



Establecimiento de la infección con *Wolbachia* en los mosquitos *Aedes aegypti* de Bello, Medellín e Itagüí (Colombia), y su impacto en el control de la transmisión del dengue y otros arbovirus

Establishment of infection with Wolbachia in Aedes aegypti mosquitoes from Bello, Medellín and Itagüí (Colombia), and its impact on the control of the transmission of dengue and other arboviruses

Iván Darío Vélez-Bernal, MD, MSc, PhD¹, y equipo investigador WMP Global y WMP

Resumen

En las ciudades de Bello, Medellín e Itagüí, localizadas en el Valle del Aburrá, la liberación controlada durante 20 semanas de mosquitos *Aedes aegypti* criados en el laboratorio e infectados con la bacteria *Wolbachia* logró el establecimiento de esta bacteria en la mayoría de las poblaciones locales de este mosquito, lo que ha llevado al control de la transmisión de dengue, medida por series de tiempo antes y después de las liberaciones y con un estudio caso-control, y que estas ciudades presenten el menor número de casos desde el 2001, año en que se inició la notificación obligatoria de casos.

Previo a las liberaciones en estas 3 ciudades se hizo, en 2015, una prueba piloto en el barrio París de Bello, localidad que era considerada hiperendémica para dengue y localizada a 1800 m sobre el nivel del mar. En esta prueba piloto se pudo demostrar que las comunidades conocen y temen al dengue, que lo han sufrido desde hace décadas y que luego de una adecuada socialización del proyecto, las comunidades aceptan que se haga la liberación de mosquitos con *Wolbachia*. En esta prueba piloto el 95% de las personas aceptaron las liberaciones. Además, se demostró que se alcanza el establecimiento de la infección con *Wolbachia* en las poblaciones locales de *Aedes*, infección que persiste en el tiempo y 7 años después de la última liberación cerca del 100% de los mosquitos mantienen la infección con la bacteria.

Luego de la prueba piloto, del 2017 al 2021 se fueron liberando en forma secuencial, comuna por comuna, mosquitos con *Wolbachia* en la totalidad de los territorios de Bello, Medellín e Itagüí, en un área total mayor de 120 Kms², para ello las ciudades fueron divididas en cuadrantes de 50 x 50 m y en cada cuadrante el equipo investigador liberó una vez por semana durante 20 semanas aproximadamente 120 mosquitos adultos, cultivados en el laboratorio.

Los resultados de este estudio medidos por series de tiempo y con diseño caso-control muestran una extraordinaria disminución en el número de casos en las 3 ciudades, el menor número de casos en los últimos 20 años.

Antecedentes de Dengue, Zika y Chikungunya en el Valle del Aburrá y esfuerzo de las autoridades por controlar la transmisión

Desde el año 2001 el dengue es una enfermedad de notificación obligatoria en Colombia; transmitida por el *Aedes aegypti*, el mismo vector responsable de la transmisión y brotes epidémicos del Chikungunya en 2014 y del Zika en 2015.

Tal como lo señala la OMS, el dengue es un problema creciente en el mundo como consecuencia especialmente del cambio climático. En Colombia las autoridades de salud señalaban, en 2015, respecto a la zona de riesgo del Zika que el *Aedes aegypti* se distribuía altitudinalmente hasta los 1800 msnm. Estudios recientes del Pecet en el valle del Aburrá señalan que ya está establecido a más de 2300 msnm y por lo tanto hay un mayor número de población que está en riesgo de contraer las enfermedades transmitidas por este mosquito.

Los grandes desplazamientos de población y la presencia simultánea de los 4 serotipos del dengue hacen que cada vez los brotes epidémicos se estén presentando en periodos más cortos de tiempo.

Durante varios años Medellín fue considerada la segunda ciudad de Colombia en el número de casos de dengue, después de Cali y llegó a alcanzar altas tasas de incidencia de 756 y 701 casos por cien mil habitantes durante los brotes epidémicos de 2010 y 2016 respectivamente como se presenta en la tabla 1.

¹Fundador PECET, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia y PI WMP en Valle del Aburrá. ORCID: 0000-0003-2227-4662.

Tabla 1

Número de casos de dengue en Medellín desde el 2002. En 2019 se inició la liberación de mosquitos con *Wolbachia*. En 2016 fue el último brote epidémico y se esperaba otro similar para el 2021

Año	Número de casos	Año	Número de casos
2002	1086	2013	2478
2003	2585	2014	2819
2004	642	2015	3757
2005	658	2016	16767
2006	1233	2017	1925
2007	2479	2018	1365
2008	733	2019	1313
2009	831	2020	631
2010	17469	2021	245
2011	843	2022	286
2012	779	2023*	162 (semana 26, 1 de julio)

Ante la falta de medicamentos y vacunas las autoridades de salud, siguiendo las recomendaciones de la OMS/OPS han centrado sus esfuerzos para combatir el dengue en el control vectorial, por medio de campañas de Educación Primaria en Salud, orientadas a motivar a la población a la destrucción de criaderos y en los momentos de brotes epidémicos la aspersión intradomiciliaria de insecticidas. Sin embargo, y a pesar de los esfuerzos que se hacen para llevar a cabo estas recomendaciones de control, la realidad es que en Colombia y en general en América cada año tenemos mayor número de casos de dengue.

Una nueva estrategia para controlar dengue y otros arbovirus

Investigadores australianos encontraron que una bacteria exclusiva de insectos llamada *Wolbachia* impide que los virus se reproduzcan al interior del mosquito. Lo interesante de la *Wolbachia* es que es una bacteria intracelular obligatoria, no vive por fuera de las células del insecto, no infecta otros seres diferentes a los insectos, está ampliamente distribuida en insectos del mundo, se estima que la mitad de las especies de insectos albergan esta bacteria, aunque no se ha encontrado infectando naturalmente al *Aedes aegypti*.

Estos investigadores australianos lograron transferir la *Wolbachia* de la Mosca de las frutas al *Aedes aegypti* y encontraron que cuando el mosquito tiene *Wolbachia* no puede transmitir los virus toda vez que la bacteria impide que se repliquen en su interior^(1,2). La *Wolbachia* solo se transmite a través de los huevos del mosquito.

Antes de iniciar las liberaciones en campo las autoridades de salud de Australia, Vietnam y otros países pidieron hacer evaluaciones de seguridad con base en una metodología de árbol de problemas, esto es, una metodología que hace las preguntas teóricas, qué pasaría si... y se fueron colocando todos los posibles efectos ambientales, en las

personas, en la incidencia o la transmisión de enfermedades y para responder cada pregunta si hicieron muchas investigaciones para finalmente concluir que no hay evidencia de ningún daño que pueda ocasionar la liberación de mosquitos con *Wolbachia*.

Con estos resultados se hicieron las primeras liberaciones en dos ciudades endémicas de dengue del norte de Australia^(3,4) donde, 12 años después de la liberación la *Wolbachia*, persiste prácticamente en el 100% de los *Aedes aegypti* y el dengue se considera prácticamente erradicado. Liberaciones posteriores en Indonesia⁽⁵⁾ y Vietnam muestran resultados similares y más recientemente en Brasil y en Colombia⁽⁶⁾.

Toda vez que la *Wolbachia* también impide la transmisión de zika, chikungunya^(7,8), fiebre amarilla y otros virus, se creó el World Mosquito Program como una alternativa novedosa, segura, eficiente, sostenible y sin ánimo de lucro para controlar estas enfermedades.

El reto de conseguir la aprobación comunitaria para la liberación de zancudos

En medios de comunicación se ha dicho que el animal más mortal del planeta es el zancudo, responsable de la muerte de millones de personas cada año y que tenemos que temerle y combatirlo, sin embargo no es el zancudo directamente el que mata sino los gérmenes que transmite y que ocasionan enfermedades que pueden ser mortales como malaria, fiebre amarilla, leishmaniasis, dengue ... de ahí que un programa de control basado en la liberación de mosquitos es un reto grande para que la comunidad acepte que se lleve a cabo.

Para lograrlo el WMP desarrolló una metodología transparente, ética y responsiva para que la comunidad conozca perfectamente los fundamentos del programa que se está haciendo, participe del mismo, tenga rápidamente respuesta a

todas sus inquietudes y decida mayoritariamente sobre la liberación o no de los mosquitos con *Wolbachia* en su barrio y ciudad. Brevemente, en este Modelo de Aceptación Pública se solicita el visto bueno de un Comité Local de Ética y de las autoridades de salud, posteriormente se llega a la comunidad a través de los líderes de cada localidad, barrio o comuna a quienes se presenta el proyecto, se discute con ellos la metodología y el lenguaje de las campañas de socialización, se pide permiso para trabajar con la comunidad y se les solicita que conforme un comité operativo permanente que haga el puente entre la comunidad y los investigadores, para resolver sus dudas y escuchar sus sugerencias y opiniones; posteriormente se hace una amplia difusión del programa a todo nivel dentro de la comunidad por medio de talleres, conferencias, mensajes en los medios de comunicación, se establece un PQRS, se socializa y se responden inquietudes con la academia, colegios, universidades y organizaciones populares, religiosas, etcétera. Al final de esta socialización se contrata una empresa encuestadora independiente para que determine el porcentaje de la población que conoce y acepta que se lleve a cabo en su comunidad el control biológico. La aprobación debe ser mayoritaria.

Ya con la aprobación de autoridades y de la comunidad se inicia la liberación controlada de los mosquitos.

¿Cómo se preparan los mosquitos en el laboratorio y qué controles de calidad tiene el programa?

Durante la fase de socialización del programa se establece en el laboratorio una colonia de mosquitos locales; para ello se utilizan ovitrampas y trampas BG. Los mosquitos se entrecruzan con una cepa de mosquitos con *Wolbachia* establecida en laboratorio.

Esta colonia se sigue alimentando con mosquitos locales, entrecruzando por varias generaciones para que al final tengan el mismo acervo genético de las poblaciones locales de *Aedes*.

Para determinar si un mosquito tiene *Wolbachia* se hace una prueba de PCR en tiempo real. Antes de la liberación de los mosquitos se toma una muestra de la colonia, se hace la PCR y todos los mosquitos deben tener *Wolbachia*, de lo contrario se descartan todos.

La liberación se puede hacer con mosquitos adultos o con huevos. Para liberar los mosquitos adultos, se coloca en recipientes de liberación un número preestablecido de larvas, que se dejan evolucionar hasta el estado adulto; aproximadamente de 120 a 150 adultos por frasco que se liberan en cada Grid o cuadrado de 50 por 50 metros² en que se dividió la zona a proteger.

También se puede liberar huevos, para esto se preparan cápsulas de gelatina que contienen los huevos de *Aedes* con *Wolbachia*, más alimento para larvas. Estas cápsulas se colocan en recipientes con agua y estos recipientes a su vez se colocan

en árboles, parques, solares o antejardines; en contacto con el agua muy rápidamente de los huevos salen las larvas que evolucionan, se transforman en pupas y luego en adultos los cuales salen del recipiente de liberación y buscan los mosquitos locales para aparearse y así transmitir la *Wolbachia* a su descendencia.

Existe un fenómeno de incompatibilidad citoplasmática, cuando un mosquito macho con *Wolbachia* se aparee con una hembra sin *Wolbachia*, su descendencia no va a ser fértil, los huevos no van a eclosionar, pero en todos los otros casos, cuando la hembra tiene la bacteria y el macho no, o cuando ambos tienen *Wolbachia* todos los huevos van a tener la bacteria que estará presente en los adultos y se sigue transmitiendo en las generaciones sucesivas durante muchos años.

Investigaciones realizadas en Inglaterra muestran que la relación *Aedes* y *Wolbachia* es una relación natural, porque no hubo manipulación biológica ni genética, ni en el mosquito ni en la bacteria y por lo tanto en el modelo matemático que ellos hicieron muestran que durante al menos 80 años se tendrá el efecto de controlar la transmisión de los virus en el *Aedes aegypti*. De aquí la sostenibilidad de este método que no la tiene ninguna otra medida de control existente en este momento en el planeta⁽⁹⁾.

Preparación para la liberación de los mosquitos y evaluación del establecimiento de la bacteria en los mosquitos locales

Es muy importante contar con mapas precisos de las ciudades para los trazados de Grids o cuadrados de 50 por 50 metros. Cada Grid es un punto de liberación. Se deben establecer las rutas por las que irán los vehículos y los recipientes con los mosquitos. En el caso del Valle del Aburrá (Medellín, Bello e Itagüí), en cada Grid se hizo liberación semanal, durante 20 semanas de mosquitos adultos; para ello se utilizaron automóviles, motos y si las condiciones del terreno no permitían el ingreso de estos vehículos, las liberaciones se hicieron a pie.

En cuadrados mayores, de 250 x 250 m se instalaron trampas BG para captura de adultos. Estas capturas se llevaban al laboratorio y uno a uno se hizo PCR en tiempo real a cada *Aedes aegypti* capturado, para determinar si tenían o no *Wolbachia*. De esta forma se fue monitoreando el establecimiento de la *Wolbachia* en las tres ciudades.

¿Cómo se mide el impacto en el control de dengue, zika y chikungunya?

Para medir el impacto de la liberación de mosquitos con en el Valle del Aburrá se preparó un protocolo de investigación que fue publicado en Clinical Trials⁽¹⁰⁾ y luego publicado en una revista indexada⁽¹¹⁾. En este protocolo se estableció que el impacto se mediría de dos maneras. Un estudio caso-control (nivel de evidencia I) para lo cual se seleccionaron cuatro comunas de Medellín, hiperendémicas para dengue, con

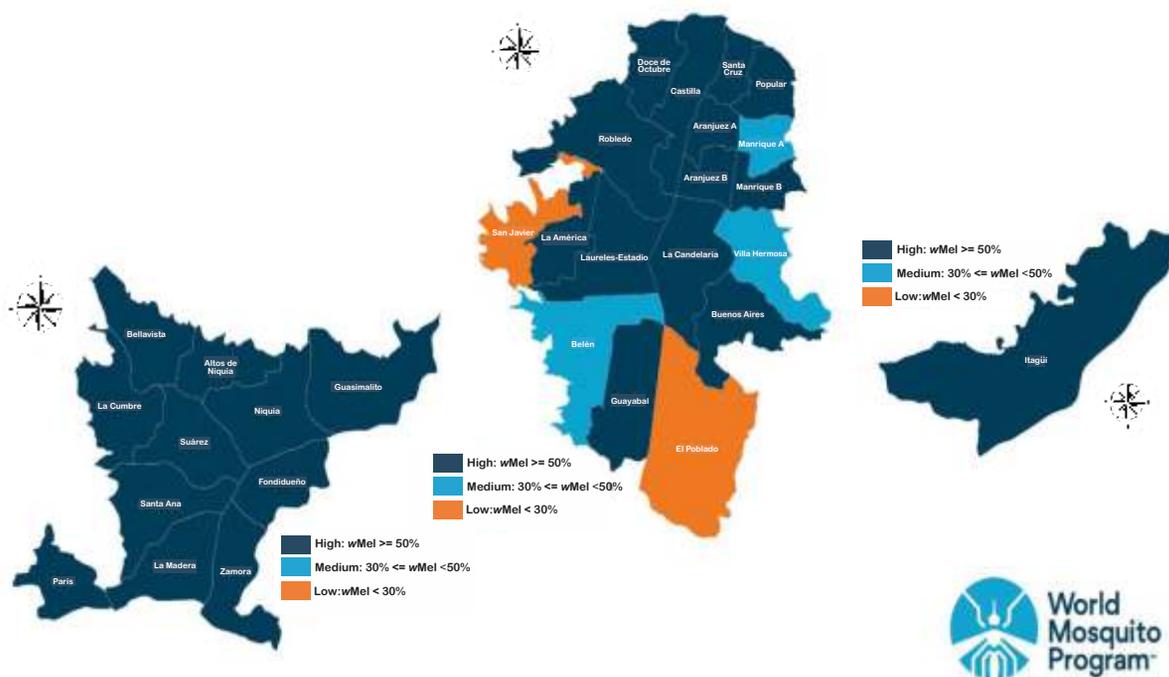


Figura 1. Establecimiento de *Wolbachia* en Bello, Medellín e Itagüí, octubre 2012.

aproximadamente 500.000 habitantes. En la mitad del territorio se liberaron mosquitos con *Wolbachia* y la otra mitad fue el control. Gracias al sistema de aseguramiento de salud que tiene la población colombiana, fue fácil establecer las clínicas y hospitales donde consultan las personas residentes en estas cuatro comunas y se solicitó la colaboración de 11 de estas clínicas u hospitales donde consulta la mayoría de los residentes de estas comunas. Contratamos enfermeras y se socializó el proyecto con el personal de salud, para que cuando llegaran pacientes sospechosos de dengue, zika o chikungunya fueron remitidos a nuestra enfermera, y previa firma del informe consentimiento se llenó un formulario e hizo toma de muestra de sangre para ver si tenía alguna de estas enfermedades. A cada paciente se le hizo PCR en tiempo real para dengue, zika y chikungunya, la prueba de NS1 para dengue y la búsqueda de anticuerpos Ig G e Ig M. Posteriormente los casos positivos se fueron ubicando en el mapa de acuerdo a su dirección de residencia.

La segunda medida de evaluación fueron las series interrumpidas de tiempo, de acuerdo a los registros de las Secretarías de Salud y del Ministerio de Salud, y se compararon las tasas de incidencia de casos de dengue, zika y chikungunya en la ciudad antes y después de la liberación de los mosquitos con *Wolbachia*.

Resultados

Aceptación pública. Los resultados de las encuestas de aceptación de la liberación de los mosquitos, realizada por la

firma encuestadora Yanhass muestran que la aceptación fue del 80%, 87% y 97% en Bello, Medellín e Itagüí, respectivamente. Cómo se ve la gran mayoría de las personas encuestadas conocían y aceptaron liberación de los mosquitos.

Establecimiento de la *Wolbachia*. En la figura 1 se presenta el establecimiento de la *Wolbachia* en las diferentes comunas de Bello, Medellín a Itagüí a octubre de 2021, el color naranja muestra las comunas con tasas de infección menores del 30%, el color azul claro muestra las comunas con tasas de infección del 30 al 50% y el color azul oscuro señala tasas de infección mayores o iguales al 50%.

De acuerdo a las proyecciones matemáticas hechas por Ferguson y colaboradores⁽¹²⁾ cuando la *Wolbachia* está presente en el 50% de los mosquitos, la transmisión del dengue disminuye en un 90% y esto se ha comprobado en los 3 municipios del Valle del Aburrá.

En efecto, la figura 2 presenta el análisis de series de tiempo del 2008 al 2021, con la disminución del número de casos en Bello, Medellín e Itagüí del 94%, 89% y 97% respectivamente luego de la liberación de mosquitos con *Wolbachia*.

El sombreado azul claro indica la cobertura del área de *Wolbachia* (km²) en áreas tratadas parcialmente con *Wolbachia* y el sombreado azul más oscuro indica la cobertura del área de *Wolbachia* (km²) en áreas totalmente tratadas con *Wolbachia*.

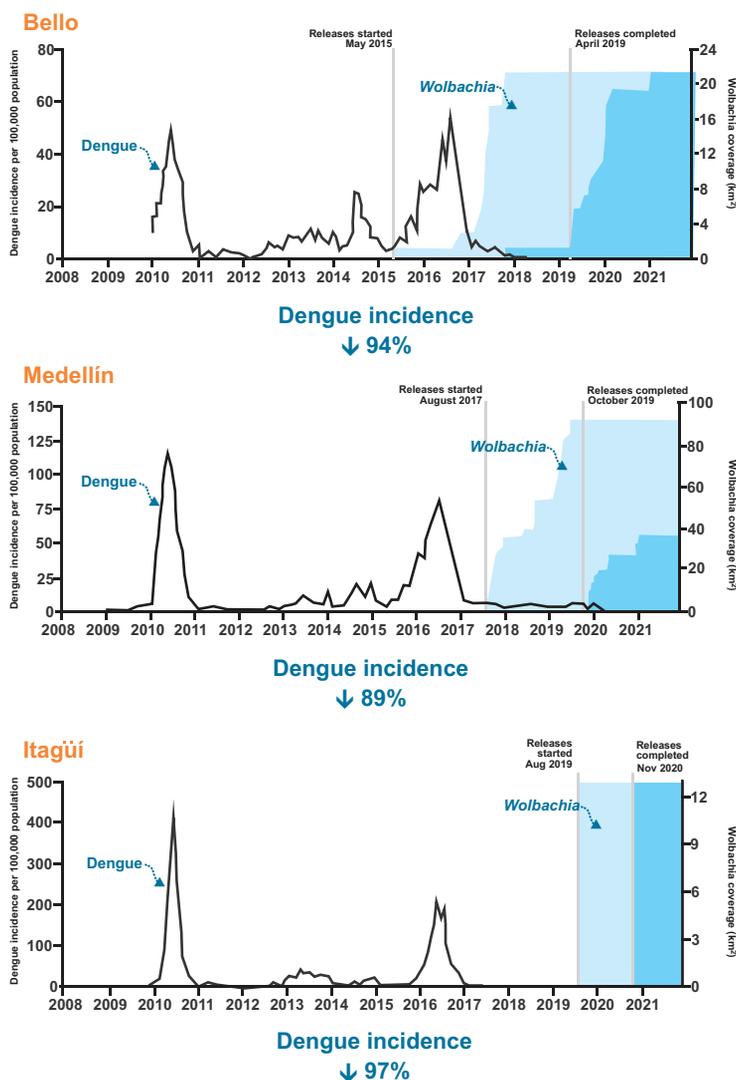
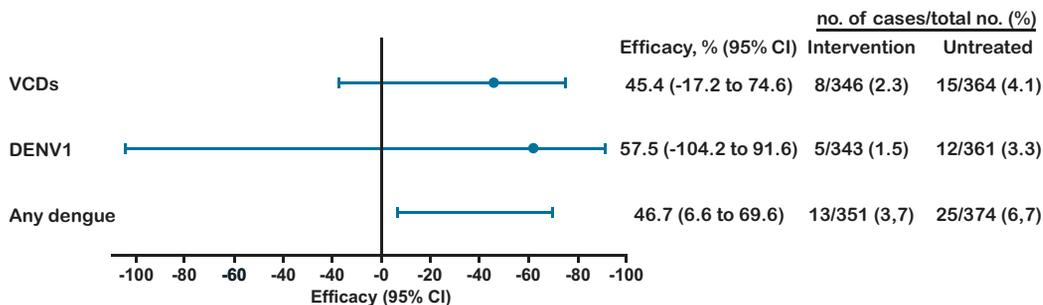


Figura 1. Incidencia anual del dengue en Bello, Medellín e Itagüí y área urbana en kilómetros cuadrados. El sombreado azul claro muestra el área de la ciudad donde se iniciaron las liberaciones y el sombreado azul oscuro muestra el área de la ciudad donde se completaron las liberaciones. Obsérvese la extraordinaria reducción de incidencia luego del inicio de las liberaciones.

En cuanto el estudio caso control, si tenemos en cuenta la variable Residir / No residir en zona con *Wolbachia*, la incidencia de dengue virológicamente confirmado (PCR o NS1 positivo) fue 45 % menor en el área tratada con *Wolbachia* que en el área no tratada.

La incidencia de cualquier dengue (VCD e IgM positivos) fue significativamente menor en el área tratada con *Wolbachia* que en el área no tratada con 47 % de reducción en la incidencia de dengue.

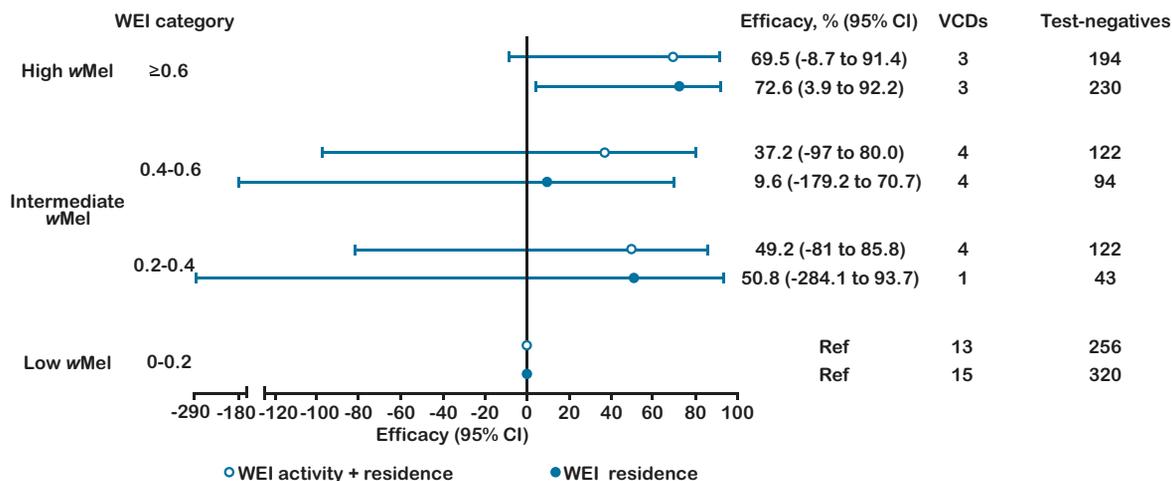


Incidencia de dengue de acuerdo a la exposición a *Wolbachia*

La incidencia de DCV fue un 70-73% menor entre los participantes con los niveles más altos de exposición a *Wolbachia* en comparación con los participantes con los niveles más bajos de exposición.

persiste en el tiempo, a través de generaciones sucesivas del *Aedes aegypti*.

Que el control biológico con *Wolbachia* es una medida sostenible puesto que en la zona donde se llevó a cabo la prueba piloto, barrio París, que se realizó en 2015 cerca del 100% de los *Aedes* mantienen la bacteria *Wolbachia*.



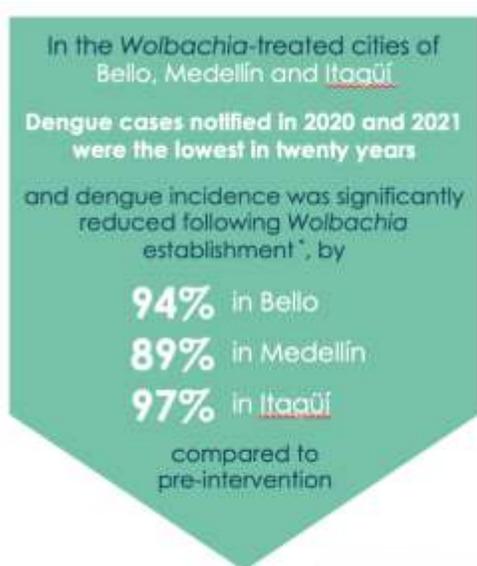
Conclusiones

En conclusión, los resultados de Bello, Medellín e Itagüí muestran que, debidamente informada, la población mayoritariamente acepta el control biológico del dengue.

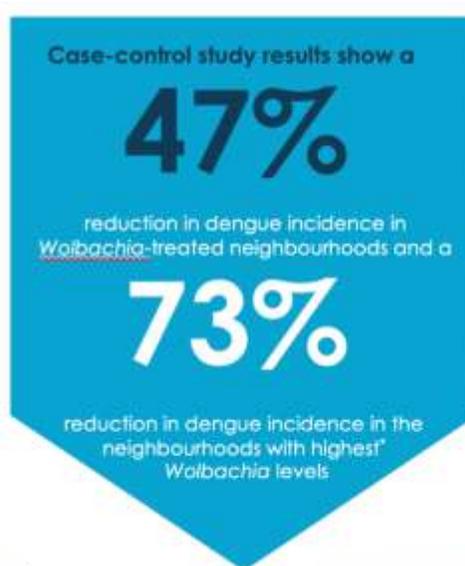
Que la liberación de *Aedes aegypti* con *Wolbachia* produce un impacto importante en la disminución de la prevalencia del dengue y otros arbovirus y, aún en época de epidemia nacional, las ciudades donde se llevó a cabo el control biológico presentan el menor número de casos de los últimos 20 años.

Que se logra un buen establecimiento de la infección con *Wolbachia* en la población local de mosquitos y que esta

Los resultados de eficacia se resumen en la siguiente imagen:



**Wolbachia* prevalence >60% in *Ae. aegypti*. Dengue data current to Dec 2021.



**Wolbachia* prevalence >60% in *Ae. aegypti*.

Referencias bibliográficas

1. Walker T, Johnson PH, Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Frentiu FD, McMeniman CJ, et al. The wMel *Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature*. 2011;476:450-453. doi:10.1038/nature10355
2. Hoffmann AA, Iturbe-Ormaetxe I, Callahan AG, Phillips BL, Billington K, Axford JK, et al. Stability of the wMel *Wolbachia* Infection following Invasion into *Aedes aegypti* Populations. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e3115. doi:10.1371/journal.pntd.0003115
3. O'Neill SL, Ryan PA, Turley AP, Wilson G, Retzki K, Iturbe-Ormaetxe I, et al. Scaled deployment of *Wolbachia* to protect the community from dengue and other *Aedes* transmitted arboviruses. *Gates Open Res*. 2019;2:36. doi:10.12688/gatesopenres.12844.2
4. Ryan PA, Turley AP, Wilson G, Hurst TP, Retzki K, Brown-Kenyon J, et al. Establishment of wMel *Wolbachia* in *Aedes aegypti* mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia. *Gates Open Res*. 2019;3:1547. doi:10.12688/gatesopenres.13061.1
5. Utarini A, Indriani C, Ahmad RA, Tantowijoyo W, Arguni E, Ansari MR, et al. Efficacy of *Wolbachia*-Infected Mosquito Deployments for the Control of Dengue. *N Engl J Med*. 2021;384:2177-2186. doi:10.1056/NEJMoa2030243
6. *Wolbachia*-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other *Aedes*-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0009556. doi:10.1371/journal.pntd.0009556
7. Aliota MT, Walker EC, Yepes AU, Velez ID, Christensen BM, Osorio JE. The wMel Strain of *Wolbachia* Reduces Transmission of Chikungunya Virus in *Aedes aegypti*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004677. doi:10.1371/journal.pntd.0004677
8. Aliota MT, Peinado SA, Velez ID, Osorio JE. The wMel strain of *Wolbachia* Reduces Transmission of Zika virus by *Aedes aegypti*. *Sci Rep*. 2016;6:28792. doi:10.1038/srep28792
9. Ross PA, Robinson KL, Yang Q, Callahan AG, Schmidt TL, Axford JK, et al. A decade of stability for wMel *Wolbachia* in natural *Aedes aegypti* populations. *PLoS Pathog*. 2022;18:e1010256. doi:10.1371/journal.ppat.1010256
10. Velez ID, Santacruz E, Kutcher SC, Duque SL, Uribe A, Barajas J, et al. The impact of city-wide deployment of *Wolbachia*-carrying mosquitoes on arboviral disease incidence in Medellin and Bello, Colombia: study protocol for an interrupted time-series analysis and a test-negative design study. 2020.
11. WMP-Colombia. ClinicalTrials.gov NCT03631719: Impact of *Wolbachia* Deployment on Arboviral Disease Incidence in Medellin and Bello, Colombia. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. 31 Mar 2022 [cited 23 Oct 2022]. Available: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03631719>
12. Ferguson NM, Kien DTH, Clapham H, Aguas R, Trung VT, Chau TNB, et al. Modeling the impact on virus transmission of *Wolbachia*-mediated blocking of dengue virus infection of *Aedes aegypti*. *Sci Transl Med*. 2015;7:279ra37. doi:10.1126/scitranslmed.3010370

Contribución de autoría: Iván Darío Vélez-Bernal ha participado en la concepción del artículo, la recolección de datos y su redacción, revisión científica y aprobación de la versión final.

Conflicto de interés: El autor no tiene conflicto de interés con la publicación de este trabajo.

Financiamiento: Fundación Bill y Melinda Gates, la Wellcome Trust, USAID, Universidad Monash y la Universidad de Antioquia.

Citar como: Vélez-Bernal ID. Establecimiento de la infección con *Wolbachia* en los mosquitos *Aedes aegypti* de Bello, Medellín e Itagüí (Colombia), y su impacto en el control de la transmisión del dengue y otros arbovirus. *Diagnóstico (Lima)*. 2023;62(2):143-149.

DOI: <https://doi.org/10.33734/diagnostico.v62i2.460>

Correspondencia: Iván Darío Vélez Bernal. SIU-UdeA, Calle 62 # 52-59 Medellín-Colombia.

Correo electrónico: ivan.velez@udea.edu.co

Teléfono(s): (+57) 3188069157



Revista
DIAGNÓSTICO



Revista
DIAGNÓSTICO



Revista
DIAGNÓSTICO