

**O uso de inimigos naturais nativos do Brasil para o controle biológico de
Aedes aegypti: uma revisão sistemática**

**The use of native natural enemies from Brazil for the biological control of
Aedes aegypti: a systematic review**

**El uso de enemigos naturales nativos de Brasil para el control biológico de
Aedes aegypti: una revisión sistemática**

Gleison Rafael Queiroz Mendonça

Mestre em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia

Instituição: Universidade Federal do Acre

Endereço: Rio Branco – Acre, Brasil

E-mail: gleisonrafael13@gmail.com

Lisandro Juno Soares Vieira

Doutor em Ecologia e Recursos Naturais

Instituição: Universidade Federal de São Carlos

Endereço: Rio Branco – Acre, Brasil

E-mail: lisandro@ufac.br

RESUMO

O controle populacional dos vetores de doenças em humanos é decisivo para a atenuação da incidência dessas doenças. Em muitos casos, o controle de vetores é o único método para evitar epidemias de doenças. O controle do *Ae. aegypti* no Brasil é baseado no manejo integrado de vetores, que envolve desde métodos de controle mecânico, químico e biológico. O objetivo desse estudo foi reunir os estudos produzidos no Brasil referente ao controle biológico de *Aedes aegypti* utilizando patógenos, predadores e parasitas. Para tanto, o referencial teórico foi obtido nas seguintes plataformas de dados: Google Scholar, Science Direct e Scielo. Para a seleção de artigos, foram utilizados os seguintes descritores: *Aedes aegypti*; Biological control OU Controle biológico; Predators OU Predadores; Parasites OU Parasitas; Pathogens OU Patógenos; Brazil OU Brasil. O critério de inclusão decisivo foi artigos de pesquisa originais que abordem a seleção de inimigos naturais nativos do Brasil para o controle biológico de *Ae. aegypti* publicados nos últimos dez anos (2014-2023). 33 artigos foram selecionados por atenderem aos critérios de inclusão pré-estabelecidos, sendo que 67% são referentes ao uso de patógenos para o controle de *Aedes aegypti*, 24% ao uso de predadores e 9% com o uso de parasitas. Espécies do gênero *Metarhizium*, *Beauveria bassiana* e *Bacillus thuringiensis* se destacam como os principais patógenos empregados para o controle de *Ae. aegypti*, enquanto libélulas da ordem odonata e espécies de camarões se destacam como predadores mais usuais e os nematoides *Heterorhabditis indica* e *Steinernema* sp. se destacam entre os parasitas. Esse estudo expõe a urgente necessidade de diversificação de abordagens pelos pesquisadores brasileiros, de modo que esforços futuros devam trazer à tona novos organismos predadores e parasitas potenciais afim de promover maior equilíbrio aos programas de Manejo Integrado do vetor *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: mosquito da dengue, patógenos, predadores, parasitas.

ABSTRACT

The population control of disease vectors in humans is crucial for reducing the incidence of these diseases. In many cases, vector control is the only method available to prevent disease epidemics. The control of *Aedes aegypti* in Brazil is based on integrated vector management, which involves mechanical, chemical, and biological control methods. The aim of this study was to compile research conducted in Brazil on the biological control of *Aedes aegypti* using pathogens, predators, and parasites. The theoretical framework was obtained from the following databases: Google Scholar, Science Direct, and SciELO. For article selection, the following descriptors were used: *Aedes aegypti*; Biological control OR Controle biológico; Predators OR Predadores; Parasites OR Parasitas; Pathogens OR Patógenos; Brazil OR Brasil. The key inclusion criterion was original research articles addressing the selection of native natural enemies from Brazil for the biological control of *Aedes aegypti*, published in the last ten years (2014–2023). Thirty-three articles met the pre-established inclusion criteria, with 67% addressing the use of pathogens for *Aedes aegypti* control, 24% addressing predators, and 9% addressing parasites. Species of the genus *Metarhizium*, *Beauveria bassiana*, and *Bacillus thuringiensis* stood out as the main pathogens used for *Aedes aegypti* control, while dragonflies of the order Odonata and shrimp species were the most common predators. The nematodes *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp. were prominent among the parasites. This study highlights the urgent need to diversify research approaches among Brazilian scientists so that future efforts can bring forth new potential predator and parasite organisms to promote greater balance in *Aedes aegypti* Integrated Vector Management programs.

Keywords: dengue mosquito, pathogens, predators, parasites.

RESUMEN

El control poblacional de los vectores de enfermedades en humanos es decisivo para la reducción de la incidencia de dichas enfermedades. En muchos casos, el control de vectores es el único método para evitar epidemias. El control de *Aedes aegypti* en Brasil se basa en el manejo integrado de vectores, que abarca métodos de control mecánico, químico y biológico. El objetivo de este estudio fue reunir los trabajos realizados en Brasil sobre el control biológico de *Aedes aegypti* mediante el uso de patógenos, depredadores y parásitos. Para ello, el marco teórico se obtuvo en las siguientes plataformas de datos: Google Scholar, Science Direct y SciELO. Para la selección de artículos se emplearon los siguientes descriptores: *Aedes aegypti*; Biological control O Controle biológico; Predators O Predadores; Parasites O Parasitas; Pathogens O Patógenos; Brazil O Brasil. El criterio de inclusión decisivo fueron los artículos de investigación originales que abordaran la selección de enemigos naturales nativos de Brasil para el control biológico de *Aedes aegypti*, publicados en los últimos diez años (2014–2023). Se seleccionaron 33 artículos que cumplieran los criterios de inclusión preestablecidos, de los cuales el 67% se referían al uso de patógenos para el control de *Aedes aegypti*, el 24% al uso de depredadores y el 9% al uso de parásitos. Las especies del género *Metarhizium*, *Beauveria bassiana* y *Bacillus thuringiensis* se destacan como los principales patógenos empleados para el control de *Aedes aegypti*, mientras que las libélulas del orden Odonata y las especies de camarones se destacan como los depredadores más comunes, y los nematodos *Heterorhabditis indica* y *Steinernema* sp. se destacan entre los parásitos. Este estudio expone la urgente necesidad de diversificar los enfoques de los investigadores brasileños, de modo que los esfuerzos futuros puedan sacar a la luz nuevos organismos depredadores y parásitos potenciales con el fin de promover un mayor equilibrio en los programas de Manejo Integrado del vector *Aedes aegypti*.

Palabras clave: mosquito del dengue, patógenos, depredadores, parásitos.

1 INTRODUÇÃO

O mosquito vetor *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) é uma praga para a saúde pública Brasileira, e dentre as doenças tropicais vetorizadas por essa espécie, dengue, Zika, chikungunya e febre amarela se destacam (Souza *et al.*, 2023). Essas doenças são comuns porque as condições climáticas e ambientais são favoráveis para esses mosquitos (Asgarian *et al.*, 2023). A má gestão de resíduos sólidos e da água, o aumento da agricultura urbana, o uso de métodos inadequados para armazenamento de água, a alta densidade populacional humana e as características potencialmente sinantrópicas do mosquito favorecem sua reprodução e estabelecimento de uma população de alta densidade (Carvalho Campos; Lima-Camara, 2023).

O controle populacional dos vetores de doenças em humanos é crucial para a atenuação da incidência dessas doenças (Manikandan *et al.*, 2023). Em muitos casos, o controle de vetores é o único método para evitar epidemias de doenças (Tourapi; Tsioutis, 2022). O controle do *Ae. aegypti* no Brasil é baseado no manejo integrado de vetores, que envolve desde métodos de controle mecânico até a eliminação ou remoção adequada de locais potenciais de reprodução de mosquitos, como pneus, tanques de água, garrafas e vários outros tipos de recipientes artificiais (Leandro *et al.*, 2022).

Outros métodos são baseados na utilização de produtos químicos como inseticidas e larvicidas, além dos métodos biológicos, que utilizam predadores, parasitas ou patógenos com o potencial de reduzir a população do vetor (Dos Santos *et al.*, 2023). No caso do controle químico utiliza-se larvicidas, repelentes, sprays repelentes de insetos e nebulização (Mulderij-Jansen *et al.*, 2022). Dentre os principais grupos de inseticidas utilizados em todo o mundo destacam-se os organofosforados, como fenitrotriona, fentiona e malationa e os piretroides, como cipermetrina, deltametrina e permetrina (Asgarian *et al.*, 2023). Já o controle biológico consiste na utilização de predadores naturais de mosquitos como libélulas, sapos, pássaros e peixes (Bonds *et al.*, 2022). Além disso, parasitas e patógenos se destacam, entre os quais o protozoário *Ascogregarina culicis*, a bactéria *Wolbachia pipientis*, e os esporos de fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* e da bactéria *Bacillus thuringiensis*, amplamente utilizadas em programas de controle biológico de *Ae. aegypti*. (Mas'ulun *et al.*, 2023).

Dentre as diversas técnicas inovadoras já usuais para o controle populacional de *Ae. aegypti* no Brasil, um caso de sucesso é a utilização da bactéria *Wolbachia* (Mishra *et al.*, 2022). Quando os machos estão infectados por *Wolbachia*, o acasalamento com fêmeas sem *Wolbachia* na natureza leva à postura de ovos inviáveis (Ant *et al.*, 2023). As fêmeas infectadas por essa bactéria mostram capacidade limitada de transmissão de vírus, como dengue, Zika e chikungunya (Nordin *et al.*, 2022).

Embora uma ampla variedade de métodos de controle biológico já seja utilizada no Brasil para a diminuição dos surtos populacionais de *Ae. aegypti*, há pouca informação reunida sobre inimigos naturais promissores nativos do Brasil com potencial uso a nível de produto biológico para o controle do *Ae. aegypti*. Assim, o objetivo deste estudo é atualizar as informações disponíveis sobre o potencial uso de predadores, parasitas e patógenos nativos do Brasil para o controle do mosquito vetor *Aedes aegypti*.

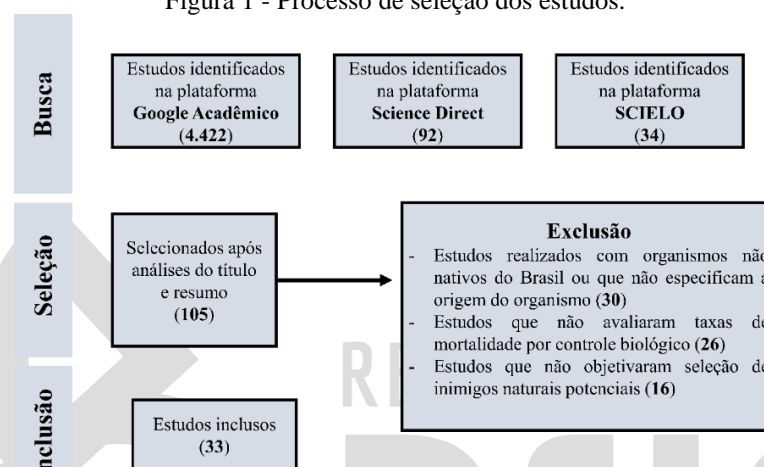
2 METODOLOGIA

Este estudo é uma revisão sistemática de estudos realizados com organismos nativos do Brasil para o controle biológico de *Aedes aegypti*. O referencial teórico foi obtido nas seguintes plataformas de dados: Google Acadêmico, Science Direct e Scielo. Para a seleção de artigos, foram utilizados os seguintes descritores: *Aedes aegypti*; Biological control OU Controle biológico; Predators OU Predadores; Parasites OU Parasitas; Pathogens OU Patógenos; Brazil OU Brasil. O critério de inclusão decisivo foi artigos de pesquisa originais que abordem a seleção de inimigos naturais nativos do Brasil para o controle biológico de *Ae. aegypti* publicados nos últimos dez anos (2014-2023). Os critérios de exclusão foram estudos que não especificaram a origem do organismo ou que não utilizaram organismos nativos do Brasil, estudos que não avaliaram taxas de mortalidade por controle biológico e estudos que não objetivaram a seleção de inimigos naturais potenciais.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Um total de 4.548 artigos foram obtidos a partir dos descritores *Aedes aegypti*; Biological control OU Controle biológico; Predators OU Predadores; Parasites OU Parasitas; Pathogens OU Patógenos; Brazil OU Brasil. Foram 4.422 artigos no Google Acadêmico, 92 no Science Direct e 34 artigos no Scielo (Figura 1).

Figura 1 - Processo de seleção dos estudos.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Após análise dos estudos pré-selecionados e aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 33 artigos foram selecionados por atenderem aos critérios pré-estabelecidos (Tabela 1).

Tabela 1 - Estudos selecionados a partir da aplicação dos critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos de acordo com tipo de inimigo natural, autor do estudo, ano de publicação, revista publicada e base de dados onde foi encontrado o estudo.

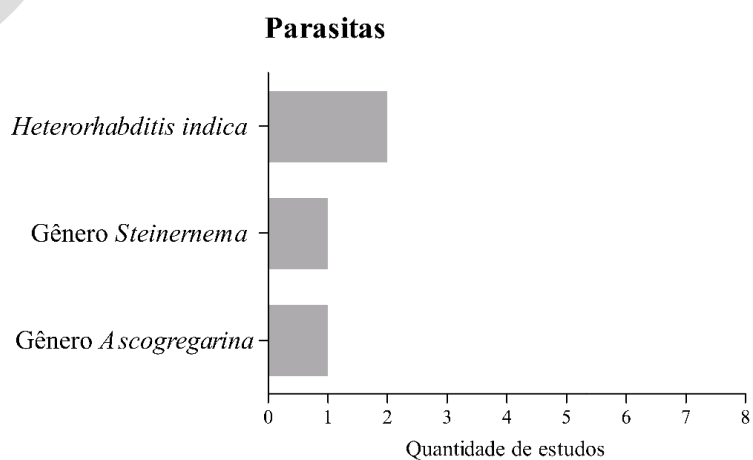
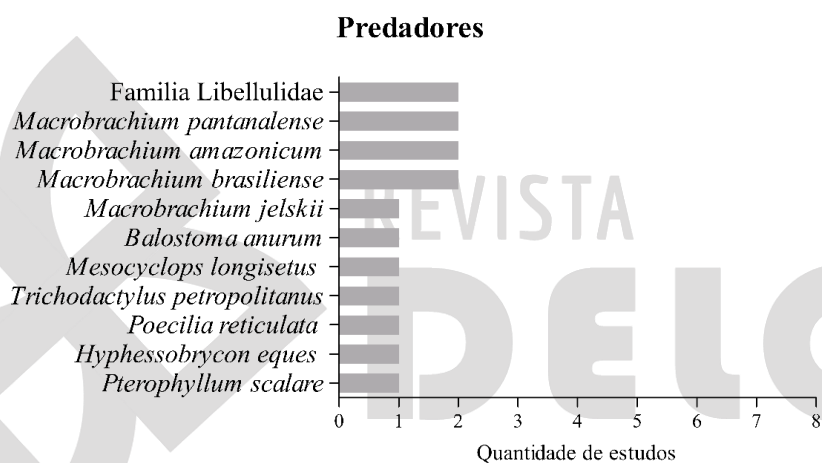
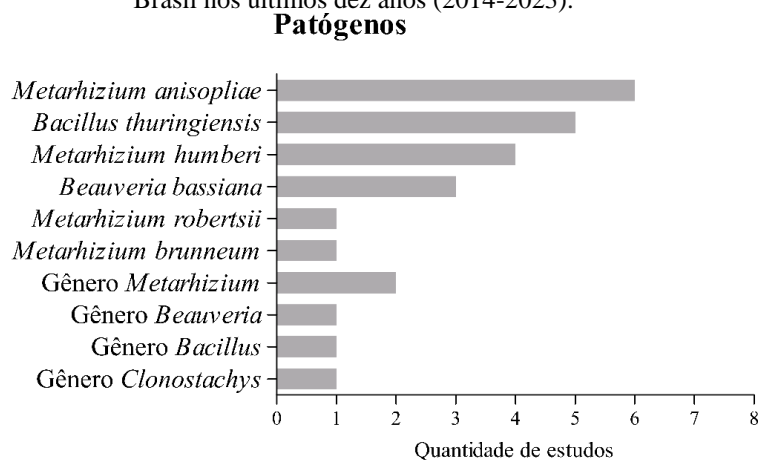
Inimigo natural	Autor	Ano	Revista	Base de dados
PATÓGENOS	Sousa <i>et al.</i>	2023	Journal of Invertebrate Pathology	Science Direct
	Bitencourt <i>et al.</i>	2022	Journal of Invertebrate Pathology	Science Direct
	De Sousa <i>et al.</i>	2021	Journal of Invertebrate Pathology	Science Direct
	Nakazawa <i>et al.</i>	2020	Biological Control	Science Direct
	Falqueto <i>et al.</i>	2021	Journal of Invertebrate Pathology	Science Direct
	Bitencourt <i>et al.</i>	2021	Acta Tropica	Science Direct
	Viana <i>et al.</i>	2023	Experimental Parasitology	Science Direct
	Rocha <i>et al.</i>	2022	Journal of Invertebrate Pathology	Science Direct
	Rodrigues <i>et al.</i>	2019	Acta Tropica	Science Direct
	Vieira-Neta <i>et al.</i>	2020	Brazilian Journal of Biology	SCIELO

	Rodrigues <i>et al.</i>	2022	Parasitology Research	Science Direct
	Carolino <i>et al.</i>	2019	Journal of Pure and Applied Microbiology	Google Acadêmico
	Martinez <i>et al.</i>	2021	Applied Microbiology and Biotechnology	Science Direct
	Ferreira <i>et al.</i>	2021	AMB Express	Science Direct
	Gomes <i>et al.</i>	2023	Journal of Fungi	Science Direct
	Carolino <i>et al.</i>	2021	Journal of Vector Borne Diseases	Science Direct
	Prado <i>et al.</i>	2020	Journal of medical entomology	Science Direct
	Rodrigues <i>et al.</i>	2021	Applied Microbiology and Biotechnology	Science Direct
	Mendonça <i>et al.</i>	2023	Brazilian Journal of Biology	SCIELO
	Soares-da-Silva <i>et al.</i>	2015	Revista Brasileira de Entomologia	Google Acadêmico
PREDADORES	Lobo <i>et al.</i>	2018	Revista Brasileira de Entomologia	Google Acadêmico
	Valbon <i>et al.</i>	2019	Neotropical Entomology	Science Direct
	Silva Filho <i>et al.</i>	2021	Ensaio em Ciências Biológicas Agrárias e da Saúde	Google Acadêmico
	Pires <i>et al.</i>	2019	Revista Hipótese	Google Acadêmico
	Carvalho <i>et al.</i>	2020	Revista Acta Ambiental Catarinense	Google Acadêmico
	Coelho <i>et al.</i>	2017	Parasite epidemiology and control	Google Acadêmico
	Pereira; Oliveira	2014	Cadernos Saúde Coletiva	Google Acadêmico
	Coelho; Buzetti	2016	Colloquium vitae	Google Acadêmico
PARASITAS	Miraldo; Pecora	2017	Boletim do Instituto de Pesca	Google Acadêmico
	Prophiro <i>et al.</i>	2017	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical	Google Acadêmico
	De Oliveira Cardoso <i>et al.</i>	2015	Nematoda	Google Acadêmico
	Cardoso <i>et al.</i>	2016	Nematoda	Google Acadêmico

Fonte: Elaborado pelos autores.

Do total dos estudos selecionados, 22 (67%) são referentes ao uso de patógenos para o controle de *Aedes aegypti*, 8 (24%) relacionados ao uso de predadores e 3 (9%) com o uso de parasitas. A partir da análise dos 33 estudos, as principais informações referentes as espécies utilizadas para controle biológico (Figura 2), o estágio de vida de *Ae. aegypti* alvo, os dados de mortalidade mais promissores obtidos nos estudos e o autor do estudo foram detalhados para patógenos (Tabela 2), predadores (Tabela 3) e parasitas (Tabela 4).

Figura 2 - Principais patógenos, predadores e parasitas estudados para o controle biológico de *Aedes aegypti* no Brasil nos últimos dez anos (2014-2023).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 2 - Principais estudos que avaliaram o potencial biocontrole de *Aedes aegypti* utilizando patógenos nativos do Brasil nos últimos dez anos (2014-2023).

Patógeno	Estágio de vida	Mortalidade	Autor
<i>Metarhizium humberi</i>	Ovos	+10%	Sousa <i>et al.</i> , 2023
<i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Beauveria bassiana</i>	Larvas	<i>M. anisopliae</i> : 90% <i>B. bassiana</i> : 25%	Bitencourt <i>et al.</i> , 2022
<i>Metarhizium humberi</i>	Ovos	70%	De Sousa <i>et al.</i> , 2021
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Larvas	80%	Nakazawa <i>et al.</i> , 2020
<i>Bacillus</i> spp.	Larvas	<i>Bacillus safensis</i> CL50 = 31,11 µL/mL <i>Bacillus paranthracis</i> CL50 = 45,84 µL/mL	Falqueto <i>et al.</i> , 2021
<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i>	Larvas	Sobrevivência: 2 dias <i>M. anisopliae</i> ; 3 dias <i>B. bassiana</i>	Bitencourt <i>et al.</i> , 2021
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Larvas	100%	Viana <i>et al.</i> , 2023
<i>Metarhizium</i> spp. e <i>B. bassiana</i>	Ovos, larvas e adultos	90-100%	Rocha <i>et al.</i> , 2022
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Adulto	CL 50 $2,7 \times 10^5$ CL 90 $2,4 \times 10^6$ conídios/cm ²	Rodrigues <i>et al.</i> , 2019
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Larvas	CL50 = 0.004 mg/mL CL90 = 0.010 mg/mL	Vieira-Neta <i>et al.</i> , 2020
<i>Clonostachys</i> spp.	Ovos, larvas e adultos	80%	Rodrigues <i>et al.</i> , 2022
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Pupas	77%	Carolino <i>et al.</i> , 2019
<i>Metarhizium humberi</i>	Adulto	67%	Martinez <i>et al.</i> , 2021
<i>Metarhizium robertsii</i>	Larvas	100%	Ferreira <i>et al.</i> , 2021
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Larvas	100%	Gomes <i>et al.</i> , 2023
<i>Metarhizium</i> spp.	Larvas	100%	Carolino <i>et al.</i> , 2021
<i>Metarhizium brunneum</i>	Larvas	50%	Prado <i>et al.</i> , 2020
<i>Metarhizium humberi</i>	Adulto	100%	Rodrigues <i>et al.</i> , 2021
<i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Beauveria</i> sp.	Larvas	100%	Mendonça <i>et al.</i> , 2023
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Larvas	100%	Soares-da-Silva <i>et al.</i> , 2015
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Larvas	100%	Lobo <i>et al.</i> , 2018

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 3 - Principais estudos que avaliaram o potencial biocontrole de *Aedes aegypti* utilizando predadores nativos do Brasil nos últimos dez anos (2014-2023).

Predador	Estágio de vida	Mortalidade	Autor
<i>Belostoma anurum</i>	Larvas	90%	Valbon <i>et al.</i> , 2019
Família Libellulidae	Larvas	6,08 larvas/dia	Silva Filho <i>et al.</i> , 2021

Ordem Odonata			
<i>Mesocyclops longisetus</i>	Larvas	80%	Pires <i>et al.</i> , 2019
Família Libellulidae			
Ordem Odonata	Larvas	70%	Carvalho <i>et al.</i> , 2020
<i>Macrobrachium pantanalense</i> , <i>M. amazonicum</i> , <i>M. brasiliense</i> e <i>M. jelskii</i>	Larvas	100%	Coelho <i>et al.</i> , 2017
<i>Poecilia reticulata</i>	Larvas	93%	Pereira; Oliveira, 2014
<i>Macrobrachium pantanalense</i> , <i>Macrobrachium amazonicum</i> , <i>Macrobrachium brasiliense</i> e <i>Trichodactylus petropolitanus</i>	Larvas	100%	Coelho; Buzetti, 2016
<i>Hyphessobrycon eques</i> , <i>Pterophyllum scalare</i>	Larvas	60%	Miraldo; Pecora, 2017

Fonte: Elaborado pelos autores.

Tabela 4 - Principais estudos que avaliaram o potencial biocontrole de *Aedes aegypti* utilizando parasitas nativos do Brasil nos últimos dez anos (2014-2023).

Parasita	Estágio de vida	Mortalidade	Autor
<i>Ascogregarina</i> spp.	Adulto	Epizootia	Prophiro <i>et al.</i> , 2017
<i>Heterorhabditis indica</i> e <i>Steinernema</i> sp.	Larvas	85%	De Oliveira Cardoso <i>et al.</i> , 2015
<i>Heterorhabditis indica</i>	Larvas	82%	Cardoso <i>et al.</i> , 2016

Fonte: Elaborado pelos autores.

4 DISCUSSÃO

O controle de *Aedes aegypti* tem chamado a atenção dos pesquisadores em todo o mundo devido sua complexidade explicada por uma variedade de fatores, incluindo o desenvolvimento de resistência a inseticidas por parte dos mosquitos e preocupações com a poluição ambiental (Zulfa *et al.*, 2022). A implementação de programas de Manejo Integrado de Vetores (MIV) tem como objetivo o desenvolvimento de uma estratégia de controle eficaz e sustentável, que englobe mais de uma ferramenta de controle para reduzir as populações deste vetor (Mulderij-Jansen *et al.*, 2022). Ferramentas seguras têm sido testadas para aprimorar o controle de vetores de doenças em humanos, e isso inclui o emprego do controle biológico utilizando patógenos, predadores e parasitas ao mosquito vetor *Aedes aegypti*.

Foi observado que 26 (79%) estudos avaliaram a eficiência de biocontrole de patógenos, predadores e parasitas contra larvas de *Ae. aegypti*. A maior busca por agentes de controle

biológico de *Ae. aegypti* em seu estágio larval pode ser explicada devido a ampla capacidade de desenvolvimento de resistência a inseticidas químicos que é característico das formas larvais de *Ae. aegypti*, o que é menos recorrente em mosquitos adultos (Sumitha *et al.*, 2023).

Dentre os grupos de inimigos naturais de *Ae. aegypti*, diversas espécies de patógenos se destacam. Um exemplo é a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* que possui uma ampla gama de compostos que são fatais para as larvas de *Ae. aegypti* (Mas'ulun *et al.*, 2023). O uso de Bt em programas de MIV tem sido promissora (Dos Santos *et al.*, 2023). Nos últimos dez anos, pelo menos cinco estudos avaliaram o potencial de biocontrole de *Ae. aegypti* utilizando Bt nativos do Brasil (Soares-da-Silva *et al.*, 2015; Lobo *et al.*, 2018; Nakazawa *et al.*, 2020; Vieira-Neta *et al.*, 2020; Viana *et al.*, 2023).

B. thuringiensis produz cristais de proteína que contêm um conjunto de quatro protoxinas inseticidas (Cry4Aa, Cry4Ba, Cry11Aa e Cyt1Aa) com ação elevada e seletiva para alguns dípteros de importância médica, como *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* e *Simulium* (Guerrero *et al.*, 2023). O cristal inseticida, que é o ingrediente ativo dos produtos à base de Bt, age no intestino médio quando ingerido pelas larvas (Agboola *et al.*, 2022). Uma vez que as protoxinas dos cristais são liberadas no lúmen do intestino médio e são processadas em toxinas, elas se ligam a receptores específicos na membrana celular do epitélio intestinal, levando à morte larval, aproximadamente 24 horas após a ingestão de uma dose letal (Shahid *et al.*, 2023). O espectro de ação de alta especificidade e a falta de relatos de resistência a partir do uso de Bt são características que endossam a adoção deste larvicida biológico por mais de três décadas (Guerrero *et al.*, 2023).

Outro grupo de microrganismos destaque entre os patógenos a *Ae. aegypti* são os fungos entomopatogênicos, onde as espécies *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* são destacáveis. Dentre os estudos selecionados, 14 (45%) estudos investigaram o potencial uso de espécies dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria* para controle de *Ae. aegypti* (Carolino *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2019; Prado *et al.*, 2020; Bitencourt *et al.*, 2021; Carolino *et al.*, 2021; De Sousa *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2021; Martinez *et al.*, 2021; Rodrigues *et al.*, 2021; Bitencourt *et al.*, 2022; Rocha *et al.*, 2022; Gomes *et al.*, 2023; Mendonça *et al.*, 2023; Sousa *et al.*, 2023).

Espécies dos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* são patógenos de insetos amplamente utilizados em ambientes agrícolas para controlar diversas pragas (Sharma *et al.*, 2023). No

entanto, esses fungos também são aplicáveis para controlar diferentes espécies de vetores relevantes para a saúde pública e veterinária, especialmente o mosquito vetor *Ae. aegypti*, que tem demonstrado alta susceptibilidade (Ridha *et al.*, 2023). A interação hospedeiro-patógeno envolve muitas funções biológicas, como interação fungo-cutícula, inibição do sistema imunológico, produção de metabólitos secundários e gerenciamento de estresse durante a infecção (Quesada-Moraga *et al.*, 2022).

As interações patogênicas dependem de uma ampla gama de aspectos biológicos dos patógenos fúngicos e de seu organismo-alvo (Sharma *et al.*, 2023). Vários aspectos do modo de ação de fungos entomopatogênicos, bem como o desempenho biocontrolador desses fungos em condição laboratorial e de campo tem sido relatado na literatura (Carolino *et al.*, 2019; Mendonça *et al.*, 2023).

Ae. aegypti se reproduz em habitats aquáticos efêmeros, como buracos de árvores ou recipientes artificiais (Bonds *et al.*, 2022). Nestes habitats, insetos predadores frequentemente são os principais predadores, dada a ausência de outros táxons aquáticos predadores, como os peixes, por exemplo (Renault *et al.*, 2023). Consequentemente, insetos predadores desempenham um papel significativo na estruturação das comunidades aquáticas e na regulação do recrutamento e abundância de populações de presas, que incluem espécies-praga como *Ae. aegypti* (Da Silva Sá *et al.*, 2023).

Dentre os vários insetos predadores de *Ae. aegypti*, as larvas de odonatas têm sido propostas como agentes de controle biológico, devido aos seus tamanhos relativamente grandes, tempos de desenvolvimento longos e habilidade predatória (May *et al.*, 2019). Nos últimos dez anos, pelo menos dois estudos destacaram a capacidade das larvas de odonatas nativas do Brasil como agentes de controle biológico de larvas de *Ae. aegypti* (Carvalho *et al.*, 2020; Silva-Filho *et al.*, 2021). No entanto, esses estudos foram em grande parte conduzidos em laboratório, e as taxas de predação das larvas de odonatas em condições de campo mais realistas e complexas, bem como sua capacidade de modificar comunidades de presas, ainda não foram amplamente estudadas.

As odonatas são conhecidas por serem predadores generalistas (May *et al.*, 2019). Na presença de outros substitutos de presas, predadores generalistas podem exibir troca de presas e se alimentar de presas que ocorrem em maior número, facilitando a coexistência entre predador e presa (Gómez-Tolosa *et al.*, 2021). Apesar de ter sido observado o sucesso de odonatas na

predação de larvas de *Ae. aegypti*, ainda são incipientes as informações referentes a quais famílias seriam mais eficazes na predação. É provável que a ocorrência de diferenças morfológicas variadas entre as famílias de odonata, desde o desenvolvimento de mandíbulas, de peça bucal mastigadora até de dentes molares e incisivos influenciem no grau de capacidade de predação de larvas entre famílias (Dambach *et al.*, 2020).

Dentre os grupos de organismos que são parasitas a *Ae. aegypti*, os nematoides entomopatogênicos, pertencentes às famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, têm sido considerados uma alternativa eficaz de controle biológico (Da Silva *et al.*, 2020). Esses parasitoides têm despertado forte interesse comercial de aplicação como inseticidas biológicos tanto na indústria agrícola, como também no que tange ao Manejo Integrado de Vetores (Abd-Elgawad *et al.*, 2019).

É durante a fase de vida livre, ou a fase de juvenis infectivos, que esses nematoides infectam o hospedeiro (Bhat *et al.*, 2020). Esses juvenis infectivos (JIs) são a única fase que ocorre fora do inseto. Os juvenis infectivos entram no hospedeiro inseto através de aberturas naturais (boca, ânus ou espiráculos) e, em seguida, penetram no hemocèle do inseto, liberando as células bacterianas que se propagam e matam o inseto em 48 horas (Raja *et al.*, 2021).

As famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae são categorizadas juntas devido à sua associação mutualística com as bactérias simbióticas *Xenorhabdus* e *Photorhabdus* spp. que são transportadas pelos juvenis infectivos (Bhat *et al.*, 2020). Os nematoides fornecem proteção e transporte para seus simbiontes bacterianos. Os simbiontes bacterianos, por sua vez, matam o hospedeiro e estabelecem condições adequadas para a reprodução do nematoide, fornecendo nutrientes e substâncias antimicrobianas que inibem o crescimento de uma ampla variedade de microrganismos (Raja *et al.*, 2021).

5 CONCLUSÃO

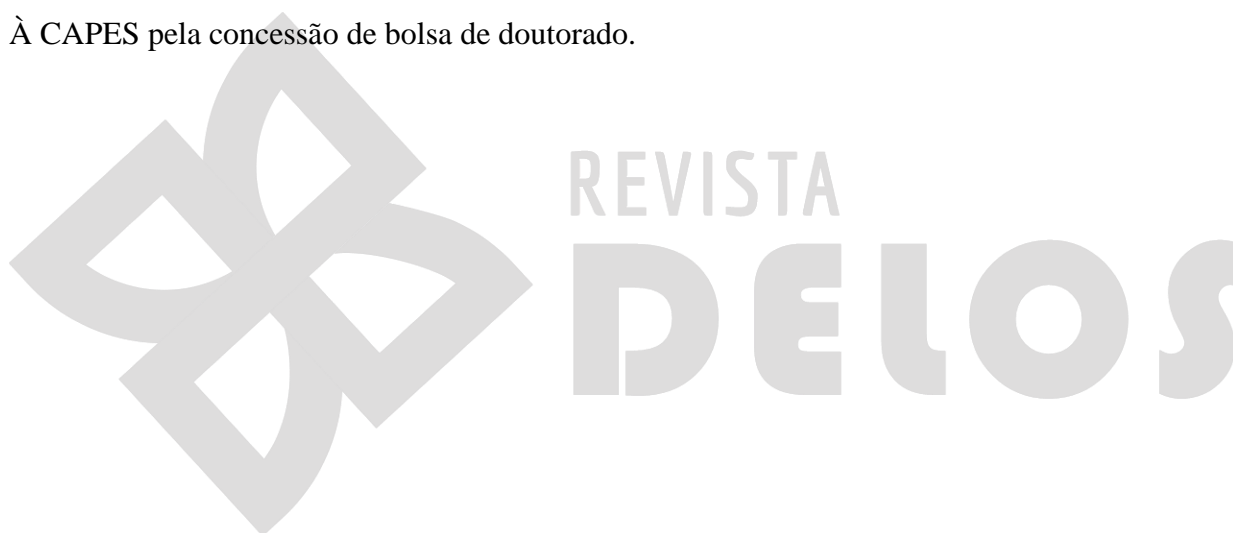
Ao analisar a produção científica Brasileira dos últimos dez anos, foi observado que os patógenos se destacam como tendência emergente em relação ao controle biológico de *Aedes aegypti*, onde espécies do gênero *Metarhizium*, *Beauveria bassiana* e *Bacillus thuringiensis* são amplamente estudadas.

Esse estudo expõe as lacunas atuais referentes aos poucos estudos que avaliam o uso de predadores e parasitas para o controle biológico de *Aedes aegypti* no Brasil. Do total de 33 estudos realizados nos últimos dez anos com organismos nativos do Brasil, somente 8 utilizaram predadores e 3 utilizaram parasitas.

Esse resultado sugere a urgente necessidade de diversificação de abordagens pelos pesquisadores brasileiros, de modo que esforços futuros devam trazer à tona novos organismos predadores e parasitas potenciais para promover maior equilíbrio e diversidade aos programas de Manejo Integrado do vetor *Aedes aegypti*.

FINANCIAMENTO

À CAPES pela concessão de bolsa de doutorado.



REFERÊNCIAS

- ABD-ELGAWAD, M. M. M. Towards optimization of entomopathogenic nematodes for more service in the biological control of insect pests. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 1-8, 2019. DOI: 10.1186/s41938-019-0181-1.
- AGBOOLA, A. R. *et al.* Biopesticides and conventional pesticides: Comparative review of mechanism of action and future perspectives. **AROC in Agriculture**, v. 1, p. 14-32, 2022. DOI: 10.53858/arocagr01011432.
- ANT, T. H. *et al.* *Wolbachia*-Virus interactions and arbovirus control through population replacement in mosquitoes. **Pathogens and Global Health**, v. 117, n. 3, p. 245-258, 2023. DOI: 10.1080/20477724.2023.2182921.
- ASGARIAN, T. S. *et al.* Worldwide status of insecticide resistance of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*, vectors of arboviruses of Chikungunya, Dengue, Zika and Yellow Fever. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1, 2023. DOI: 10.18502/jad.v17i1.11976.
- BHAT, A. H.; CHAUBEY, A. K.; ASKARY, T. H. Global distribution of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* and *Heterorhabditis*. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, p. 1-15, 2020. DOI: 10.1186/s41938-020-00249-7.
- BITENCOURT, R. O. B. *et al.* Entomopathogenic fungi and *Schinus molle* essential oil: The combination of two eco-friendly agents against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 194, p. 107827, 2022. DOI: 10.1016/j.jip.2022.107827.
- BITENCOURT, R. O. B. *et al.* Larvicidal activity, route of interaction and ultrastructural changes in *Aedes aegypti* exposed to entomopathogenic fungi. **Acta Tropica**, v. 213, p. 105732, 2021. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105732.
- BONDS, J. A. S.; COLLINS, C. M.; GOUAGNA, L.-C. Could species-focused suppression of *Aedes aegypti*, the yellow fever mosquito, and *Aedes albopictus*, the tiger mosquito, affect interacting predators? An evidence synthesis from the literature. **Pest Management Science**, v. 78, n. 7, p. 2729-2745, 2022. DOI: 10.1002/ps.6885.
- CARDOSO, D. de O. *et al.* Efficacy of *Heterorhabditis indica* LPP35 against *Aedes aegypti* larvae in human-generated containers and bromeliads. **Nematoda**, v. 3, 2016. DOI: 10.4322/nematoda.003016.
- CAROLINO, A. T. *et al.* *Aedes aegypti* pupae are highly susceptible to infection by *Metarhizium anisopliae* blastospores. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 13, p. 1629-1634, 2019. DOI: 10.22207/JPAM.13.3.27.
- CAROLINO, A. T. *et al.* Production of conidia using different culture media modifies the virulence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium* against *Aedes aegypti* larvae. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 58, n. 4, p. 346-351, 2021. DOI: 10.4103/0972-9062.328003.

CARVALHO CAMPOS, A. E.; LIMA-CAMARA, T. N. Emerging Urban Pests and Vector-borne Diseases in Brazil. In: **Urban Pest Management: An Environmental Perspective**. GB: CABI, 2023. p. 154-165. DOI: 10.1079/9781789241086.0154.

COELHO, W. M. D. *et al.* Biological control of *Anopheles darlingi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae using shrimps. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 2, n. 3, p. 91-96, 2017. DOI: 10.1016/j.parepi.2017.06.003.

COELHO, W. M. D.; BUZETTI, W. A. S. Primeira descrição da atividade predatória de *Macrobrachium pantanalense*, *Macrobrachium amazonicum*, *Macrobrachium brasiliense* e *Trichodactylus petropolitanus* contra larvas de *Aedes aegypti*, *Anopheles darlingi* e *Culex quinquefasciatus*. **Colloquium Vitae**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2016. DOI: 10.5747/cv.2016.v08.n1.v1010.

DA SILVA SÁ, G. C. *et al.* Arbovirus vectors insects: are botanical insecticides an alternative for its management?. **Journal of Pest Science**, v. 96, n. 1, p. 1-20, 2023. DOI: 10.1007/s10340-022-01546-2.

DA SILVA, W. J. *et al.* The great potential of entomopathogenic bacteria *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* for mosquito control: a review. **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 1-14, 2020. DOI: 10.1186/s13071-020-04206-0.

DAMBACH, P. The use of aquatic predators for larval control of mosquito disease vectors: opportunities and limitations. **Biological Control**, v. 150, p. 104357, 2020. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104357.

DE CARVALHO, G. *et al.* Efeito sinérgico do BTI e predação sobre a mortalidade de larvas do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). **Revista Acta Ambiental Catarinense**, v. 17, n. 1, p. 10-16, 2020. DOI: 10.24021/raac.v17i1.1050.

DE OLIVEIRA CARDOSO, D. *et al.* Potential of entomopathogenic nematodes as biocontrol agents of immature stages of *Aedes aegypti*. **Nematoda**, v. 2, p. e092015, 2015. DOI: 10.4322/nematoda.092015.

DE SOUSA, N. A. *et al.* Development of *Metarhizium humberi* in *Aedes aegypti* eggs. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 184, p. 107648, 2021. DOI: 10.1016/j.jip.2021.107648.

DOS SANTOS, D. R. *et al.* New weapons against the disease vector *Aedes aegypti*: from natural products to nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 123221, 2023. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123221.

FALQUETO, S. A. *et al.* *Bacillus* spp. metabolites are effective in eradicating *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae with low toxicity to non-target species. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 179, p. 107525, 2021. DOI: 10.1016/j.jip.2020.107525.

FERREIRA, J. M.; PINTO, S. M. N.; SOARES, F. E. *Metarhizium robertsii* protease and conidia production, response to heat stress and virulence against *Aedes aegypti* larvae. **AMB Express**, v. 11, p. 1-13, 2021. DOI: 10.1186/s13568-021-01288-1.

GANGMEI, K. *et al.* A Review on Vector Borne Diseases and Various Strategies to Control Mosquito Vectors: Current strategies to control mosquito vectors. **Indian Journal of Entomology**, v. 1, p. e23844, 2023. DOI: 10.5958/0974-8172.2023.00233.8.

GOMES, S. A. *et al.* The potential of *Metarhizium anisopliae* blastospores to control *Aedes aegypti* larvae in the field. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 7, p. 759, 2023. DOI: 10.3390/jof9070759.

GÓMEZ-TOLOSA, M. *et al.* The use of *Odonata* species for environmental assessment: a meta-analysis for the Neotropical region. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 1381-1396, 2021. DOI: 10.1007/s11356-020-10910-7.

GUERRERO M, G. G. Sporulation, structure assembly, and germination in the soil bacterium *Bacillus thuringiensis*: survival and success in the environment and the insect host. **Microbiology Research**, v. 14, n. 2, p. 466-491, 2023. DOI: 10.1016/j.micres.2023.04.009.

LEANDRO, A. S. *et al.* Citywide integrated *Aedes aegypti* mosquito surveillance as early warning system for arbovirus transmission, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 28, n. 4, p. 707, 2022. DOI: 10.3201/eid2804.220081.

LOBO, K. D. S. *et al.* Isolation and molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* found in soils of the Cerrado region of Brazil, and their toxicity to *Aedes aegypti* larvae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, p. 5-12, 2018. DOI: 10.1016/j.rbe.2018.04.001.

MANIKANDAN, S. *et al.* A review on vector borne disease transmission: Current strategies of mosquito vector control. **Indian Journal of Entomology**, p. 503-513, 2023. DOI: 10.21083/ijentomology.v1i3.23844.

MARTINEZ, J. M. *et al.* Efficacy of focal applications of a mycoinsecticide to control *Aedes aegypti* in Central Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 8703-8714, 2021. DOI: 10.1007/s00253-021-11407-5.

MAS'ULUN, M. J. *et al.* Effectiveness of the *Aedes aegypti* mosquito vector control program in Southeast Asia—A systematic review. **Pharmacognosy Journal**, v. 15, n. 5, 2023. DOI: 10.5530/pj.2023.15.5.12.

MAS'ULUN, M. J. *et al.* Effectiveness of the *Aedes aegypti* mosquito vector control program in Southeast Asia—A systematic review. **Pharmacognosy Journal**, v. 15, n. 5, 2023. DOI: 10.5530/pj.2023.15.5.12.

MAY, M. L. *Odonata*: who they are and what they have done for us lately: classification and ecosystem services of dragonflies. **Insects**, v. 10, n. 3, p. 62, 2019. DOI: 10.3390/insects10030062.

MENDONÇA, G. R. Q. *et al.* Native fungi from Amazon with potential for control of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e274954, 2023. DOI: 10.1590/1519-6984.274954.

MIRALDO, M. C.; PECORA, I. L. Efficiency of Brazilian native ornamental fishes as mosquito larvae predators. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, p. 93-98, 2017. DOI: 10.20950/bip.43.93.

MISHRA, N. *et al.* Wolbachia: An evolutionary way to combat mosquito borne disease and the challenges in success of the strategy. **Infection**, v. 20, p. 23, 2022. DOI: 10.1007/s15010-022-01709-0.

MULDERIJ-JANSEN, V. *et al.* Effectiveness of *Aedes*-borne infectious disease control in Latin America and the Caribbean region: A scoping review. **PLOS ONE**, v. 17, n. 11, p. e0277038, 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0277038.

NAKAZAWA, M. M. *et al.* Efficacy and persistence of *Bacillus thuringiensis* svar. israelensis (Bti) and pyriproxyfen-based products in artificial breeding sites colonized with susceptible or Bti-exposed *Aedes aegypti* larvae. **Biological Control**, v. 151, p. 104400, 2020. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104400.

NORDIN, N. R. M. *et al.* Wolbachia in Dengue Control: A systematic review. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences (OAMJMS)**, v. 10, n. F, p. 501-512, 2022. DOI: 10.3889/oamjms.2022.9127.

PEREIRA, B. B.; OLIVEIRA, E. A. de. Determinação do potencial larvófago de *Poecilia reticulata* em condições domésticas de controle biológico. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 22, p. 241-245, 2014. DOI: 10.1590/1981-22562014000100020.

PIRES, S. *et al.* *Mesocyclops loginsetus* (THIEBAUD, 1912) como controle biológico de larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em ambiente urbano simulado. **Revista Hipótese**, p. 488-500, 2019. DOI: 10.17533/udea.hyp.2020.02.12.

PRADO, R. *et al.* Action of *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae) against organophosphate- and pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and the synergistic effects of phenylthiourea. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 2, p. 454-462, 2020. DOI: 10.1093/jme/tjz171.

PROPHIRO, J. S. *et al.* *Ascogregarina taiwanensis* infection in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Santa Catarina, South Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, p. 235-238, 2017. DOI: 10.1590/0037-8682-0285-2017.

QUESADA-MORAGA, E. *et al.* Multitrophic interactions of entomopathogenic fungi in BioControl. **BioControl**, v. 67, n. 5, p. 457-472, 2022. DOI: 10.1007/s10526-022-10081-w.

RAJA, R. K. *et al.* Antagonists and defense mechanisms of entomopathogenic nematodes and their mutualistic bacteria. **Biological Control**, v. 152, p. 104452, 2021. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2021.104452.

RENAULT, D. *et al.* Biological, ecological and trophic features of invasive mosquitoes and other hematophagous arthropods: What makes them successful? **Biological Invasions**, p. 1-23, 2023. DOI: 10.1007/s10530-023-03078-3.

RIDHA, M. R. *et al.* Control methods for invasive mosquitoes of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Indonesia. **Veterinary World**, v. 16, n. 9, p. 1952, 2023. DOI: 10.14202/vetworld.2023.1952-1961.

ROCHA, L. F. N. *et al.* Occurrence of entomopathogenic hypocrealean fungi in mosquitoes and their larval habitats in Central Brazil, and activity against *Aedes aegypti*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 194, p. 107803, 2022. DOI: 10.1016/j.jip.2022.107803.

RODRIGUES, J. *et al.* Activity of additives and their effect in formulations of *Metarhizium anisopliae* sl IP 46 against *Aedes aegypti* adults and on post mortem conidiogenesis. **Acta Tropica**, v. 193, p. 192-198, 2019. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.04.003.

RODRIGUES, J. *et al.* *Clonostachys* spp., natural mosquito antagonists, and their prospects for biological control of *Aedes aegypti*. **Parasitology Research**, v. 121, n. 10, p. 2979-2984, 2022. DOI: 10.1007/s00436-022-07417-4.

RODRIGUES, J. *et al.* Relative humidity impacts development and activity against *Aedes aegypti* adults by granular formulations of *Metarhizium humberi* microsclerotia. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, p. 2725-2736, 2021. DOI: 10.1007/s00253-021-11324-z.

SHAHID, M. *et al.* Entomopathogen-based biopesticides: insights into unraveling their potential in insect pest management. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1061039.

SHARMA, A.; SHARMA, S.; YADAV, P. K. Entomopathogenic fungi and their relevance in sustainable agriculture: A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 9, n. 1, p. 2180857, 2023. DOI: 10.1080/23311932.2023.2180857.

SILVA-FILHO, E. S. *et al.* Controle de larvas de *Aedes aegypti* por ninfas de libélula (Odonata) sob condições laboratoriais. **Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 2, p. 239-242, 2021. DOI: 10.17921/2237-0091.2021v25n2p239-242.

SOARES-DA-SILVA, J. *et al.* Isolation of *Bacillus thuringiensis* from the state of Amazonas, in Brazil, and screening against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, p. 01-06, 2015. DOI: 10.1590/0037-8682-0284-2015.

SOUSA, N. A. *et al.* Exposure of newly deposited *Aedes aegypti* eggs to *Metarhizium humberi* and fungal development on the eggs. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 197, p. 107898, 2023. DOI: 10.1016/j.jip.2023.107898.

SOUZA, R. L. *et al.* Density of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in a low-income Brazilian urban community where dengue, Zika, and chikungunya viruses co-circulate. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2023. DOI: 10.1186/s13071-023-05409-4.

SUBKRASAE, C. *et al.* Molecular identification and phylogeny of *Steinernema* and *Heterorhabditis* nematodes and their efficacy in controlling the larvae of *Aedes aegypti*, a major vector of the dengue virus. **Acta Tropica**, v. 228, p. 106318, 2022. DOI: 10.1016/j.actatropica.2022.106318.

SUMITHA, M. K. *et al.* Status of insecticide resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* in India: A review. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 60, n. 2, p. 116-124, 2023. DOI: 10.4103/jvbd.JVBD_208_21.

TOURAPI, C.; TSIOUTIS, C. Circular Policy: A new approach to vector and vector-borne diseases management in line with the Global Vector Control Response (2017–2030). **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 7, p. 125, 2022. DOI: 10.3390/tropicalmed7070125.

VALBON, W. R. *et al.* Life history traits and predatory performance of *Belostoma anurum* (Hemiptera: Belostomatidae), a biological control agent of disease vector mosquitoes. **Neotropical Entomology**, v. 48, p. 899-908, 2019. DOI: 10.1007/s13744-019-00741-0.

VIANA, J. L. *et al.* Microencapsulation of *Bacillus thuringiensis* strains for the control of *Aedes aegypti*. **Experimental Parasitology**, p. 108654, 2023. DOI: 10.1016/j.exppara.2023.108654.

VIEIRA-NETA, M. R. A. *et al.* Strain of *Bacillus thuringiensis* from Restinga, toxic to *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) (Diptera, Culicidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, p. 872-880, 2020. DOI: 10.1590/1519-6984.219679.

ZULFA, R. *et al.* Updating the insecticide resistance status of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Asia: a systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 10, p. 306, 2022. DOI: 10.3390/tropicalmed7100306.