infecciones (Bisset 2002; Borbolla-Sala *et al.* 2005). Los recipientes de almacenamiento de agua para uso doméstico, muy frecuentes en Colombia (Suárez *et al.* 2009; García-Betancourt *et al.* 2015), sirven de fuente común para el dengue, para otras enfermedades transmitidas por mosquitos como la malaria, la fiebre amarilla y el virus del nilo y para afecciones disentericas debidas a la mala recolección del agua y a inadecuadas prácticas de almacenamiento (Overgaard *et al.* 2014). Ante esta situación, los resultados del presente estudio hacen pensar que un control de las bacterias coliformes podría ayudar a reducir la inciden-

cia del mosquito vector. Esto es aún más importante si se tiene en cuenta que en algunas regiones de Colombia como el departamento de Atlántico, las hembras de *Ae. aegypti* se han vuelto resistentes a insecticidas como propoxur, fenitrotión, DDT y lambda-diazinotrina (Maestre *et al.* 2010).

La mayor abundancia de formas inmaduras de *Ae. aegypti* en los depósitos donde se incrementó el número de UFC de *E. coli* puede indicar un aseo deficiente de las albercas. Podría ser necesario aumentar la frecuencia con que se limpian estos reservorios, dado que, como se vio en este trabajo, la densidad de bacterias coliformes parece condicionar la cantidad de mosquitos. Es factible pensar que la relación positiva entre enterobacterias y formas inmaduras del vector hallada en Girardot podría darse en otras regiones de Colombia, donde las condiciones climáticas, geográficas y socioeconómicas sean comparables. Si esto es así, quizá sería conveniente que los planes de control de este vector en depósitos de agua doméstica de estas regiones contemplen también el control de las bacterias entéricas.

El estudio de 30 depósitos no es suficiente para llegar a conclusiones definitivas, pero permite ver una tendencia clara. Se requerirá aumentar el número de casos para que abarquen diferentes clases de recipientes y distintas regiones de Colombia, y así disponer de una base numérica más amplia que permita realizar un análisis estadístico más robusto y definitivo. Los datos obtenidos son preliminares y pueden existir sesgos en los resultados alcanzados. Es por ello que en estudios posteriores será necesario incrementar el número de unidades muestrales y profundizar en las condiciones físico-químicas, bióticas y de uso de los depósitos de agua, que puedan interactuar en el crecimiento de las larvas de *Ae. aegypti* y en el incremento de *E. coli*. Se requerirá el control de variables como temperatura, oxígeno disuelto, conductividad, oxidorreducción, pH y presencia de otros microorganismos, entre otras, a fin de esclarecer el papel de *E. coli*. Igualmente, se precisará definir si el recambio de agua, el lavado de los reservorios y los tipos de uso de las albercas tienen relación con la probable contaminación bacteriana, y por tanto con la presencia de los estadios inmaduros de este culicido.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada con recursos del proyecto “Estudio multi país con enfoque Eco-Bio-Social en enfermedades de dengue y Chagas en Latinoamérica y el Caribe”, coordinado por el Centro de Estudios e Investigación en Salud de la Fundación Santa Fe de Bogotá. Se contó igualmente con el apoyo de la Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá y de la Universidad Nacional de Colombia. Los autores agradecen los aportes y comentarios de los evaluadores anónimos.

Literatura citada

- ALCALÁ, L.; QUINTERO, J.; GONZÁLEZ-URIBE, C.; BROCHERO, H. 2015. Productividad de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) en viviendas y espacios públicos en una ciudad endémica para dengue en Colombia. *Biomédica* 35 (2): 258-268. doi: 10.7705/biomedica.v35i2.2567.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA), WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (WPCF). 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 ed. American Public Health Association, New York. 1368 p.

- ARBAOUI, A. A.; CHUA, T. H. 2014. Bacteria as a source of oviposition attractant for *Aedes aegypti* mosquitoes. *Tropical Biomedicine* 31 (1): 134-142.
- BHATT, S.; GETHING, P.; BRADY, O.; MESSINA, J.; FARLOW, A.; MOYES, C.; DRAKE, J.; BROWNSTEIN, H.; HOEN, A.; SANKOH, O.; MYERS, M.; GEORGE, D.; JAENISCH, T.; WINT, W.; SIMMONS, C.; FARRAR, S.; HAY, S. 2013. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 496:504-507. doi: 10.1038/nature12060.
- BISSET, J. A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54 (3): 202-219.
- BORBOLLA-SALA, M. E.; VIDAL-PÉREZ, M. D.; PIÑA-GUTIÉRREZ, O. E.; CRUZ-QUIROZ, I. B.; VIDAL-VIDAL, J. J. 2005. Características sanitarias del agua en Tabasco 2003. *Salud en Tabasco* 11 (3): 375-379.
- BRADY, O.; GETHING, P.; BHATT, S.; MESSINA, J.; BROWNSTEIN, J.; HOEN, A.; MOYES, C.; FARLOW, A.; SCOTT, T.; HAY, S. 2012. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (8): e1760. doi: 10.1371/journal.pntd.0001760.
- CARVAJAL, J.; MONCADA, L.; RODRÍGUEZ, M.; PÉREZ, L.; OLANO, V. 2009. Caracterización preliminar de los sitios de cría de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) en el municipio de Leticia, Amazonas, Colombia. *Biomedica* 29 (3): 413-23. doi: 0.7705/biomedica.v29i3.13
- CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE CUNDINAMARCA (CAR). 2012. Atlas ambiental CAR 50 años. CAR, Bogotá. 240 p.
- DADA, N.; VANNAVONG, N.; SEIDU, R.; LENHART, A.; STENSTRÖM, T.; CHAREONVIRIYAPHAP, T.; OVERGAARD, H. 2013. Relationship between *Aedes aegypti* production and occurrence of *Escherichia coli* in domestic water storage containers in rural and sub-urban villages in Thailand and Laos. *Acta Tropica* 126 (3): 177-185. doi: 10.1016/j.actatropica.2013.02.023 PMID:23499713.
- DADA, N.; JUMAS-BILAK, E.; MANGUIN, S.; SEIDU, R.; STENSTRÖM, T.; OVERGAARD, H. 2014. Comparative assessment of the bacterial communities associated with *Aedes aegypti* larvae and water from domestic water storage containers. *Parasites & Vectors* 7: 391. doi: 10.1186/1756-3305-7-391.
- FERNÁNDEZ, E.; LEONTSINI, E.; SHERMAN, C.; CHAN, A.; REYES, C.; LOZANO, R.; FUENTES, B.; NICHTER, M.; WINCH, P. 1998. Trial of a community-based intervention to decrease infestation of *Aedes aegypti* mosquitoes in cement washbasins in El Progreso, Honduras. *Acta Tropica* 70 (2): 171-183. doi: 10.1016/S0001-706X(98)00033-3.
- GARCÍA, D. C. 2015. Estructura ecológica de los hábitats larvarios de *Aedes aegypti* en reservorios artificiales de agua. Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 71 p.
- GARCÍA-BETANCOURT, T.; HIGUERA-MENDIETA, D.; GONZÁLEZ-URIBE, C.; CORTÉS, S.; QUINTERO, J. 2015. Understanding water storage practices of urban residents of an endemic dengue area in Colombia: perceptions, rationale and socio-demographic characteristics. *PLoS ONE* 10 (6): e0129054. doi: 10.1371/journal.pone.0129054.
- GONZÁLEZ, R.; GAMBOA, F.; PERAFÁN, O.; SUÁREZ, M.; MONTOYA-LERMA, J. 2007. Experience of an entomological analysis of the breeding sites of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Cali, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 33 (2): 148-156.
- HASSELSCHWERT, D.; ROCKETT, C. L. 1988. Bacteria as ovipositional attractants for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Great Lakes Entomologist* 21 (4): 163-168.
- IKESHOJI, T.; SAITO, K.; YANO, A. 1975. Bacterial production of the ovipositional attractants for mosquitoes on fatty acid substrates. *Applied Entomology and Zoology* 10: 239-242.
- INSTITUTO NACIONAL DE SALUD (INS) (Colombia). 2014. Boletín Epidemiológico Semanal 53: 1-34.
- INTERNATIONAL BUSINESS MACHINES CORPORATION (IBM). 2015. IBM SPSS Statistics para Windows, Versión 22.0. Disponible en: http://www-01.ibm.com/support/knowledgecenter/?lang=es#!SSLVMB_22.0.0/com.ibm.spss.statistics.help/spss/base/overvw_container.htm [Fecha de revisión: 8 agosto 2015].
- JOY, T.; ARIK, A.; CORBY-HARRIS V.; JOHNSON, A.; RIEHLE, M. 2010. The impact of larval and adult dietary restriction on lifespan, reproduction and growth in the mosquito *Aedes aegypti*. *Experimental Gerontology* 45 (9): 685-690.
- LEROY, P.; SABRI, A.; VERHEGGEN, F.; FRANCIS, F.; THONART, P.; HAUBRUGE, E. 2011. The semiochemically mediated interactions between bacteria and insects. *Chemoecology* 21 (3): 113-122. doi: 10.1007/s00049-011-0074-6.
- LINDH, J.; KÄNNASTE, A.; KNOLS, B.; FAYE, I.; BORG-KARLSON, A.-K. 2008. Oviposition responses of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) and identification of volatiles from bacteria-containing solutions. *Journal of Medical Entomology* 45 (6): 1039-1049. doi: 10.1603/0022-2585(2008)45[1039:OR OAGS]2.0.CO;2
- MAESTRE, R.; REY, G.; DE LAS SALAS, J.; VERGARA, C.; SANTACOLOMA, L.; GOENAGA, S.; CARRASQUILLA, M. 2010. Estado de la susceptibilidad de *Aedes aegypti* a insecticidas en Atlántico (Colombia). *Revista Colombiana de Entomología* 36 (2): 242-248.
- MARCHETTE, N. J.; GARCIA, R.; RUDNICK, A. 1969. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 18 (3): 411-415.
- MARQUETTI, M. C. 2008. Aspectos bioecológicos de importancia para el control de *Aedes aegypti* y otros culicidos en el ecosistema urbano. Tesis Doctorado. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. La Habana, Cuba. 186 p.
- MARTÍNEZ, M.; GÓMEZ, S. E. 2014. Chikungunya en Colombia, el inicio de la transmisión autóctona, 2014. Informe Quincenal Epidemiológico Nacional 19 (18): 260-279.
- MINARD, G.; MAVINGUI, P.; VALIENTE-MORO, C. 2013. Diversity and function of bacterial microbiota in the mosquito holobiont. *Parasites & Vectors* 6:146. doi: 10.1186/1756-3305-6-146
- MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY (3M). 2015. Placas 3M™ Petrifilm™ Aqua para análisis de agua. Disponible en: http://solutions.3m.com.co/3MContentRetrieval/API/BlobServlet?lmd=1332535098000&locale=pt_BR&assetType=MMM_Image&assetId=1319223705677&blobAttribute=ImageFile [Fecha revisión: 8 agosto 2015].
- MOHAMMED, A.; CHADEE, D. 2011. Effects of different temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Acta Tropica* 119 (1): 38-43. doi: 10.1016/j.actatropica.2011.04.004.
- NELSON, M. J. 1986. *Aedes aegypti*: biología y ecología. REF: PNSP/86-93. Organización Panamericana de la Salud, Washington D.C. 50 p.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 2015. Chikungunya. Nota descriptiva N° 327. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/> [Fecha de revisión: 11 agosto 2015].
- OVERGAARD, H.; ALEXANDER, N.; JARAMILLO, J.; OLANO, V.; VARGAS, S.; SARMIENTO, D.; LENHART, A.; SEIDU, R.; STENSTRÖM, T.; MATIZ, M. 2014. Control de diarrea y dengue en escuelas primarias rurales de Colombia: protocolo de estudio para un ensayo aleatorio y controlado por conglomerados. *Revista Salud Bosque* 4 (1): 75-90.
- PADILLA, J.; ROJAS, D. 2012. Dengue en Colombia: epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia. Guías Impresión, Bogotá. 82 p.
- PONNUSAMY, L.; WESSON, D.; ARELLANO, C.; SCHAL, C.; APPERSON, C. 2010. Species composition of bacterial communities influences attraction of mosquitoes to experimental plant infusions. *Microbial Ecology* 59 (1): 158-73. doi: 10.1007/s00248-009-9565-1.

- PONNUSAMY, L.; XU, N.; NOJIMA, S.; WESSON, D.; SCHAL, C.; APPERSON, C. 2008. Identification of bacteria and bacteria-associated chemical cues that mediate oviposition site preferences by *Aedes aegypti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (27): 9262-9267. doi: 10.1073/pnas.0802505105
- PONNUSAMY, L.; XU, N.; BÖRÖCKZY, K.; WESSON, D.; ABU AYYASH, L.; SCHAL, C.; APPERSON, C. 2010. Oviposition responses of the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to experimental plant infusions in laboratory bioassays. *Journal of Chemical Ecology* 36 (7): 709-19. doi: 10.1007/s10886-010-9806-2.
- POWELL, J. R.; TABACHNICK, W. J. 2013. History of domestication and spread of *Aedes aegypti* - A Review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 108 (suppl. 1): 11-17. doi: 10.1590/0074-0276130395.
- QUINTERO, J.; BROCHERO, H.; MANRIQUE-SAIDE, P.; BARRERA-PÉREZ, M.; BASSO, C.; ROMERO, S.; CAPRARA, A.; CRIS, J.; CUNHA, D.; BELTRÁN-AYALA, E.; MITCHELL-FOSTER K.; KROEGER, A.; SOMMERFELD, J.; PETZOLD, M. 2014. Ecological, biological and social dimensions of dengue vector breeding in five urban settings of Latin America: a multi-country study. *BMC Infectious Diseases* 14: 38. doi: 10.1186/1471-2334-14-38.
- REJMANKOVA, E.; HIGASHI, R.; GRIECO, J.; ACHEE, N.; ROBERTS, D. 2005. Volatile substances from larval habitats mediate species-specific oviposition in *Anopheles* mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* 42 (2): 95-103. doi: 10.1603/0022-2585(2005)042[0095:VSFLHM]2.0.CO;2.
- ROMERO-VIVAS, C.; LLINÁS, H.; FALCONAR, A. 2007. Three calibration factors, applied to a rapid sweeping method. *Journal of Medical Entomology* 44 (6): 930-937.
- SAMARAJEEWA, A. D.; GLASAUER, S. M.; DUNFIELD, K. E. 2010. Evaluation of Petrifilm™ EC method for enumeration of *E. coli* from soil. *Letters in Applied Microbiology* 50 (5): 457-461. doi:10.1111/j.1472-765X.2010.02819.x.
- SCHRAFT, H.; WATTERWORTH, L. A. 2005. Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: comparison of 3M Petrifilm plates with standard plating procedures. *Journal of Microbiological Methods* 60 (3): 335-42. doi: 10.1016/j.mimet.2004.10.008.
- STRICKMAN, D.; KITAYAPONG, P. 2002. Dengue and its vectors in Thailand: introduction to the study and seasonal distribution of *Aedes* larvae. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 67(3):247-259.
- SUÁREZ, R.; GONZÁLEZ, C.; CARRASQUILLA, G.; QUINTERO, J. 2009. An ecosystem perspective in the socio-cultural evaluation of dengue in two Colombian towns. *Cadernos de Saúde Pública* 25 (suppl 1): S104-S114.
- TREXLER, J.; APPERSON, C.; ZUREK, L.; GEMENO, C.; SCHAL, C.; KAUFMAN, M.; WALKER, E.; WATSON, D.; WALLACE, L. 2003. Role of bacteria in mediating the oviposition responses of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 40 (6): 841-848. doi: 10.1603/0022-2585-40.6.841.
- VAIL, J.; MORGAN, R.; MERINO, C.; GONZALES, F.; MILLER, R.; RAM, J. 2003. Enumeration of waterborne *Escherichia coli* with Petrifilm Plates: comparison to standard methods. *Journal of Environmental Quality* 32 (1): 368-373.

Recibido: 10-may-2016 • Aceptado: 03-abr-2017

Citación sugerida:

GARAY-GUTIÉRREZ, L. M.; PINILLA-AGUDELO, G.; GARCÍA-SÁNCHEZ, D. C.; QUINTERO-ESPINOSA, J. 2017. Evaluación de la influencia de *Escherichia coli* sobre los estados inmaduros de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en Girardot, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología* 43 (1): 45-50. Enero-Junio 2017. ISSN 0120-0488.