

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA MÉDICA



**BIONOMÍA DEL MOSQUITO *Culex quinquefasciatus* (SAY, 1823) Y SU
RELACIÓN CON EL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON) EN LA CIUDAD
DE MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO.**

Por

JULIAN EVERARDO GARCIA REJON

T E S I S

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
ENTOMOLOGÍA MÉDICA**

Agosto, 2008

**BIONOMÍA DEL MOSQUITO *Culex quinquefasciatus* (SAY, 1823) Y SU
RELACIÓN CON EL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON) EN LA CIUDAD
DE MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO.**

Comité de Tesis

Director: Dr. Ildelfonso Fernández Salas

Secretario: Dr. Roberto Mercado Hernández

Vocal: Dra. Adriana Elizabeth Flores Suarez

Vocal: Dr. Raúl Torres Zapata

Vocal: Dr. Humberto Quiroz Martínez

TABLA DE CONTENIDO

| Sección | Página |
|--|-------------|
| INDICE DE FIGURAS..... | vi |
| INDICE DE TABLAS | viii |
| DEDICATORIA..... | xi |
| RESUMEN..... | xii |
| ABSTRACT..... | xiii |
| INTRODUCCION | 1 |
| HIPÓTESIS..... | 2 |
| OBJETIVOS..... | 3 |
| ANTECEDENTES..... | 4 |
| 4.1 Complejo <i>Culex pipiens</i>. | 4 |
| 4.1.1. Mosquito <i>Culex quinquefasciatus</i> y su distribución (Say, 1823)..... | 4 |
| 4.1.2. Clasificación sistemática..... | 6 |
| 4.1.3. Ciclo de vida | 7 |
| 4.1.3.1. Huevo | 8 |
| 4.1.3.2. Larva | 8 |
| 4.1.3.3. Pupa..... | 9 |
| 4.1.2.4. Adultos | 10 |
| 4.1.2.4.1. Estructuras distintivas de los mosquitos de la especie <i>Cx. quinquefasciatus</i> ... 11 | 11 |
| 4.1.4. Hábitos alimenticios de los adultos y preferencias alimenticias..... | 12 |
| 4.1.5. Estado de digestión sanguínea. | 13 |
| 4.1.6. Reproducción. | 14 |
| 4.1.7. Ciclo Gonotrófico | 15 |
| 4.1.8. Hábitat de reproducción..... | 16 |
| 4.1.9. Longevidad | 17 |
| 4.1.10. Dispersión y radio de vuelo | 18 |
| 4.2. Métodos para estimar la densidad de vectores y su importancia para el control. | 18 |
| 4.2.1. Métodos de las cajas rojas..... | 18 |
| 4.2.2. Métodos de las trampas Mosquito Magnet®..... | 19 |
| 4.2.3. Método de las colectas en zonas de reposo. | 20 |
| 4.3. Enfermedades transmitidas por <i>Cx. quinquefasciatus</i> | 21 |
| 4.3.1. Historia del Virus del Oeste del Nilo (VON)..... | 22 |
| 4.3.1.1. Morfología del VON..... | 22 |
| 4.3.1.2. Ciclo de transmisión..... | 24 |
| 4.3.1.3. Sintomatología..... | 26 |
| 4.3.1.4. Mortalidad. | 27 |

| | |
|--|-----------|
| 4.3.1.5. Vectores del VON..... | 27 |
| 4.4. Situación en los Estados Unidos. | 28 |
| 4.5. Situación en México. | 29 |
| 4.5.1. Situación en Yucatán. | 29 |
| MÉTODOS | 31 |
| 5.1. Área de estudio..... | 31 |
| 5.1.1. Ciudad de Mérida | 31 |
| 5.2. Obtención, manejo de material biológico y métodos para determinar el ciclo gonotrófico y longevidad en épocas de seca y de lluvia..... | 32 |
| 5.2.1. Caracterización de la abundancia, estado trófico y paridad..... | 33 |
| 5.2.2. Estimación de la sobrevivencia y el ciclo gonotrófico | 34 |
| 5.2.3. Medición de la oogénesis | 35 |
| 5.2.4. Obtención, manejo de material biológico y métodos para determinar el patrón de selección de huéspedes..... | 35 |
| 5.2.4.1. Censo de huéspedes vertebrados..... | 36 |
| 5.2.4.2. Pruebas de laboratorio para la identificación de la alimentación..... | 36 |
| 5.2.4.2.1. Técnicas de PCR..... | 37 |
| 5.2.4.2.2. Extracción de ADN..... | 38 |
| 5.2.4.2.3. Análisis de PCR | 40 |
| 5.2.4.2.4. Digestión con enzimas de restricción..... | 40 |
| 5.2.4.2.5. Rango de forrajeo..... | 40 |
| 5.2.5. Determinación de la distribución temporal, estructura de edades, estado trófico y biorritmo de picadura. | 41 |
| 5.2.5. Búsqueda del VON en mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> | 42 |
| 5.2.5.1. Colección de especímenes. | 42 |
| 5.2.5.2. Extracción de ARN. | 42 |
| 5.2.5.3. RT-PCR estándar..... | 43 |
| RESULTADOS | 44 |
| 6.1. Colecta de mosquitos para determinar abundancia, estado trófico, paridad, estimación de la sobrevivencia y duración del ciclo gonotrófico mediante series de tiempo y medición de la vitelogenesis de <i>Cx. quinquefasciatus</i> en épocas de lluvia y de secas. | 44 |
| 6.1.1. Abundancia, estado trófico y paridad. | 44 |
| 6.1.2. Estimación de la sobrevivencia y duración del ciclo gonotrófico mediante series de tiempo. | 49 |
| 6.1.3. Medición de la vitelogénesis | 51 |
| 6.2. Colecta de mosquitos para determinar el patrón de selección de huéspedes de <i>Cx. quinquefasciatus</i>, así como el índice de sangre humana, rango de forrajeo e índice de alimentación por huésped..... | 53 |
| 6.2.1. Colecta de mosquitos en las cajas rojas..... | 53 |
| 6.2.2. Preferencias de alimentación. | 53 |
| 6.2.3. Índice de sangre humana (ISH) y valores de rango de forrajeo (RF). | 54 |
| 6.2.4. Índice de alimentación por huésped (IAH)..... | 54 |
| 6.3. Determinación de la distribución temporal y estructura de edades, tasa de inseminación y estado trófico, usando tres métodos de captura..... | 58 |
| 6.3.1. Distribución temporal de los mosquitos capturados durante una año de colecta. | 58 |
| 6.3.2. Distribución temporal de <i>Cx. quinquefasciatus</i> mediante diferentes métodos de captura. | 59 |

| | |
|--|-----------|
| 6.3.3. Estados tróficos de los mosquitos colectados con diferentes métodos de colecta..... | 60 |
| 6.3.4. Análisis de los datos..... | 60 |
| 6.4. Biorritmo de picadura de <i>Cx. quinquefasciatus</i> capturados con máquinas mosquito magnet®..... | 65 |
| 6.4.1. Horario de picadura mediante el uso de trampas mosquitos magnet. | 65 |
| 6.5. Búsqueda del genoma viral del VON en mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> mediante métodos moleculares..... | 67 |
| DISCUSION | 69 |
| CONCLUSIONES..... | 80 |
| LITERATURA CITADA | 82 |
| RESUMEN BIOGRÁFICO | 94 |

INDICE DE FIGURAS

| Figura | Página |
|---|--------|
| Figura 1. Distribución de <i>Cx. pipiens</i> (1), <i>Cx. quinquefasciatus</i> (2), así como ambos juntas (3). (Tomada de Vinogradova, 2000). | 5 |
| Figura 2. Distribución actual de <i>Cx. quinquefasciatus</i> en el mundo (Tomada de Vinogradova, 2000). | 6 |
| Figura 3. Descripción del Ciclo de <i>Cx. quinquefasciatus</i> (Tomada de http://www.fehd.gov.hk/safefood/risk-pest-mosquito.html). | 7 |
| Figura 4. A) Fotografía de una hembra de <i>Cx. quinquefasciatus</i> ovipositando B) Balsa de huevos maduros. | 8 |
| Figura 5. A) Larvas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> en un criadero natural B) Estructuras de una larva de <i>Cx. quinquefasciatus</i>. | 9 |
| Figura 6. Fotografía y dibujo donde muestras las partes estructurales de una pupa de <i>Cx. quinquefasciatus</i>. | 10 |
| Figura 7. Estructuras características de un adulto de <i>Cx. quinquefasciatus</i>. | 12 |
| Figura 8. Hembra y Macho de <i>Cx. quinquefasciatus</i>. | 13 |
| Figura 9. Estados de digestión sanguínea o estados de Sella. | 14 |
| Figura 10. A. Disección de una hembra de mosquito, separando las ovariolas B. Ovario de una hembra Nulípara, con tráqueolas enrolladas C. Ovario de una hembra Parida, con tráqueolas desenrolladas. D. Estados de formación de los huevos o estados de Christopher. | 16 |
| Figura 11. Criaderos comunes para <i>Cx. quinquefasciatus</i> en la Mérida, Yucatán. | 17 |
| Figura 12. Cajas rojas de madera usadas para colectar mosquitos en la Ciudad de Mérida, Yucatán. | 19 |
| Figura 13. A. Maquina mosquito magnet liberty Plus B. Red capturadota de mosquitos C. Cartucho de Octneol (cebo atrayente). | 20 |
| Figura 14. Aspiradora de Mochila y recipiente con mosquitos colectados. | 21 |
| Figura 15. Linaje del virus de la encefalitis japonesa. | 22 |
| Figura 16. A. Superficie del Virion del VON con una unidad asimétrica del icosaedro indicado por el triángulo. B. Sección central de la reconstrucción mostrando las paredes de doble densidad. | 23 |
| Figura 17. Arbol filogénico basados en datos secuenciales de la glicoproteína E estructural. Fuente: CDC. (12). | 24 |
| Figura 18. Ciclo de transmisión del VON. | 25 |
| Figura 19. Signos y síntomas de la enfermedad producidas por el VON en la representación esquemática del cuerpos humano. | 26 |
| Figura 20. Esquema que representa la Morbi-Mortalidad después de la-infección al VON. | 27 |
| Figura 21. Ubicación de la Ciudad de Mérida en la Península de Yucatán y en México. | 31 |

| | |
|---|-----------|
| Figura 22. Mapa de la ciudad de Mérida, Yucatán, en donde se muestra las cuatro zonas donde se realizará el muestreo. La zona noreste (rojo), la zona noroeste (azul), la zona suroeste (verde) y la zona sureste (amarillo). | 32 |
| Figura 23. Análisis de ADN con primers tanto generales como específicos: humano, línea 2 perro, línea 3 caballo, línea 4, bovino, línea 5 cerdo, línea 6, gato, línea 7, ave genérico, línea 8 passeriformes, línea 9, columbiforme, línea 10, galliforme; línea 1 1-Kb plus ladder..... | 39 |
| Figura 24. Ciclo gonotrófico de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectado en la ciudad de Mérida, Yucatán en dos temporadas. | 51 |
| Figura 25. Variación estacional en la composición de especies de mosquitos y su abundancia en Mérida, Yucatán de enero a diciembre de 2005..... | 61 |
| Figura 26. Gel de agarosa al 1.5 %, donde se halló un pool de mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> que coincide con el peso molecular esperado para VON. ... | 68 |

INDICE DE TABLAS

| Tabla | Página |
|---|--------|
| Tabla 1. Abundancia y estado trófico de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas en época de lluvia en 2004. | 45 |
| Tabla 2. Datos de disección de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas de cajas rojas en época de lluvia. | 46 |
| Tabla 3. Abundancia y estado trófico de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas en época de seca de 2005. | 47 |
| Tabla 4. Datos de disección de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas de cajas rojas en época de seca. | 48 |
| Tabla 5. Estado de sella de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas en la ciudad de Mérida, Yucatán, en dos épocas diferentes. | 49 |
| Tabla 6. Datos filtrados de <i>Cx. quinquefasciatus</i> en dos épocas diferentes. | 50 |
| Tabla 7. Vitelogénesis de una población en época de lluvias y una de época de secas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas en la ciudad de Mérida, Yucatán... .. | 52 |
| Tabla 8. Numero de mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> capturados en las cajas rojas durante cada mes en Mérida, Yucatan durante todo el año de 2005. | 55 |
| Tabla 9. Fuente de alimentación sanguínea de <i>Cx. quinquefasciatus</i> capturados en las cajas rojas por mes durante 2005 en Mérida, Yucatán. El ADN fue extraído de mosquitos alimentados y analizados por PCR usando primers específicos universales de aves y mamíferos. | 55 |
| Tabla 10. Proporción de alimentaciones sanguíneas de <i>Cx. quinquefasciatus</i> de diferentes ordenes de aves y especies de mamíferos en Mérida, Yucatán de Enero a Diciembre, 2005. | 56 |
| Tabla 11. Fuente de alimentación sanguínea de aves en mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectados en Mérida. El ADN fue extraído de mosquitos alimentados y analizados por PCR usando primers específicos que diferenciaban entre los órdenes passeriformes, columbiformes y galliformes. | 56 |
| Tabla 12. Fuente de alimentación sanguínea de mamíferos en mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectados en Mérida. El ADN fue extraído de mosquitos alimentados y analizados por PCR usando enzimas de digestión que identificaban al huésped a nivel de especie. | 57 |
| Tabla 13. Rangos de Forrajeo para mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> en Mérida, Yucatán. | 57 |
| Tabla 14. Índice de alimentación específica de mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> de Mérida, Yucatán para cada par de alimentaciones por huésped vertebrado. | 58 |
| Tabla 15. Variación estacional en la composición de especies de mosquitos y su abundancia en Mérida, Yucatán de Enero a Diciembre de 2005 | 62 |
| Tabla 16. Eficacia de tres métodos de trampeo para colecta de mosquitos de enero a diciembre de 2005. | 63 |
| Tabla 17. Estado de alimentación sanguínea de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas con las maquinas mosquito magnet. | 64 |

| | |
|--|-----------|
| Tabla 18. Estado de alimentación sanguínea de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas con la mochila aspiradora. | 64 |
| Tabla 19. Estado de alimentación sanguínea de <i>Cx. quinquefasciatus</i> colectadas en las cajas rojas..... | 65 |
| Tabla 20. Actividad de picadura nocturna de <i>Cx. quinquefasciatus</i>..... | 66 |
| Tabla 21. Número de pools de mosquitos <i>Cx. quinquefasciatus</i> hembras que se probaron en diferentes meses y años en busca del VON en ellos en la Ciudad de Mérida..... | 68 |

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por el apoyo otorgado a través de la beca 89878 y porque este trabajo fue financiado con fondos del proyecto Fondo sectorial CONACYT-Salud 2004-01-131.

Al Dr. Ildefonso Fernández Salas, ante todo gracias por su amistad y por su apoyo total en todo momento.

A mi comité de tesis y tutores, Dr. Roberto Mercado Hernández, Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez, Dr. Raúl Torres Zapata, Dr. Humberto Quiroz Ramírez por sus consejos y correcciones.

A los Dres. José Farfán Ale y María Alba Loroño Pino, por toda su ayuda en la realización de esta tesis y por permitirme ser parte del grupo DENGUE de la UADY.

A mis compañeros y amigos de laboratorio y del CIR, Pilar, Nubia, Luis Felipe, Fernando, Rocío, Silvia, Jacobo, Carlos B, Rossy, Willy, Alex, Mildred, Hugo, Roger, Mary, Carlos, Lourdes, Roger (2), Raúl.

A la Dra. Guadalupe Reyes Solís, ya que sin ella no hubiera podido terminar esta tesis, así como su amistad de siempre.

A la Dra. Nydia Aída Rodríguez Neaves, quien siempre estuvo pendiente de todo lo que pasaba en la Universidad y siempre cuento con su amistad.

Al Dr. Armando Ulloa García por su ayuda en la tesis y por su sincera amistad.

A la Q.B.P. Rosa Sánchez Casas por toda su ayuda incondicional siempre que lo requerí y por su amistad.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Entomología Médica de la UANL.

A mis amigos de siempre Juan, Víctor, Carlos y Luis C. por todos esos buenos momentos compartidos en nuestras vidas.

A todas aquellas personas que directa o indirectamente a contribuido en mi felicidad por sus enseñanzas, consejos y amistad.

DEDICATORIA

A mi familia; los quiero mucho y les agradezco siempre que confíen en mí, así como yo en ellos. En especial a mi padre, el cual siempre ha sido un ejemplo en mi vida.

A Rosario por todo su amor, comprensión y por darme al ser que más quiero en la vida: “Miroslava”, este grado te lo dedico especialmente a ti mi amor.

A la familia regia Nájera-Vázquez por aceptarme como soy y considerarme un miembro más de ustedes.

RESUMEN

El virus del Oeste del Nilo (VON), pertenece a al género *Flavivirus* y a la familia Flaviviridae, en su ciclo de transmisión involucra mosquitos y aves, aunque en ocasiones es transmitido a otros hospederos entre ellos los humanos y equinos. En Yucatán se ha reportado la presencia de este virus en caballos, en aves migratorias y residentes, así como otros vertebrados en cautiverio. Debido a que el VON ya se halla en Yucatán y específicamente en la ciudad de Mérida es importante el conocer la bionomía del que se considera es el vector, el mosquito *Culex quinquefasciatus*. El objetivo general fue el determinar diferentes aspectos biológicos de *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Mérida, así como la incriminación de esta especie en la transmisión del VON en la región. Se realizaron muestreos en la ciudad utilizando métodos entomológicos como cajas rojas y trampas captadoras; para la búsqueda de la presencia del VON en los mosquitos se usó la técnica de RT-PCR. Por otra parte se estudió el biorritmo de picadura y se determinó el estado trófico de las hembras capturadas. Así mismo, se obtuvo la sobrevivencia y la longitud del gonociclo mediante el método de series cruzadas de tiempo al comienzo y al final de la época de lluvias. Por último, se determinó las preferencias alimenticias y el rango de forrajeo usando PCR. Las colectas se realizaron del mes de enero al mes de diciembre de 2005, usando diferentes métodos: en las trampas captadoras se colectaron un total de 4 544 mosquitos machos y 11 722 hembras, siendo el horario de mayor captura después de las 12 de la noche, el 91% fueron hembras no alimentadas. Con respecto a las colectas en sitios de reposo se obtuvieron 9 099 machos y 4 856 hembras y el 35% fueron hembras alimentadas, el mes donde se obtuvieron más mosquitos fue agosto. Con respecto a la búsqueda del VON se probaron 685 grupos de mosquitos, hallándose seis muestras con bandas de igual peso molecular que el VON no se pudo demostrar la presencia de este virus en Mérida. El gonociclo se calculó en 4 días mediante el método de series cruzadas en las dos épocas, así como por la oogénesis. En relación a las preferencias alimenticias se determinó que el 88.11 % de los mosquitos se alimentó de aves y el 11.89 % de mamíferos. Estos resultados demuestran que esta especie está bien adaptada al medio urbano y se considerada la principal especie en la transmisión de este virus a los vertebrados.

ABSTRACT

The West Nile Virus (WNV) belongs to the family Flaviviridae, in its transmission cycle involves mosquitos and birds, although in occasions it is transmitted to other hosts like humans and horses. In Yucatan the presence of this virus has been reported in horses, in migratory birds and residents, as well as other vertebrates in captivity. Because is already in Yucatan and specifically in the city of Merida it is important knowing the bionomics of which is considered the printipal mosquito vector *Culex quinquefasciatus*. The general objective was determining different biological aspects of *Cx. quinquefasciatus* in Merida City, like incrimination of this specie in the transmission of the WNV in the area. Using differents emtolomogical methods like red boxes and Mosquito Magnets traps; for the search of the presence of the WNV in the mosquitos the technique of RT-PCR. On the other hand it was studied the and all the collected mosquitos female they were determined the trophic state in which were found. In this study was carried out by means of the method of crossed series of time at the beginning and the end of the rainy season the and the length of the gonotrophic cycle. Lastly it was determined the host preferences and the forage range using PCR. The mosquitos were collected during January to December of 2005, using different methods, in the capturing traps a total of 4 544 male mosquitos and 11 722 females were collected, being the schedule of more capture after 2400 hours. 91% was females not fed. With regard to the collections 9 099 males and 4 856 females and 35% were obtained they were female fed, the month where more mosquitos were captured it was August. With regard to the search of the WNV 685 groups of mosquitos were tested being six samples with bands of same molecular weight that the WNV although we could not de virus isolation in Merida. The gonotrophic cycle was calculated in 4 days by means of the method of crossed series in the two times, as well as for the oogenesis. The host preferences of this species were determined that 88.11% of the mosquitos was fed of avians and 11.89% of mammals. These results demonstrate that this species has good adaptation to the urban means and is considered in the transmission from this virus to vertebrates.

INTRODUCCION

El virus del Oeste del Nilo (VON), llegó a Yucatán principalmente por las aves migratorias que en buena cantidad llegan a pasar el invierno a esta zona tropical de México. La ciudad más importante del estado y con mayor población es Mérida, la capital y ella es una de las zonas donde se ha documentado la presencia del virus en caballos y más recientemente en este año en dos aves en el zoológico de esta ciudad, así como otros vertebrados en cautiverio. De tal forma se conoce la circulación de este virus, más sin embargo se sabe poco del o de los posibles vectores, ya que hasta el momento y debido a la dificultad de hacer aislamientos del virus en mosquitos no se ha incriminado a alguna especie, aunque se considera al mosquito *Culex quinquefasciatus* Say como el vector potencial, porque en los Estados Unidos se le ha encontrado positivo a VON y en algunos estados del Noreste de México también. En la ciudad de Mérida este mosquito es común en las casas y ha sido reportada su presencia desde hace más de 80 años, sin embargo no existen estudios biológicos que permitan saber su comportamiento, por lo tanto el conocer su bionomía nos permitirá el conocer el riesgo que este mosquito pueda transmitir a la población este virus, en este estudio además de intentar los aislamientos virales de esta especie, se pretende conocer la duración del ciclo gonotrófico, estructura de edades, patrones de alimentación, hábitos de picadura, así como la sobrevivencia ya que estos datos son importantes para conocer y entender las relaciones huésped-vector y la dinámica de la transmisión de la enfermedad. Por lo que a futuro estas bases nos servirán para poder controlarlo y evitar la difusión del Virus del Oeste del Nilo a otras zonas del estado de Yucatán.

HIPÓTESIS

La adaptación del mosquito *Cx. quinquefasciatus* a la ecología urbana de la ciudad de Mérida, el reporte de sus hábitos alimenticios entre humanos y aves, así como los reportes de circulación a nivel zoonótico en la región, favorecerán un puente epidemiológico para desarrollar potenciales epidemias de VON en el Sureste de México

OBJETIVOS

3.1. General

Determinar las principales características biológicas y fisiológicas del mosquito *Cx. quinquefasciatus* y su relación con el Virus del Oeste del Nilo en la ciudad de Mérida, Yucatán.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1. Determinar la abundancia, estado trófico, paridad, estimación de la sobrevivencia y duración del ciclo gonotrófico de *Cx. quinquefasciatus*, mediante las series de tiempo y la medición de la vitelogenesis en épocas de secas y de lluvia.

3.2.2. Determinar el patrón de selección de huéspedes del mosquito *Cx. quinquefasciatus* durante un año. así como el índice de sangre humana, rango de forrajeo e índice de alimentación por huésped.

3.2.3. Determinar la distribución temporal y estructura de edades, tasa de inseminación y estado trófico de *Cx. quinquefasciatus* en un año de muestreo usando, tres métodos de captura.

3.2.4. Determinar el biorritmo de picadura de *Cx. quinquefasciatus* capturados con máquinas mosquito magnet®.

3.2.5. Determinar la presencia del genoma viral del Virus del Oeste del Nilo en mosquitos *Cx. quinquefasciatus* mediante métodos moleculares

ANTECEDENTES

4.1 Complejo *Culex pipiens*.

La composición taxonómica del complejo *Culex pipiens* ha mantenido diversos criterios encontrados de investigación y discusión, aunque en el consenso ha sido aceptado como tal. Uno puede estar de acuerdo con lo descrito por Harbach *et al.*, (1985) el cual dice “que la taxonomía del complejo *pipiens* es un enigma complicado por sus dificultades de interpretación y la controversia asociada con el número de desconcierto morfológico, de comportamiento fisiológico así como las diferencias genéticas, el entendimiento de estos tópicos están íntimamente relacionados con la resolución del *pipiens* complejo”.

La primera notificación como complejo, el estatus taxonómico de esta representatividad y distribución fue formulada en 1951 por Mattingly *et al.*, (1951). Actualmente y después de muchas revisiones por diversos taxónomos se acepta hoy en día que el complejo esta formado por: *Culex (Cx). pipiens*, *Cx. molestus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. pallens*, *Cx. australicus*, *Cx. torrentium* y *Cx. vagans* (Vinogradova, 2000).

4.1.1. Mosquito *Culex quinquefasciatus* y su distribución (Say, 1823).

El mosquito *Cx. quinquefasciatus* fue descrito por primera vez por Say en 1823 en el occidente de los Estados Unidos. Un neotipo fue después seleccionado y descrito, porque el material tipo original al parecer se perdió (Sirivanakarn y White, 1978). Este mosquito es conocido como el mosquito del sur en los Estados Unidos de América o el mosquito café común en las casas

Este mosquito tiene una distribución en las áreas subtropical y tropical del mundo, ha sido reportado desde el sureste de los Estados Unidos en la región Neártica, hasta la región sureste del Japón en la región Paleártica. Las áreas de distribución de *Cx. pipiens* y *Cx. quinquefasciatus* parcialmente se sobreponen en Los Estados Unidos, el mediano y lejano oriente, Australia y África (Barr, 1981).

Como se mencionó previamente este complejo en los Estados Unidos incluye las dos subespecies: *Cx. pipiens pipiens* encontrándose en regiones templadas al norte

39° latitud norte y *Cx. pipiens quinquefasciatus* que se encuentra en climas tropicales y subtropicales al sur 36° latitud norte; formas intermedias del complejo ocurren entre 36° a 39° latitud norte, donde temperaturas frías y cálidas convergen (Nayar *et al.*, 2003).

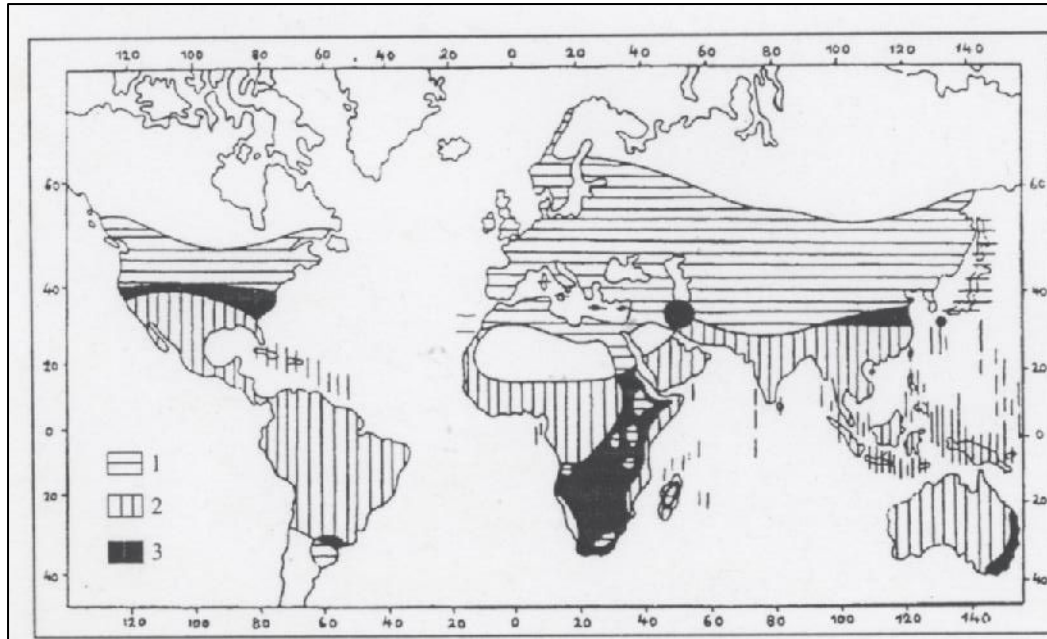


Figura 1. Distribución de *Cx. pipiens* (1), *Cx. quinquefasciatus* (2), así como ambos juntas (3). (Tomada de Vinogradova, 2000).

Esta especie ocurre en todas las zonas climáticas, teniendo un rango desde selvático hasta la semidesértica, tampoco la altitud limita su distribución, ya que se le ha encontrado a alturas de 2770m en la India y a 2130 m en Sri Lanka. Sin embargo se comenta que otras zonas como el Pacífico sur, no se le encuentra a una altitud de mayor del límite de su distribución altitudinal comprendida entre los 1600 y 1680 metros (Aitken, 1961).

Los países donde ha sido reportada esta especie son: Argentina, Australia, Islas de Bahamas, Brasil, Chile, China, República del Congo, Cuba, Etiopía, India, Indonesia, Madagascar, Malawi, México, Nueva Zelanda, Perú, Filipinas, Sudáfrica, Sudan, Surinam, Trinidad y Tobago, Reino Unido y Estados Unidos como esta esquematizado en la Figura 2.

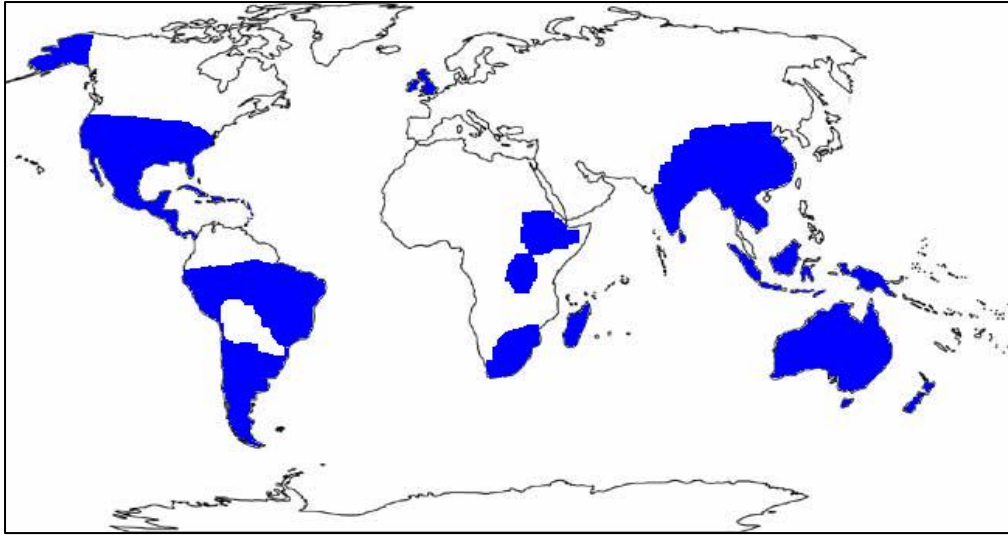


Figura 2. Distribución actual de *Cx. quinquefasciatus* en el mundo (Tomada de Vinogradova, 2000).

Con respecto a la República Mexicana, Martínez en 1952 menciona a este mosquito como uno de los más comunes de México; “las numerosas localidades que lo tenemos reportado incluye todas las regiones del país, tanto en las costas, como en la altiplanicie y lo mismo en el sur que en el Norte”. Posteriormente Díaz y Vargas (1973). lo reportan en 30 de los 32 estados del País con excepción de Tlaxcala y Zacatecas. Ya en tiempos más recientes, Ibáñez y Martínez (1994) describen al mosquito *Cx. quinquefasciatus* como una especie usual de áreas urbanas y suburbanas de México y lo consideran dentro de la clave de mosquitos con mayor diseminación en las ciudades.

4.1.2. Clasificación sistemática.

Este mosquito pertenece a la clase: **Insecta**, subclase: **Pterigota**, infraclase: **Neoptera**, orden: **Díptera**, suborden: **Nematocera**, infraorden: **Culicomorfa**, familia: **Culicidae**, subfamilia: **Culicinae**, tribu: **Culicini**, género: *Culex*, especie: *pipiens* subespecie: *quinquefasciatus* (Say, 1823) (Knigh y Stone, (1973); Beaty y Marquardt, (1996).

4.1.3. Ciclo de vida

Los mosquitos son homometábolos, es decir su ciclo de vida comprende cuatro etapas: **huevo, larva, pupa y adulto.**

Este mosquito domestico de color café claro (amielado), de zumbido persistente y de tono alto que continúa hasta ya entrada la noche, es una plaga importante. Aunque muy modificado por la temperatura, su ciclo de vida requiere entre 10 y 14 días bajo condiciones cálidas de verano; la etapa de huevecillo de 14 a 36 horas, la de larva de 7 a 10 días y la de pupa aproximadamente 2 días (Harwood y James, 1987).

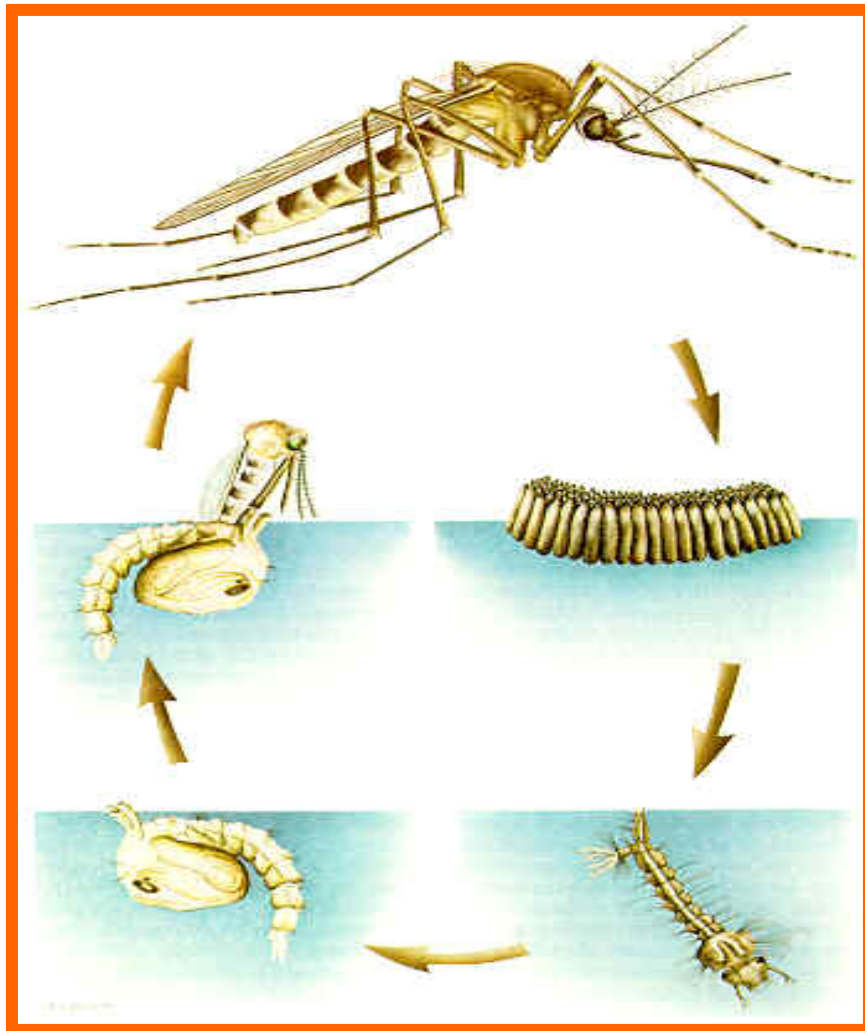


Figura 3. Descripción del ciclo de *Cx. quinquefasciatus* (Tomada de <http://www.fehd.gov.hk/safefood/risk-pest-mosquito.html>).

4.1.3.1. Huevo

El mosquito *Cx. quinquefasciatus* deja sus huevecillos agrupados en forma de balsas, las cuales pueden flotar en la superficie del agua (Figura 4). Una vez que son colocados en el agua presentan un color blanquecino, que al paso del tiempo toman una tonalidad oscura en unas cuantas horas. Un promedio de 150 huevos por balsa es la cantidad más común de encontrar, aunque en ocasiones esta cantidad puede ser mayor. Generalmente las hembras que son alimentadas de sangre de ave pueden colocar más huevecillos que las alimentadas de humanos.

En países tropicales, la eclosión ocurre un día después de la oviposición, cabe mencionar que esta oviposición se desarrolla por las noches cuando existen menos depredadores para las hembras (Curtis y Hawkins, 1982).

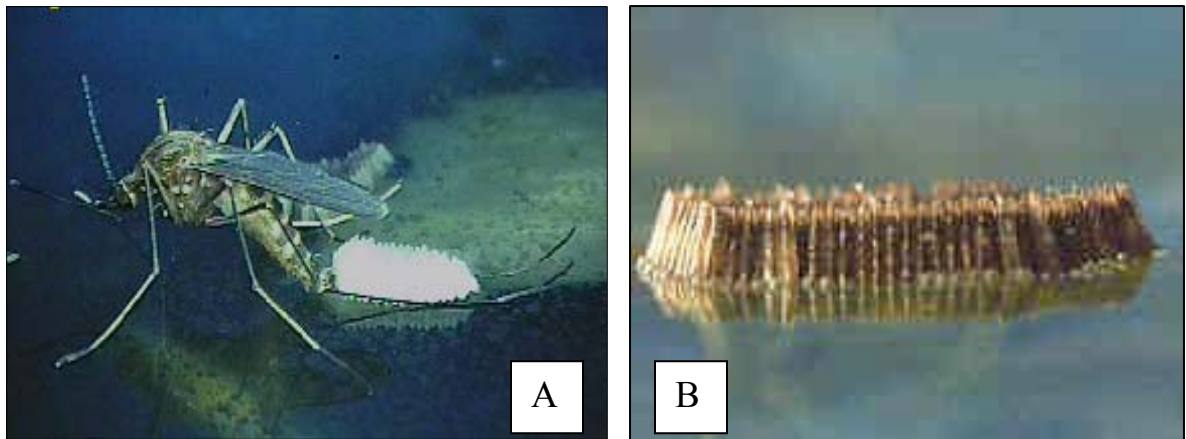


Figura 4. **A.** Fotografía de una hembra de *Cx. quinquefasciatus* ovipositando. **B.** Balsa de huevos maduros.

4.1.3.2. Larva

Las larvas (Figura 5) cuelgan suspendidas diagonalmente de la superficie del agua, por medio de un sifón respiratorio prominente. Las larvas filtran microorganismos y otras partículas del agua o ramonean microorganismos presentes en las superficies sólidas. El alimento es llevado a la boca por medio de corrientes producidas por la acción de las largas sedas curvadas que se encuentran en la maxila; después fluye hacia la faringe por medio de la succión y aquí ocurre el filtrado de sólidos suspendidos (Harwood y James, 1987).

Las larvas mudan cuatro veces, la última muda resulta en la pupa. Para que se complete el desarrollo larvas bajo condiciones óptimas en el verano se requieren aproximadamente 7 días, dependiendo de la temperatura (Reisen, 1978).

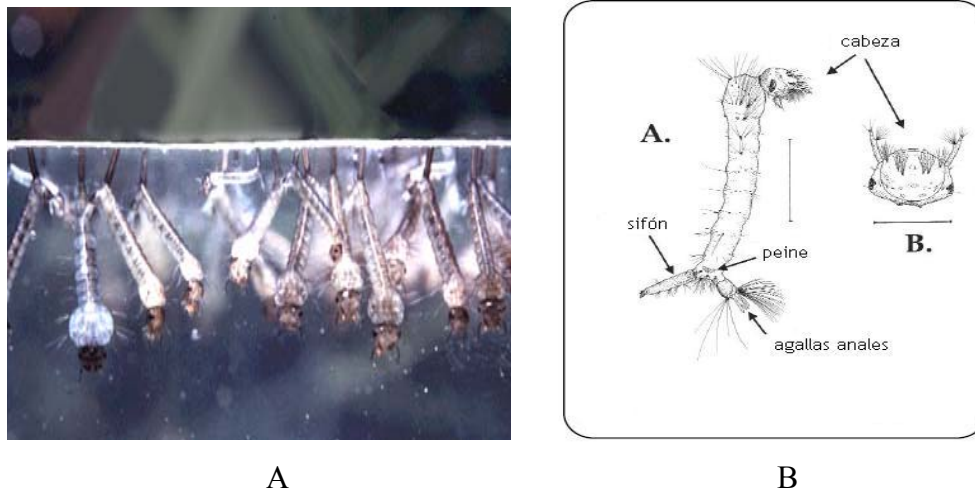


Figura 5. A. Larvas de *Cx. quinquefasciatus* en un criadero natural. B. Estructuras de una larva de *Cx. quinquefasciatus*.

4.1.3.3. Pupa

Con la cuarta muda aparece la pupa que no se alimenta. Esta etapa es muy corta, generalmente de 2 a 3 días (Figura 6). Hay un par de traqueo branquias en forma de trompetas situadas dorsalmente en el cefalotórax y unos remos en el extremo del abdomen. La pupa es extremadamente activa y sensitiva a molestias, moviéndose repentinamente con movimientos circulares hacia aguas más profundas y después de unos momentos regresa a la superficie con poco movimiento. La pupa se mantiene por flotación y las traqueo branquias rompen la superficie del agua en un área hidrófila donde ayudan a la estabilidad. Al hundirse, además del movimiento circular de todo el cuerpo, las trompetas se mueven hacia atrás por medio de actividad muscular para permitir el escapar de la superficie (Rueda *et al.*, 1990).

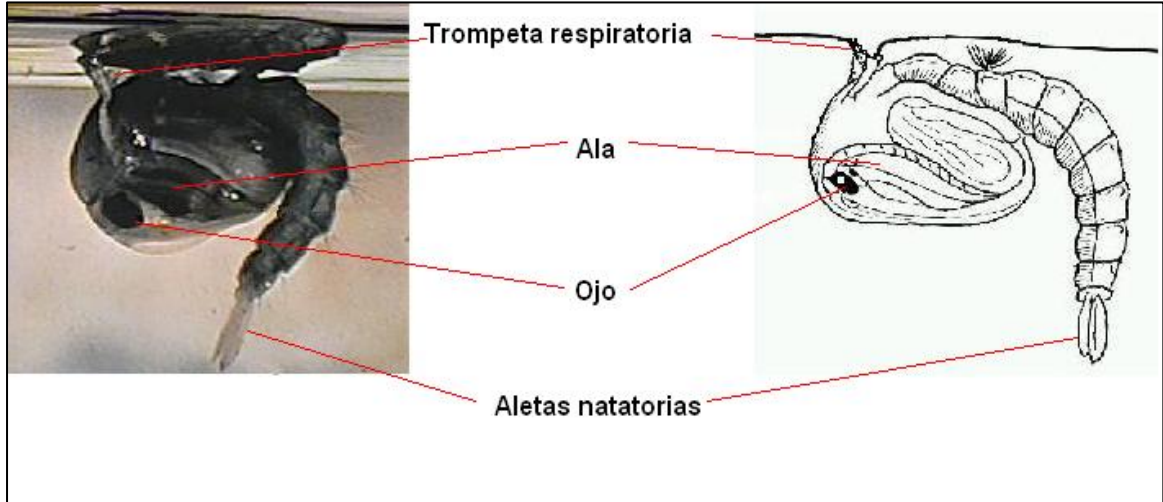


Figura 6. Fotografía y dibujo donde muestras las partes estructurales de una pupa de *Cx. quinquefasciatus*.

4.1.2.4. Adultos

Una vez que la fase de pupa se cumple y todas las estructuras del mosquito adulto están completas emerge el mosquito adulto, cabe mencionar que los primeros en emerger son los mosquitos hembras, esto es desde el punto de vista evolutivo una gran adaptación, ya que es común que en los criaderos de los mosquitos existan alrededor, depredadores pendientes de sus posibles presas, ya que una vez que emergen los mosquitos estos no son capaces de elevar el vuelo inmediatamente, si no que tienen que esperar a que sus alas están completamente secas y esto les puede llevar unas horas, de tal forma las hembras son las únicas capaces de transmitir enfermedades ya que son las únicas hematófagas, además es bien sabido que una hembra solo copula una sola vez y un macho puede copular con varias hembras y por ende es más importante para la manutención de la especie, que más hembras sobrevivan (Harwood y James, 1987)

4.1.2.4.1. Estructuras distintivas de los mosquitos de la especie *Cx. quinquefasciatus*.

1. Cabeza

Probóscide con escamas oscuras, palpos cortos y oscuros, occipucio estrecho con escamas doradas y escamas dorsales bifurcadas erectas, las escamas erectas de la parte central usualmente pálidas y escamas laterales anchas de color claro (Carpenter y Lacasse, 1955).

2. Tórax

Integumento del escutum de color pardo, el escutum está revestido con escamas curvadas de color pardo- dorado, es pálido sobre el espacio preescutelar; escutelo con delgadas escamas doradas y setas pardas sobre los lóbulos; pleura con pequeños parches de escamas blancas (Carpenter y Lacasse, 1955).

3. Patas

Escamas oscuras con un color que va de bronce a verde-azul metálico, la superficie posterior del fémur y de la tibia de color pálido, punta apical del fémur y la tibia con escamas pálidas (Carpenter y Lacasse, 1955).

4. Alas

Tienen una longitud aproximada de 3.5 a 4.0 mm y escamas estrechas de color oscuro (Carpenter y Lacasse, 1955).

5. Abdomen

Tiene bandas pálidas en los terguitos abdominales, que se estrechan hasta unirse o solamente están desconectados desde las manchas laterales, usualmente tienen las bandas basales de los terguitos del abdomen de color pálido, anchas y unidas en las manchas laterales. Primer terguito con un parche de escamas de color oscuro bronce, en medio quedan algunos terguitos oscuros que van de bronceado a un verde-azul metálico, con bandas basales concupiscentes y parches laterales de escamas blancas; cada banda ancha está rodeada en el margen posterior y se va haciendo estrecho hasta

donde todas estas se unen a los parches laterales. El vientre es predominantemente escamoso y blancuzco, usualmente está moteado con algunas escamas pardas (Carpenter y Lacasse, 1955) (Figura 7).

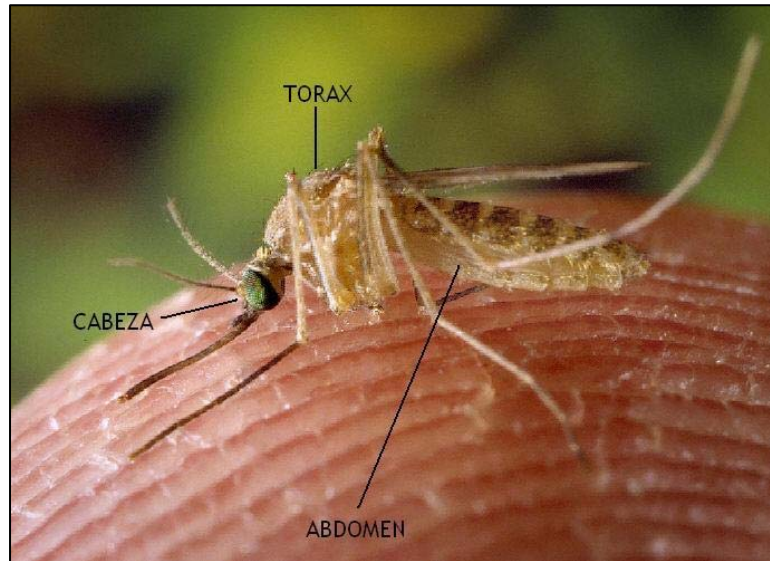


Figura 7. Estructuras características de un adulto de *Cx. quinquefasciatus*.

4.1.4. Hábitos alimenticios de los adultos y preferencias alimenticias.

Normalmente el alimento de ambos sexos para el vuelo y la manutención metabólica ordinaria se obtiene del néctar y fluidos vegetales. Las hembras de los mosquitos perforan la piel de muchos tipos de animales y se alimentan de sangre, requiriendo la proteína de la misma para el desarrollo de los huevos (Harwood y James, 1987).

El mosquito *Cx. quinquefasciatus* se alimenta por las noches y lo hace de un gran rango de huéspedes, incluyendo mamíferos como los humanos o bien animales silvestres y domésticos como vacas, perros y caballos, aunque se sabe tiene una firme tendencia hacia la ornitofagia (Irby y Apperson, 1988; Forrattini *et al.*, 1989 y Castex *et al.*, 1990).

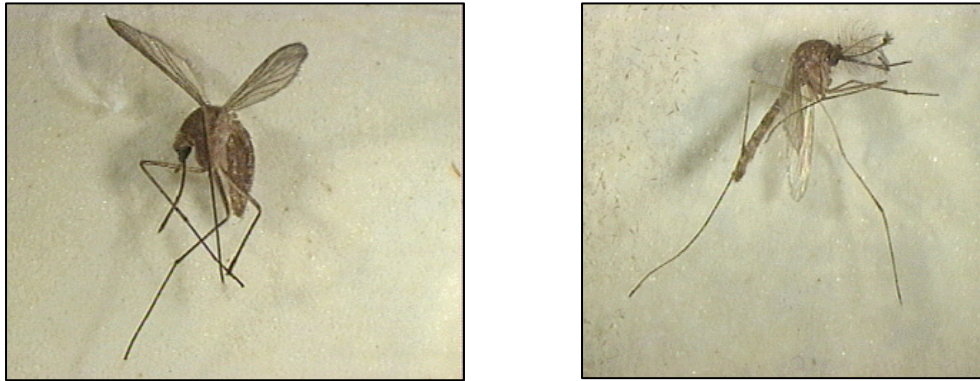


Figura 8. Hembra y Macho de *Cx. quinquefasciatus*.

4.1.5. Estado de digestión sanguínea.

El estado de digestión sanguínea en mosquitos o estados de Sella (WHO, 1975), se determina mediante la examinación externa del abdomen de los mosquitos hembra, esto nos permite saber el tiempo de alimentación o avanzado de la digestión de la última comida sanguínea y esta también está relacionada con la cercanía de la oviposición. De tal forma se identifican los siguientes estados siguiendo el esquema de la Figura 9. El estado I corresponde a un abdomen colapsado sin alimentación (no alimentada) y los ovarios ocupan una tercera parte del abdomen, el estado II (alimentación fresca), el abdomen presenta sangre roja y los ovarios ocupan los segmentos 2-3 ventrales y dorsalmente; el estado III-IV (medio grávida), la sangre es roja oscura y los ovarios ocupan 4-5 segmentos centralmente y 6 dorsalmente; el estado sV (subgrávida), la sangre es menor en cantidad y el color es más oscuro, los ovarios ocupan una buena parte del abdomen; el estado s VI-VII (grávida), la sangre ocupa un traza negra y se observan los huevos ya formados y ocupando todo el abdomen.

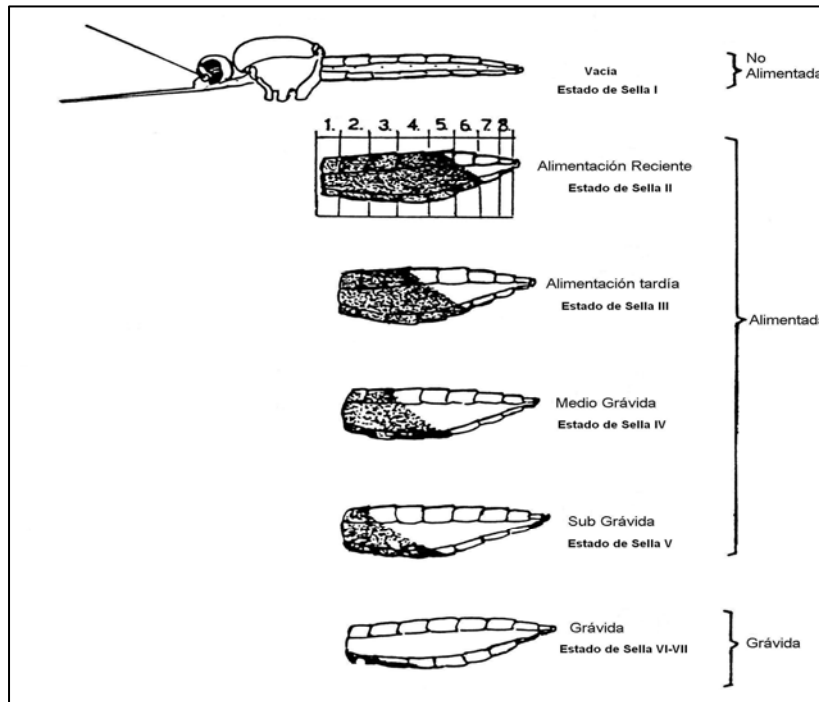


Figura 9. Estados de digestión sanguínea o estados de Sella.

4.1.6. Reproducción.

Como la mayoría de los mosquitos, *Cx. quinquemaculatus* forma enjambres crepusculares de machos en los que se pueden observar que entran las hembras y copulan. Aparentemente estos enjambres no son exclusivos para el apareamiento. Los estímulos visuales y auditivos parecen intervenir de manera importante durante la atracción de machos a hembras. Hay evidencia de que las feromonas sexuales pueden ser producidas por cualquier sexo en varias especies para atraer el sexo opuesto. Solamente la primera cópula es efectiva y con frecuencia las hembras no son receptivas a cópulas subsecuentes. Las segundas cópulas no son exitosas debido al polipéptido matrona que es introducido al tracto reproductor de la hembra, del fluido de la glándula accesoria de su primera pareja (Harwood y James, 1987).

4.1.7. Ciclo Gonotrófico

El ciclo gonotrófico es un periodo de desarrollo de los ovarios, que comienza con una alimentación sanguínea adecuada y termina con la maduración de los huevos no fecundados (oocitos) que están listos para la fecundación y postura. En los trópicos, el tiempo necesario para que se complete este ciclo es, generalmente, de 2 a 5 días dependiendo de la especie y la temperatura ambiente (Fleming, 1986). Si una hembra completa su alimentación sanguínea (2-3 mg. de sangre), desarrollará y pondrá los huevos. Hay una distensión del estómago que estimula el desarrollo de los ovarios. Por consiguiente, las alimentaciones sanguíneas escasas producen menos huevos por lote y una alimentación muy reducida no los produce (Nelson, 1986).

Los ovarios son abastecidos de aire por túbulos llamados tráqueas, las cuales se ramifican en otras más finas en forma de hilo llamadas traqueolas. En la hembra nulípara (que nunca ha tenido una postura) las traqueolas están enrolladas en apretados nudos. Con la expansión y el desarrollo de los ovarios, las traqueolas se desenrollan. Luego de cada postura (hembras paridas) los ovarios retornan a su tamaño y forma normal, pero las traqueolas, se encuentran sueltas y dispersas (Nelson, 1986).

La longevidad de una hembra mosquito llega a ser una variable importante de su ciclo de vida, debido a que explica la habilidad de un adulto para incubar y transmitir virus. Similarmente, el ciclo gonotrófico se encuentra directamente relacionado a la frecuencia en días entre las alimentaciones, por lo tanto las oportunidades potenciales para adquirir e infectar a los humanos con virus. Ambas cosas, son los mayores componentes del modelo epidemiológico de la capacidad vectorial de mosquitos (Garret-Jones *et al.*, 1969). Algunos datos conocidos acerca de estas variables provienen de Reisen, *et al.*, (1991), quienes estimaron la sobrevivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* en 0.84 en California. De Meillon, *et al.*, (1967b) encontraron que cerca del 66% de las hembras de *Cx. quinquefasciatus* que se alimentaron antes de 24 horas oviponen dos días después (tercera noche) y el restante 34% oviponen después de tres días pero prácticamente, todas las hembras que se alimentaron después de medianoche oviponen a la cuarta noche (72 horas). Estos autores descubrieron que las alimentaciones de azúcar retardan la oviposición los mosquitos que se alimentaron de azúcar continúan oviponiendo hasta 10 días después de alimentarse de sangre, para el

quinto día el 45% ha ovipuesto y en el testigo libre de azúcar para este día ovipusieron el 98% (De Meillon *et al.*, 1967a).

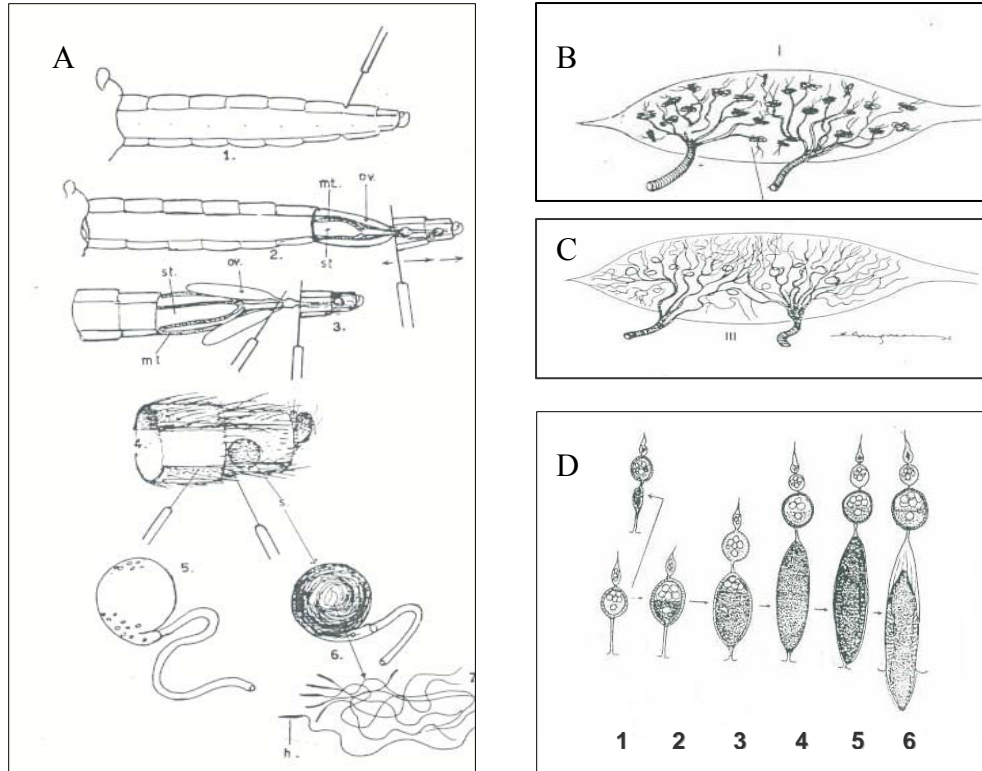


Figura 10. A. Disección de una hembra de mosquito, separando las ovariolas. B. Ovario de una hembra nulípara, con tráqueolas enrolladas. C. Ovario de una hembra párida, con tráqueolas desenrolladas. D. Estados de formación de los huevos o estados de Christopher.

4.1.8. Hábitat de reproducción

Una vez que los huevecillos están totalmente maduros, las hembras hacen recorridos en busca de posibles criaderos donde ovipositar y hacen pruebas de la calidad del agua, buscando principalmente que en estos no hallan depredadores para sus futuras larvas y si suficiente alimento para ellas, como característica de la especie ya comentada previamente, este mosquito deposita grupos de huevecillos flotantes en depósitos de agua de lluvia, reservas de diques, tanques, cisternas y otros pequeños colectores, generalmente se le puede hallar como fauna acompañante de otras especies de mosquitos comunes en las casas como *Aedes aegypti*, aunque como característica de esta especie de *Culex* es que puede tolerar aguas con alta contaminación orgánica. Las

lagunas de oxidación de aguas negras son particularmente atractivas para la oviposición (Harwood y James, 1987).



Figura 11. Criaderos comunes para *Cx. quinquefasciatus* en la Mérida, Yucatán.

4.1.9. Longevidad

Los machos de los mosquitos permanecen vivos durante no más de una semana, aunque las hembras con abundante alimentación pueden vivir de 4 a 5 meses de hecho, para la transmisión de las enfermedades por vectores depende de que estos sobrevivan el tiempo suficiente para completar el ciclo extrínseco del organismo patógeno. La longevidad de los mosquitos depende mucho de la temperatura y la humedad. En Florida se encontró que el mosquito *Cx. quinquefasciatus* efectuó la oviposición primera 4-5 días después de la emergencia, con una mortalidad diaria estimada del 24%. En la India, durante los meses fríos la primera puesta tuvo lugar 13 días de la emergencia y las oviposiciones subsiguientes se realizaron cada 6 días, mientras que en

los meses calurosos éstas ocurrieron cada 5 y 3 días, respectivamente. La mortalidad diaria durante los meses fríos fue de 35%; durante la primavera 7% y en otras épocas del año 12-18% (Aitken, 1961).

4.1.10. Dispersión y radio de vuelo

Casi todos los estudios sobre dispersión han mostrado que el mosquito *Cx. quinquefasciatus* no vuela demasiado lejos. En varios experimentos se encontró que la dispersión desde el punto de salida no excede un radio de 500 metros. Un estudio llevado a cabo en Hawaii, sin embargo, registró un vuelo máximo de 5.5 Km., mientras que en Birmania la especie no voló más allá de los 1.33 KM (Meyer *et al.*, 1983).

4.2. Métodos para estimar la densidad de vectores y su importancia para el control.

4.2.1. Métodos de las cajas rojas.

Diversas estructuras han sido usadas para la colecta de mosquitos, basicamente se usan para colectar especies que tienen hábitos nocturnos o crepusculares y que durante el día se mantienen inactivos, tal es el caso de *Cx. quinquefasciatus*. Dentro de los más usados y recomendados, están las llamadas cajas rojas la original fue descrita por (Goodwin, 1942), las cuales eran rectangulares, de madera y con una medida de 30 cm x 30 cm x 30 cm y abiertas de un lado generalmente pueden ser pintadas de negro por fuera y de rojo por dentro, más sin embargo se ha visto que de rojo es más fácil visualizar los mosquitos que usan estas cajas de lugar para reposar. Las medidas pueden cambiar según la facilidad de colocarlas y también el tipo de madera, ya que se sugiere hacerlas de madera delgada, para que sean fácilmente transportadas y movidas de un lugar a otro, por otra parte se recomienda colocarlas en sitios donde no les de la luz directa y sea de preferencia fresco, con este método se capturan principalmente hembras alimentadas y que están en proceso de digestión sanguínea, aunque también es común colectar mosquitos machos que usan las cajas como protección de las inclemencias del tiempo, los mosquitos son capturados generalmente usando aspiradores de diversos tipos, desde los bucales, hasta los eléctricos (Service, 1993) (Figura 12).



Figura 12. Cajas rojas de madera usadas para colectar mosquitos en la Ciudad de Mérida, Yucatán.

4.2.2. Métodos de las trampas Mosquito Magnet®.

Las maquinas mosquito Magnet® (Burket *et al.*, 2001; Kline, 2002; Burket, 2003; Turel *et al.*, 2003), se desarrollaron como un método de control de los mosquitos urbanos y de zonas amplias como los campos de golf, posteriormente fueron evaluadas en diferentes partes del mundo como un método de captura alterno, ya que consiste en un motor que puede funcionar con corriente eléctrica o bien con celdas solares, estas trampas funcionan con dos atrayentes para mosquitos (hembras) estos son un convertidor de propano a CO₂ y con octenol en forma de pastilla y de liberación continua. Los mosquitos hembras colectados se mantienen vivos en las bolsas captadoras dentro de las maquinas, por lo que ha sido una buena opción en la búsqueda de virus en mosquitos, actualmente es un método muy útil en el estudio del VON en México y el mundo. Cabe mencionar que cada maquina tiene una capacidad de cobertura de 1 acre es decir 4 046.85642 m², por lo que se asegura la colecta de mosquitos de diferentes zonas cercanas y lejanas a las máquinas en campo abierto y en la ciudad aunque disminuye la penetración de los cebos principalmente del CO₂ esta es bastante alta en comparación de otros métodos de captura (Figura 13).

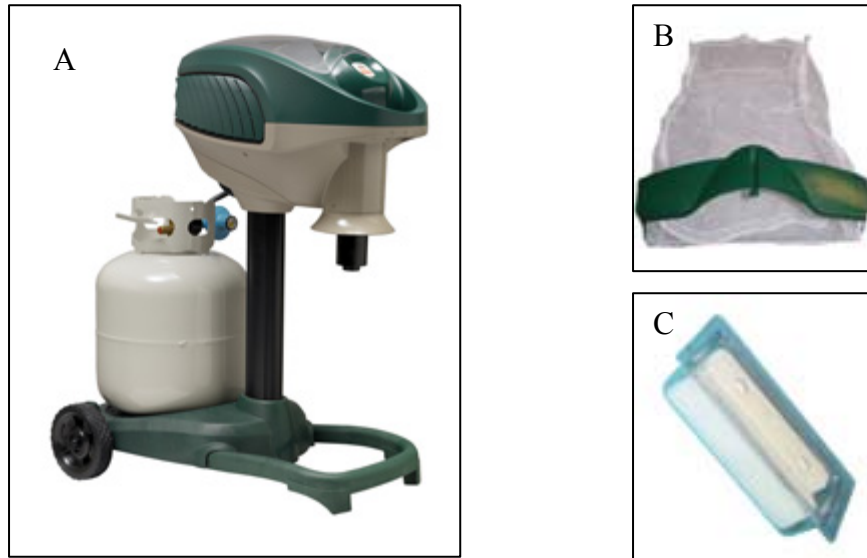


Figura 13. A. Maquina mosquito magnet liberty Plus B. Red capturadota de mosquitos C. Cartucho de Octneol (cebo atrayente).

4.2.3. Método de las colectas en zonas de reposo.

Cuando se trabaja con mosquitos que se hallan en zonas urbanas es conveniente, coleccionar mosquitos en sitios o zonas de reposo en los domicilios de la ciudad, ya que alli se pueden hallar mosquitos de ambos sexos y de diferentes estados de alimentaci3n, ya que existen especies que se alimentan dentro de las casas pero una vez hecho esto prefieren seguir con el desarrollo de los huevecillos en sitios exteriores (ex3filicos) y al contrario muchas otras especies cumplen todo el sitio de alimentaci3n en sitios interiores (endofilicos). De tal forma el conocer la estructura poblacional de los mosquitos intra y peridomiciliares nos permitira el poder saber los posibles vectores y el mejor m3todo para su control (Marquetti *et al.*, 1986).

Un m3todo muy usado antiguamente fue el de la aspiradora barredora dise1ada por Meyer *et al.*, (1983), la cual permitia conocer las especies que descansaban en la vegetaci3n, pero que era muy pesada y dif3cil de manipular, de tal forma se reedise1o en otro modelo la cual es muy similar y se renombro como CDC backpack aspirador (aspiradora de mochila tipo CDC), la cual consiste en un tubo o brazo succionador, un motor aspirador y que al final de este tubo se ponen recipientes con malla que permite pasar o filtrar el aire con mosquitos y estos son retenidos por la malla, una vez que esto

ha sido se le coloca una tapa y así es como se colectan los mosquitos intra y peridomiciliares, ya que estas mochilas cuentan con una batería recargable y un arnez que le sirve de soporte para poderla transportarla en la espalda fácilmente, este método se usa para colectar mosquitos de diversas especies y es my generalizado (Clark *et al.*, 1994) (Figura 14).



Figura 14. Aspiradora de Mochila y recipiente con mosquitos colectados.

4.3. Enfermedades transmitidas por *Cx. quinquefasciatus*

El mosquito *Cx. quinquefasciatus* (Say, 1823), era hasta hace pocos años únicamente considerada como huéspedes intermediarios importantes y vectores de la filaria humana *Wuchereria bancrofti*. Así también se le consideraba de importancia veterinario ya que transmite los patógenos de la malaria aviar, de la dirofilariasis cardiopulmonar de los perros y el virus de la viruela aviar (Harwood y James, 1987).

Dentro los virus de impotancia en la salud humana se le considera a esta especie vector en alguna parte de los siguientes virus: encefalitis equina del este (EEE), encefaltis equina del oeste (EEO), encefalitis venezolana y encefalitis de San Luis (ESL), además de Chikungunya, Río Ross, Umatilla, Oropouche, Park Hart y el Virus del Oeste del Nilo (VON) (Karabatsos, 1985).

Actualmente el mosquito *Cx. quinquefasciatus*, el cual presenta una amplia distribución en América, ha sido incriminado como vector del Virus del Oeste del Nilo en los Estados Unidos desde 1999, de igual forma en México se le ha podido realizar un

aislamiento de este virus en el noroeste del país (Elizondo-Quiroga *et al.*, 2005) y es sumamente asociado con aves y humanos (Davis *et al.*, 2003). De allí la importancia de su bionomía.

4.3.1. Historia del Virus del Oeste del Nilo (VON)

El VON es un flavivirus causante de encefalitis en humanos, caballos y aves, entre otros. Este virus fue aislado por primera vez de una mujer en etapa febril en el Distrito denominado West Nile en Uganda, en África Central en 1937; Trece años después se aisló el virus en aves, mosquitos y en niños en Egipto (Smithburn *et al.*, 1940). Después se obtuvieron cientos de muestras de humanos, aves y mosquitos provenientes de otras regiones de África, Europa y Asia (Hayes, 1988; Hubalek y Halouzka, 1999). En 1951 en Israel surgió la primera epidemia en una comunidad de agricultores reportándose 123 casos, entre niños y adultos, habiendo en éstos, signos de meningitis o encefalitis aguda (Goldblum *et al.*, 1956; Klinberg *et al.*, 1959). Cientos de casos fueron reportados en África del Sur en 1974. Las epidemias más recientes han ocurrido en Argelia (1994), Rumania (1996-1997), Checoslovaquia (1997), República Democrática del Congo (1998), Rusia (1999), Israel y Francia (2000) y EEUU (1999-2002) (CDC, 2002).

4.3.1.1. Morfología del VON.

El VON es miembro de la familia *Flaviviridae* del género *Flavivirus*, se relaciona taxonómicamente con el complejo antigénico del virus de la encefalitis japonesa que incluye a los virus de la encefalitis de San Luis (ESL), Alfuy, Cacipacore, Usutu, Koutango, Kunjin y Murray Valley (Figura 15) (CDC, 2002).

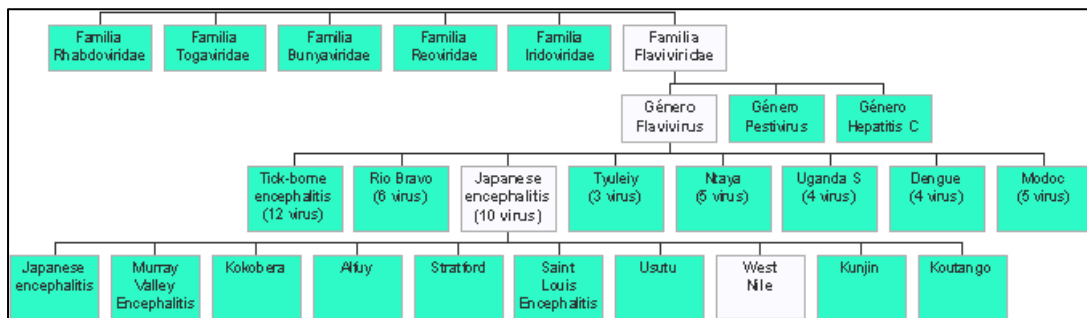


Figura 15. Linaje del virus de la encefalitis japonesa.

El centro de este flavivirus es un icosaedro compuesto de múltiples copias de proteína de la cápside, de 12 kDa mide de 30 a 35 nm de diámetro y encierra el genoma de ARN (sentido positivo) de aproximadamente 12,000 nucleótidos. El virión tiene un diámetro total de 45 a 50 nm (Petersen y Roehring, 2001) (Figura 26).

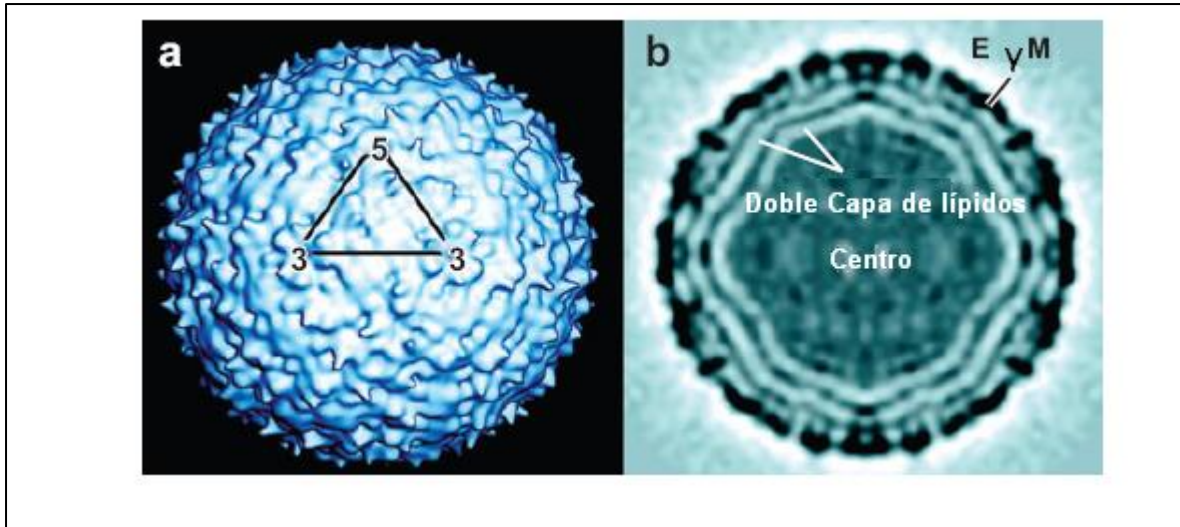


Figura 16. A. Superficie del Virion del VON con una unidad asimétrica del icosaedro indicado por el triángulo. B. Sección central de la reconstrucción mostrando las paredes de doble densidad.

La glicoproteína E viral es la proteína estructural más importante por ser un hemaglutinante viral, mediadora en la unión con la célula huésped y por producir una respuesta inmunológica en la producción de anticuerpos neutralizantes y es la que permite la identificación serológica (Smithburn *et al.*, 1940).

Por métodos analíticos especializados en la secuencia de los ácidos nucleicos de la proteína E, al VON se le dividió en linajes I y II (Berthet, 1997; Lanciotti *et al.*, 1999; Jia *et al.*, 1999; Scheret, 2001). Los virus del linaje I pueden infectar a humanos, mamíferos y a aves; los virus del linaje II se mantienen hasta ahora en África de manera enzoótica y no se ha asociado con ninguna infección en humanos (Petersen y Roehring, 2001) (Figura 17).

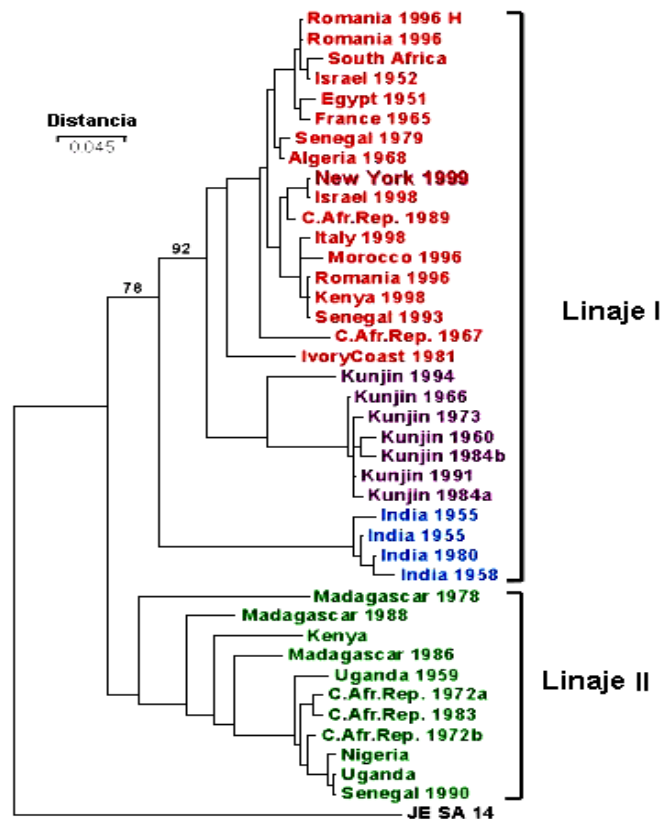


Figura 17. Arbol filogénico basados en datos secuenciales de la glicoproteína E estructural. Fuente: CDC. (12).

4.3.1.2. Ciclo de transmisión.

Los seres humanos contraen el VON a través de picaduras de mosquitos que se han expuesto al virus como resultado de haberse alimentado de aves infectadas. La transmisión se produce durante la picadura, pero su efectividad es variable dependiendo del mosquito vector y la zona de alimentación. El virus no se transmite directamente de persona a persona y no se han dado casos de transmisión directa de aves a los seres humanos (CDC, 2002). Las aves (migratorias, residentes y domésticas) son consideradas las principales amplificadoras y huéspedes vertebrados para la transmisión del virus en la naturaleza, pero otros vertebrados como son los caballos, gatos, perros y el mismo hombre, pueden ser infectados, considerándose como huéspedes accidentales. En las aves la infección no es mortal, sin embargo en los Estados Unidos se dieron casos donde éstas (principalmente el cuervo común) han muerto debido a la infección que provoca el virus y

hasta el momento la transmisión que pueda ocurrir de ave a otra ave esta en investigación (CDC, 2002).

El virus se transmite principalmente por la picadura del mosquito ornitofílico *Cx. pipiens*, pero se ha encontrado que otras especies como *Aedes* y *Anopheles* puedan transmitirlo, actualmente se ha encontrado el virus en 43 especies de mosquitos en los Estados Unidos (Henderson *et al.*,2004). Estos vectores se infectan al alimentarse de sangre procedente de un portador infectado, ya sea de aves, mamíferos (caballos) o del hombre; otros posibles vectores son las garrapatas de los géneros *Argas*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* y *Ornithodoros* aunque su papel en la transmisión y mantenimiento del virus es aún incierto. El mosquito se infecta con el virus y puede infectar a su próxima fuente de alimentación (humanos, aves y otros mamíferos). Por lo tanto, estos insectos constituyen el vector principal para la propagación de la infección en la entidad y por lo general la fuente de varios brotes (Burke y Monath, 2001) (Figura 18).

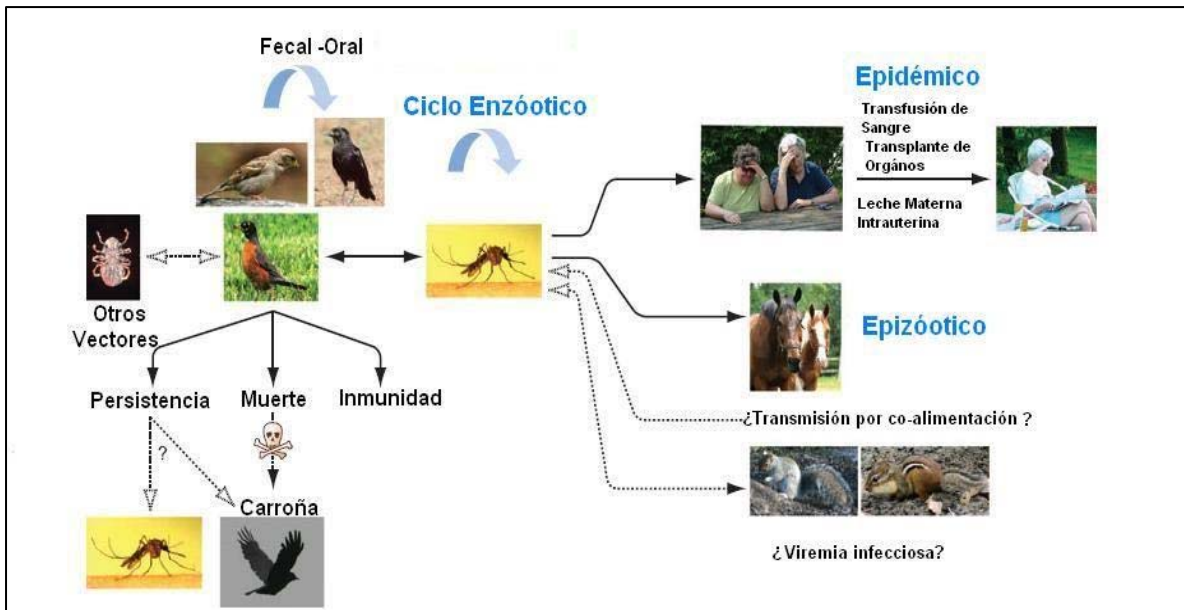


Figura 18. Ciclo de transmisión del VON.

Se han documentado otras formas por las que el virus puede transmitirse, a humanos, como la vía trasplacentaria, por transfusión sanguínea, trasplante de órganos, ingestión de leche materna y por accidentes en el laboratorio, al manipular muestras de

animales infectados y manejo de virus sin la seguridad requerida (Charatan, 2002; Armstrong *et al.*, 2003; Dodd, 2003).

4.3.1.3. Sintomatología.

En los humanos, el VON produce generalmente una infección asintomática o una enfermedad febril leve con manifestaciones parecidas a los de la gripe. Las primeras manifestaciones ocurren dentro de un plazo de 3 a 6 días, aunque se ha visto que el período de incubación puede llegar a extenderse hasta 15 días. Los síntomas generales incluyen fiebre de moderada a alta, fatiga, conjuntivitis, náuseas, dolor abdominal y torácico, cefalea, diarreas, así como amigdalitis severa y complicaciones respiratorias (Campbell *et al.*, 2002).

La mayoría de las personas infectadas con el virus no han tenido síntomas o padecen de manifestaciones parecidas a la influenza o el dengue. Muchos se recuperan completamente y no ven en esta enfermedad un gran peligro para la salud o la vida. Pero la muerte ocurre en el 3-15% de los casos, sin embargo, el promedio de epidemia hacia este punto indica una tasa de mortalidad exacta por encima del 10%. Las personas con alto riesgo para la infección aguda y morir son los ancianos, los niños recién nacidos y aquellos con un sistema inmunológico comprometido como los pacientes de VIH (Craven y Roehring, 2001) (Figura 19).

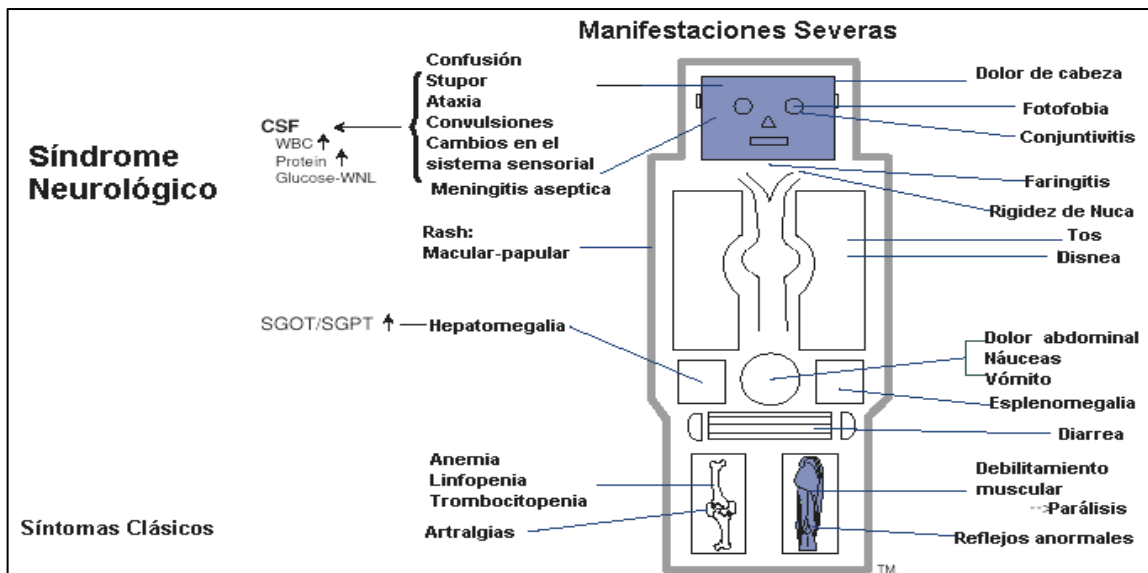


Figura 19. Signos y síntomas de la enfermedad producidas por el VON en la representación esquemática del cuerpo humano.

4.3.1.4. Mortalidad.

La mayoría de las personas infectadas con el virus no han tenido síntomas o padecen de manifestaciones parecidas a la influenza o el dengue. Muchos se recuperan completamente y no ven en esta enfermedad un gran peligro para la salud o la vida. Pero la muerte ocurre en el 3 - 15% de los casos, sin embargo, el promedio de epidemia hacia este punto indica una tasa de mortalidad exacta por encima del 10%. Las personas con alto riesgo para la infección aguda y morir son los ancianos, los niños recién nacidos y aquellos con un sistema inmunológico comprometido como los pacientes de VIH, los que reciben quimioterapia y los que son tratados con corticosteroides en casos de transplante de algún órgano (Figura 20) (Craven, 2001).

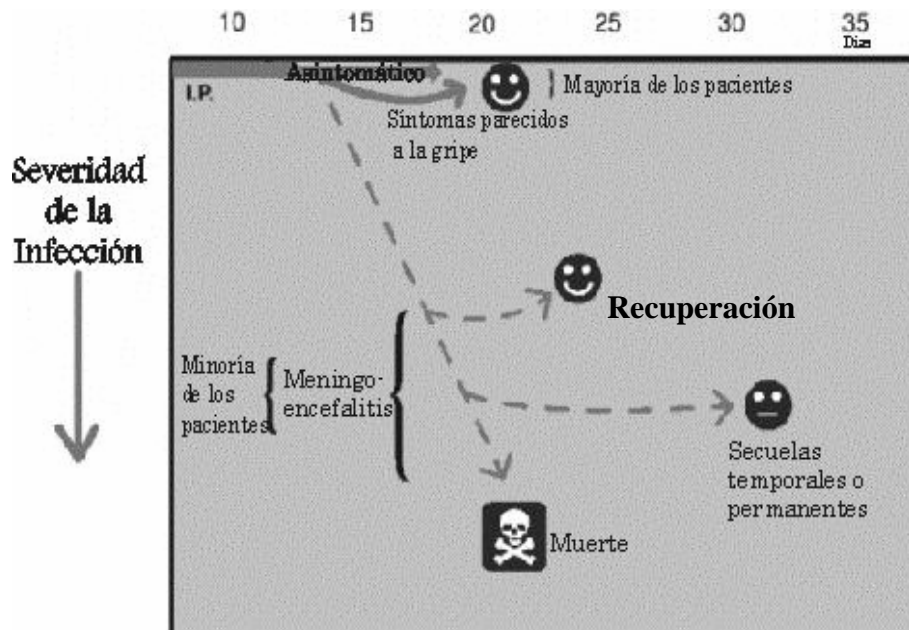


Figura 20. Esquema que representa la Morbi-Mortalidad después de la-infección al VON.

4.3.1.5. Vectores del VON.

En Estados Unidos se ha encontrado el VON en 43 especies de mosquitos (Lawrie *et al.*, 2004), siendo considerados los más importantes, los mosquitos pertenecientes al complejo *Cx. pipiens*, principalmente porque son comunes en áreas urbanas y porque los brotes de la enfermedad ocurren durante los picos de mayor abundancia de estos vectores (Fonseca *et al.*, 2004).

El mosquito *Cx. quinquefasciatus* en estudios de laboratorio ha demostrado ser un vector del Virus del Oeste del Nilo eficiente (Turell *et al.*, 2000, Goddard, *et al.*,

2002). Reisen *et al.*, 2004 detectó al VON en grupos (pools) de este mosquito en varias localidades del sur de California, y mencionó que circulaba también en Arizona, EUA y Baja California, México. Las evidencias de la actividad del VON en México han sido documentadas para Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas en caballos y aves durante el periodo del 2002-2003 (Blitvich *et al.*, 2003, Blitvich *et al.*, 2004, Fernandez-Salas *et al.*, 2003). El mosquito *Cx. quinquefasciatus* ha sido reportado para la mayor parte del estado de Nuevo León (Heinemann y Belkin, 1977; Flores-Suárez, 1990; Contreras *et al.*, 1995; Elizondo-Quiroga, 2002).

4.4. Situación en los Estados Unidos.

La primera epidemia registrada de encefalitis por el VON en el continente Americano ocurrió en el área metropolitana de Nueva York (NY) en los Estados Unidos a fines del verano de 1999, identificándose casos en humanos y en algunos animales, también en aves muertas, aves vivas (sero-positivas) y en mosquitos. Se confirmaron de 62 casos en humanos con enfermedad neurológica (46 de NY, 15 de poblados cercanos y 1 de un extranjero que visitó NY) y 7 defunciones (Nash *et al.*, 2001). En el año 2000 se reportaron 21 casos y dos fallecimientos, en el 2001, se reportaron 66 y 9 respectivamente, pero para el 2002, la cantidad fue de 4,156 casos con 284 fallecimientos. En el año 2003 se reportaron un total de 8,563 casos humanos del VON (edad promedio 47 años), con un total de 199 defunciones en 46 estados; en adición 11,350 aves muertas se han registrado positivas al VON en 43 estados, D.C. y New York. Por otro lado, también lo reportaron en 4, 146 caballos, 30 perros, 17 ardillas y 1 gato en 41 estados; en mosquitos lo registraron en 7,725 grupos, en 38 estados, D.C. y New York (CDC, 2003 b). En Texas, la frontera norte de los estados del noreste de México, Tesh, *et al.*, (2004) detectaron durante sus estudios de monitoreo del VON, a 400 grupos de mosquitos positivos a este virus entre enero del 2003 y marzo del 2004, en el condado Harris, en Texas y el 95% era de *Cx. quinquefasciatus*. En el 2004, se registraron 2,313 casos en humanos, con 79 defunciones en 40 estados y en D.C. En aves se encontraron 5,660 corvidos muertos y 1,414 de otras especies de aves positivos al virus, pertenecientes a 46 estados y New York. La infección de este virus se ha encontrado eos, donde encontraron infectados a 1 murciélago, 9 perros, 7

ardillas, y 14 animales no identificados. En cuanto a mosquitos lo reportaron en 8,263 en 38 estados, D.C. y New York (CDC, 2004).

En el 2005, se registraron 3,000 casos en humanos con 11 9 muertos, hubo reporte de presencia de actividad viral en aves principalmente, en 2006 se presentó un incremento en el número de casos con 4,269 y 177 defunciones, en el 2007 hubo un total de 3,623 enfermos y 124 personas fallecieron, hasta el mes de mayo de 2008 se han reportado tres casos, en tres estados diferentes (Arizona, Tennessee y Mississippi) con cero defunciones

http://www.cdc.gov/ncidod/dybid/westnile/surv&controlCaseCount08_detailed.htm

.

Además de los Estados Unidos y Canadá, se ha reportado la presencia de este virus en México, en la Isla Caimán, Islas de la Española, Guadalupe, Belice, Guatemala, El Salvador, Cuba, Puerto Rico, las Bahamas Colombia, Trinidad y Tobago y por último Argentina (Gubler, 2007).

4.5. Situación en México.

En México el primer caso humano fue en el año 2002, correspondió a una persona de Coahuila, pero que se había enfermado en los Estados Unidos y se reportaron anticuerpos en 2 aves y 20 caballos y 3 de estos enfermaron. En el año 2003, se presentaron seis casos en humanos, que correspondieron a cuatro en el estado de Chihuahua, uno en Sonora y uno en Nuevo León. Al mismo tiempo que se le hallaba en humanos se le encontró en caballos en Coahuila y en Yucatán (Blitvich *et al.*, 2003, Loroño *et al.*, 2003), así como en aves en Tamaulipas (Fernández *et al.*, 2003).

En el 2004 hubo un caso en Sonora y se detectaron con anticuerpos 188 aves y 793 caballos, en el 2005 no se reportó ningún caso en humanos y solo se detectaron anticuerpos en 90 aves y 814 caballos, para el año 2006 se detectó un caso en humano en Oaxaca y la presencia de anticuerpos en 117 aves y 553 caballos.

En el 2007 no hay reporte de presencia del virus en México, probablemente a que ya no se esta realizando rutinariamente la vigilancia en animales, aunque se reportó extra oficialmente que hubieron dos casos en humanos uno en el estado de Chihuahua y otro en Oaxaca (Secretaria de Salud, 2007).

4.5.1. Situación en Yucatán.

En el año 2000 y después de haber ocurrido los primeros casos del VON en Estados Unidos, se implemento en el estado de Yucatán un sistema de vigilancia para monitorear la introducción de este virus a través de la búsqueda de anticuerpos en aves migratorias y residentes, así como en caballos; los primeros reportes de aves y caballos con anticuerpos contra este virus se hallaron en el 2003 (Loroño *et al.*, 2003; Farfan *et al.*, 2004). Hasta este momento no se han reportado casos en humanos, pero siguen apareciendo animales con anticuerpos, incluyendo la ciudad de Mérida que es la ciudad más poblada del estado de Yucatán, por lo que presupone que la circulación del virus en el área se sigue dando y esto genera mayor posibilidad de un brote epidemiológico (Farfan *et al.*, 2006).

MÉTODOS

5.1. Área de estudio.

5.1.1. Ciudad de Mérida

El estudio se realizó en la ciudad de Mérida capital del estado de Yucatán, localizado en la península del mismo nombre en el Sureste de México. Dentro de esta Península existen dos estados más, Campeche y Quintana Roo. Mérida es la ciudad más grande de la Península de Yucatán

La ciudad de Mérida, se localiza a $20^{\circ} 58' 04''$ N y $89^{\circ} 37' 18''$ W y a una altitud de nueve metros sobre el nivel del mar. El clima se define como cálido subhúmedo con lluvias en verano, con una temperatura promedio anual de 26° C siendo la máxima y la mínima 36° C y 18° C respectivamente. El nivel pluvial promedio es de 1,003.0 mm con mínima de 415 mm y máxima de 1290 mm y se distinguen dos temporadas muy marcadas: la de lluvias (mayo-octubre) y la de secas (noviembre-abril). La población total es 705 055 habitantes. El número de viviendas ocupadas es de 171 392. La ciudad esta dividida en 168 colonias (INEGI, 2002) (Figura 21).

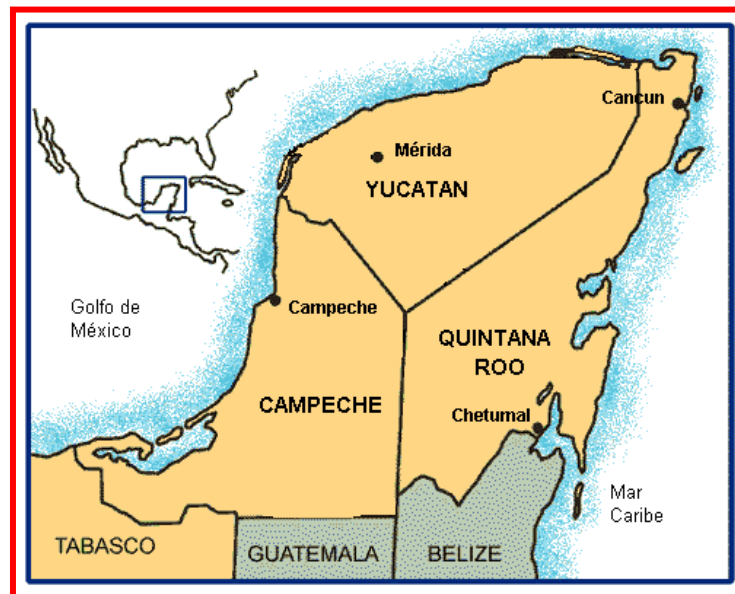


Figura 21. Ubicación de la Ciudad de Mérida en la Península de Yucatán y en México.

De manera general, es posible identificar cuatro áreas cardinales, que han sido tradicionalmente relacionados con las características socio-económicas de sus

moradores y de las viviendas. En este estudio se pretende conocer los principales hábitos biológicos del mosquito *Cx. quinquefasciatus* en condiciones urbanas por lo que se determinara las colonias a muestrear a través de un muestreo por clusters y la unidad de muestreo la colonia. De tal forma la ciudad se dividirá en cuatro zonas para este proyecto, la zona noroeste, la zona noreste, la zona suroeste y la zona sureste (Figura).

La zona noroeste estará delimitada por periférico, la calle 60 norte y la calle 59 y Av. Jacinto Canek representada en color azul. La zona noreste estará delimitada por el periférico, la calle 60 norte y la calle 59 y Av. Fidel Velásquez representado en color rojo. La zona suroeste estará delimitada por periférico, la calle 60 sur y la calle 59 y Av. Jacinto Canek representado en color verde. La zona sureste estará delimitada por periférico, la calle 60 sur y la calle 59 y Av. Fidel Velásquez representado en color amarillo. (Figura 22)

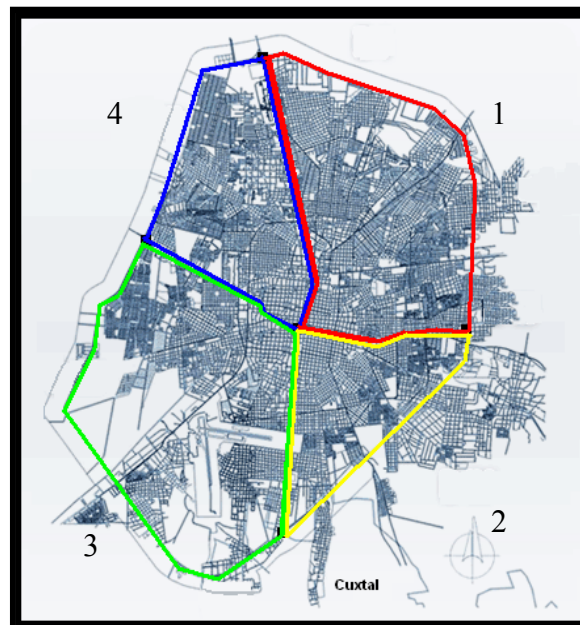


Figura 22. Mapa de la ciudad de Mérida, Yucatán, en donde se muestra las cuatro zonas donde se realizará el muestreo. La zona noreste (rojo), la zona noroeste (azul), la zona suroeste (verde) y la zona sureste (amarillo).

5.2. Obtención, manejo de material biológico y métodos para determinar el ciclo gonotrófico y longevidad en épocas de seca y de lluvia.

Las capturas se llevaron a cabo durante 25 días consecutivos en dos épocas diferentes de lluvias para la ciudad al final, del 13 de octubre a 6 de noviembre de 2004 y al comienzo de las lluvias del 27 de junio a 22 de julio de 2005, a este periodo llamaremos época de secas porque las lluvias todavía no son constantes. La caja roja que se utilizó en la colecta de mosquitos adultos es tipo Service (1993); hecho de madera de 50x50x50 cm., abierta de un lado. Éste método es utilizado para capturar mosquitos generalmente alimentados y que se encuentran en reposo, las cajas se colocan en lugares sombreados y húmedos cercanos a sitios naturales de reposo, como arbustos o piedras, para asegurar la colecta. Se dispuso de un total de 30 cajas rojas distribuidas por toda la ciudad, cada una de las cajas correspondió a una colonia que a su vez correspondió a un domicilio localizado en una de las cuatro zonas ya mencionadas. La designación de las cajas fue a conveniencia, donde los habitantes de las casas se comprometían a no cambiarlas de lugar y protegerlas para evitar su destrucción.

Los mosquitos *Cx. quinquefasciatus* tienen hábitos nocturnos, es decir, se alimentan por las noches. En lo que resta del día buscan lugares oscuros y frescos para descansar y digerir sus alimentos. Los lugares artificiales de descanso o cajas rojas se colocaron en los patios domiciliarios, en lugares frescos donde los rayos del sol no les den de manera directa.

La colecta de mosquitos se hizo en los mismos sectores en los dos periodos, los culícidos adultos se colectaron con un aspirador de mochila durante los 25 días consecutivos de 8:00 a 11:00 horas, previamente se colocó un dispositivo cilíndrico de pvc al inicio del tubo de la aspiradora donde se retuvieron los mosquitos vivos. Los mosquitos adultos se transportaron al insectario del Centro de Investigaciones Regionales Dr. Hideyo Noguchi con su respectiva etiqueta conteniendo la fecha y el lugar y se procesaron posteriormente.

5.2.1. Caracterización de la abundancia, estado trófico y paridad.

Las especies y sexo de los mosquitos se identificaron utilizando las claves de Carpenter y Lacasse (1955) y Darsie y Ward (1981). La disección se realizó bajo estereoscopio de 10X, usando una gota de solución salina (NaCl) al 0.9% por cada ejemplar. Las hembras de *Cx. quinquefasciatus* se clasificaron como alimentadas (con

visible sangre en el abdomen), no alimentadas (sin sangre en el abdomen) y grávidas (con huevos en el abdomen). Se registró el grado de digestibilidad sanguínea o Índice de Sella citado por WHO (1959). Los ovarios de las hembras se disectaron para verificar la paridad, de acuerdo al método de Detinova (1962). Las hembras nulíparas se identificaron por la presencia de traquéolas enrolladas en nudos en el ovario; en las hembras paridas sus traquéolas estuvieron desenrolladas (figura 2 y 3).

5.2.2. Estimación de la sobrevivencia y el ciclo gonotrófico

Los datos de disección se usaron para estimar diariamente el número de hembras paridas y nulíparas de *Cx. quinquefasciatus* colectadas. El índice de paridad diaria se obtuvo dividiendo el número de hembras paridas por el número total de disectadas. La media del índice de paridad durante todo el estudio se obtuvo dividiendo el total de paridas por el total de hembras disectadas (McHugh, 1989).

La duración del ciclo gonotrófico fue calculado usando el análisis de correlación cruzada de Birley y Rajagopalan (1981) con la fórmula:

$$M_t = P_u T_{(t-u)}$$

Donde **M** es el número de paridas individuales capturadas por día **t**; **T_(t-u)** es el número total de hembras (nulíparas y paridas) capturadas por día **t-u**; **u** es la duración del ciclo gonotrófico, calculada de la pendiente del modelo de regresión. Para eliminar sesgo en la correlación cruzada, los datos se filtraron con un proceso autorregresivo con la fórmula:

$$Z_t = x_t - a \cdot x_{t-1}$$

Donde **x_t** son las series de tiempo filtrado y **a** es la estimación del parámetro autorregresivo (Holmes y Birley, 1987). Puesto que el modelo supone que la presencia de hembras nulíparas es debido a la natalidad y no a la emigración, la primera ecuación fue tratada como una regresión lineal con la interceptación supuesta en cero. Por esta razón, la primera ecuación fue examinada con la estadística t para determinar si la interceptación de la línea fue diferente de cero o no. Los índices de sobrevivencia diaria

(p) fue calculado usando el numero de paridas, con $p = (\mathbf{PR})^{1/\mathbf{CG}}$, donde **PR** es el índice de paridad y **CG** es la duración del ciclo gonotrófico. Se hizo una comparación de las correlaciones obtenidas durante los dos períodos para determinar si existen diferencias entre las épocas a investigar.

5.2.3. Medición de la oogénesis

En la ciudad de Mérida, Yucatán, se colectaron hembras de *Cx. quinquefasciatus* durante dos noches en las mismas fechas de las dos estaciones estudiadas. Las hembras se colectaron con la trampa Mosquito Magnet. Este método de colecta desarrollado por la American Biophysics Corporation, Simula un huésped, despidiendo calor, humedad y bióxido de carbono resultado de la combustión de gas propano. El octenol (1-octen-3-ol) también es usado como atrayente. Cuando los mosquitos se aproximan a la maquina el ventilador que posee absorbe a los insectos hematófagos y se depositan en una red y pueden retirarse. Esta trampa se coloca en áreas sombreadas de los patios entre los sitios de reproducción de los mosquitos y área de actividad de los humanos (Cooperband y Carde, 2006).

La colecta se realizó en la noche de 20: 00 a 24:00 hrs. En total se trabajaron con 200 hembras no alimentadas. Los mosquitos se colocaron en una jaula de 40x40x40 cm y dos horas posteriores a la captura se alimentaron con sangre de gallina y se mantuvieron con solución de azúcar.

De acuerdo a la metodología de Mecuria *et al.*, (1991) y Arredondo *et al.*, (1998) a la hora cero se cortaron 10 hembras no alimentadas para determinar en que estado de Christopher se encuentran. A las 12 horas posteriores a la alimentación sanguínea se cortaron otras 10 para observar el desarrollo de la oogénesis y a las horas siguientes se disectaron las hembras con un intervalo de 6 horas hasta llegar a la hora 78.

5.2.4. Obtención, manejo de material biológico y métodos para determinar el patrón de selección de huéspedes.

Las capturas se llevaron a cabo durante las mañanas durante 4 veces al mes durante el año de 2005, usando las mismas cajas rojas, utilizadas en el objetivo del ciclo

gonótrofico, en 40 casas. Los mosquitos fueron colectados dentro de las cajas rojas con aspiradores entomológicos eléctricos. Los mosquitos eran llevados al laboratorio vivos y posteriormente fueron eutanizados en a -70°C , e identificados por especie, sexo y estado de alimentación usando los criterios de Sella, en el que el abdomen de las hembras de los mosquitos se identificó como alimentado (visible sangre en el abdomen), no alimentado (sin sangre en el abdomen) y grávidas (con huevos en el abdomen).se registro el grado de digestibilidad sanguínea o índice de sella citado por WHO (1959).

Para este estudio, para cada mes se separaron 20 mosquitos hembras recién alimentadas y con cada una de estas hembras se determinó de que vertebrado estudiado se alimento, los vertebrados considerados fueron para los mamíferos: humano, perro, gato, caballo y vaca y para las aves: los ordenes de las passeriformes (que incluye las aves canoras o la mayoría de los pájaros), columbiformes (palomas) y galliformes (gallinas y pavos).

5.2.4.1. Censo de huéspedes vertebrados.

Humanos y animales domésticos (aves y mamíferos) fueron contabilizados en cada una de las casas donde habáin cajas rojas. Se llevó la relación durante el proceso de muestreo y este fue constante, obviamente los animales no domésticos principalmente las aves que andan libres pues no pudieron contabilizarse y aunque se preseumen presente en algún momento no hay una cantidad asignada.

5.2.4.2. Pruebas de laboratorio para la identificación de la alimentación.

Posteriormente se realizara en el laboratorio de Arbovirologia del CIR-UADY el macerado de cada uno de los mosquitos con sangre en tubos de eppendorf de 1.5 ml con pistilos largos y añadiéndole 600 microlitros de medio MEM (Medio Mínimo Esencial de Eagle) con 10% de SFB (suero bovino fetal). Este macerado se pasaron a las columnas de QIAshreder por medio del micro pipetas BIO-RAD de 1ml, se centrifugaron a una velocidad alta de 14,000 RPM durante 3min. A 4°C . posteriormente una vez centrifugado la muestra se tomo el sobrenadante y se almaceno en el revco a una temperatura de -70°C para proceder a la extracción de ARN o ADN (N`go y Kramer, 2003).

Una vez realizado todo este procedimiento, con las muestras de sangre de perro, caballo, humano, gato, ave, bovino que se obtuvieron se realizó la purificación del ADN con columnas de QIAamp DNA MINI KIT, para que se pueda llevar a cabo las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (N'go y Kramer, 2003).

5.2.4.2.1. Técnicas de PCR

La reacción en cadena de la polimerasa, ya más conocida como PCR, es una técnica que permite replicar entre cientos de miles y millones de veces, en el transcurrir de pocas horas e in vitro, pequeñas cantidades de ADN. Uno de los aportes fundamentales de esta metodología a la investigación básica en biología molecular consiste, precisamente, en la rapidez y eficiencia mediante las cuales se realiza una tarea que antes requería largas y tediosas jornadas. El producto que se obtiene al finalizar la reacción -una gran cantidad de un fragmento génico con alto grado de pureza- favorece la tarea de los investigadores empeñados en ampliar nuestros conocimientos sobre la estructura y función de los genes (Boakye *et al.*, 1999).

Esta técnica permite multiplicar ("amplificar" es, en realidad, el término que se ha impuesto) pequeñas cantidades de ADN entre cientos de miles y millones de veces. El tramo destinado a reproducirse puede tener desde cincuenta hasta más de dos mil nucleótidos de longitud. El segmento de ADN que sirve de molde no requiere estar necesariamente en estado puro, sino que puede ser parte de mezclas complejas. Puede ser, por ejemplo, ADN nuclear total. El método se basa, en su forma más simple en la realización de tres reacciones sucesivas llevadas a cabo a distintas temperaturas. Estas reacciones se repiten cíclicamente entre veinte y cuarenta veces. La muestra se calienta, en el primer paso, hasta lograr la separación de las dos cadenas que constituyen el ADN, hecho que se conoce como "desnaturalización". En el segundo paso, la temperatura se reduce para permitir el "apareamiento" de cada una de las cadenas cortas de nucleótidos (oligonucleótidos) con cada una de las hebras separadas del ADN molde. Se trata de segmentos de ADN de cadena simple, sintetizados en el laboratorio y diseñados de manera tal que permiten definir los límites del tramo de ADN que se desea replicar. Obviamente, para que se pueda producir el apareamiento, cada uno de estos oligonucleótidos, a los que se denomina "iniciadores" o *primers*, debe ser complementario del tramo al que tienen que unirse en las cadenas separadas del ADN

molde. En tercer lugar, una enzima ADN polimerasa extiende los *primers*, en el espacio comprendido entre ambos, sintetizando las secuencias complementarias de las hebras del ADN molde. Para ello, la ADN polimerasa usa desoxidonucleótidos trifosfato (dNTPs) agregados a la mezcla de reacción. La temperatura a la que se realiza el tercer paso está condicionada por aquella a la cual "trabaja" la enzima ADN polimerasa. Al cabo del primer ciclo de tres reacciones (desnaturalización, apareamiento, extensión) el tramo de ADN elegido se ha duplicado y el doble de su cantidad original se encuentra disponible para ser nuevamente replicado en un segundo ciclo. El resultado de la aplicación de numerosos ciclos "en cadena" da lugar a la amplificación geométrica del segmento de ADN delimitado por los primers (Boakye *et al.*, 1999). Para observar realmente de que se estuvo alimentando cada uno de los mosquitos, se utilizaron diferentes primers de citocromo b tanto de mamíferos como de aves en general así como también los primers específicos para aves de los órdenes ya descritos.

5.2.4.2.2. Extracción de ADN.

La extracción del ADN tanto del macerado de mosquitos, así como de las sangres obtenidos en los mamíferos utilizados como controles fueron homogenizados de 30 a 40 veces para posteriormente tomar los leucocitos para proceder a la extracción del ADN tomando 200 µl y centrifugarlo a 10,000 rpm por 30 min, separando el plasma y colectando la franja intermedia (leucocitos) aproximadamente 40 µl y completándolo a 200 µl con TE, añadiéndole 20 µl de proteinasa K y mezclándolo con 200 µl de Buffer AL a cada muestra. Una vez realizado todo esto se incubó a una temperatura de 56° C para el proceso de lisis durante 10 min. Añadiéndole 200 µl de ethanol y luego se pasaron a las columnas de KIAamp y se centrifugó a una velocidad de 8000 rpm durante 10 min y se sometió a una serie de lavados con Buffer AW1 a 8000 rpm y AW2 a 14000 rpm por 3 minutos y al final se le añadió 200 µl de Buffer AE para recoger todo el ADN y mantenerlo a temperatura ambiente durante 5 minutos para la aumentar la concentración del ADN (Kauffman *et al.*, 2003).

Una vez que se realizó toda la extracción del ADN todas las muestras fueron conservadas en el revco a una temperatura de 70° C. Estos cebadores sirven de iniciadores para que el ADN polimerasa sintetice la cadena complementaria. La reacción será puesta en el termociclador en donde consta de tres pasos: a) la

desnaturalización del ADN en la muestra, lo que se logra al someterlos a altas temperaturas (94°C) para lograr la separación de las cadenas, b) la hibridación de los cebadores a (60°C) que son unos fragmentos cortos de ADN complementarios a los extremos 5' y 3' de la secuencia por amplificar y a partir de los cuales se inicia la síntesis, estos son específicos de la secuencia que ha de descubrirse y c) la extensión de estos cebadores por la enzima de ADN polimerasa a (72°C) (Boakye *et al.* 1999). Así, en cada ciclo de estos tres pasos se duplica el material genético en un factor de 2ⁿ (donde n es el número de ciclos) hasta que se evidencia en un gel de agarosa y se confronta con una sonda específica para confirmar la identificación final del material encontrado (Kauffman *et al.*, 2003) (Figura 23).

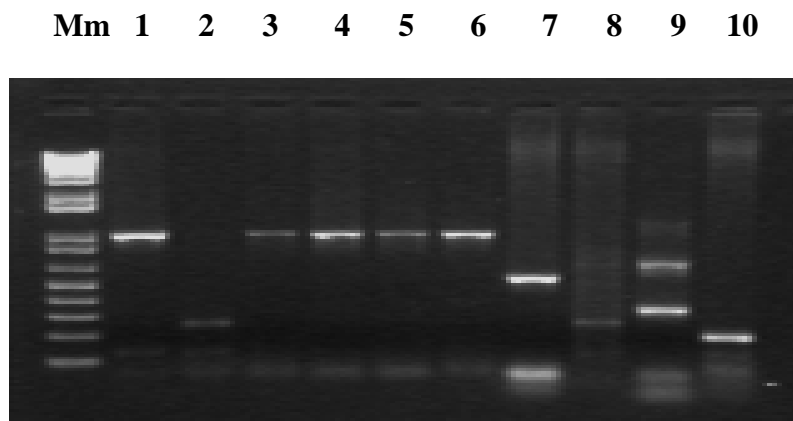


Figura 23. Análisis de ADN con primers tanto generales como específicos: humano, línea 2 perro, línea 3 caballo, línea 4, bovino, línea 5 cerdo, línea 6, gato, línea 7, ave genérico, línea 8 paseriformes, línea 9, columbiforme, línea 10, galliforme; línea 1 1-Kb plus ladder.

Donde fueron sometidos a una serie de condiciones de desnaturalización, alineación y extensión para que posteriormente se realice la electroforesis con un gel adicionándole bromuro de etidio (absorben los rayos UV). Mediante este procedimiento se detecta hasta menos de un centésimo de mg de ADN, lo que representa entre 1 y 10 ng (nanogramos). A cada costado corren separadamente marcadores (estándar) de peso molecular conocido (o pares de bases =pb) que sirven para calibrar los tamaños de los fragmentos (Boakye *et al.* 1999). Para que posteriormente sean reflejados y determinar los pares de bases que se obtendrán y se pueda determinar las preferencias alimenticias del mosquito *Culex quinquefasciatus*.

5.2.4.2.3. Análisis de PCR

Los segmentos del citocromo b gene fueron amplificados usando el Qiagen PCR. Una cantidad de 50 µl de de una mezcla de reactivos conteniendo 10Xbuffer, 4 µl de 2.5 mM de dNTPS, 2 µl de primers tanto de mamíferos como los específicos de aves. Utilizando 24.6 de agua libre de RNAsa y 0.4 µl de Taq ADN polimerasa (Enzima) fueron usados, esta mezcla de reactivos fueron sometidos a una serie de condiciones en un termociclador que consistía a 35ciclos a 90° C por 50 segundos, 60°C por 50 s, y 72° C por 1 minuto y una elongación final de 72° C por 4 minutos. 20 µl de la muestra de los productos de PCR fueron analizados usando un gel de agarosa al 2% mezclándolo con 3 µl de bromuro de etidio y visualizado sobre una cámara de UV (Kauffman *et al.*, 2003).

5.2.4.2.4. Digestión con enzimas de restricción.

Para la identificación de la alimentación de los *Culex quinquefasciatus*, de los productos de PCR que fueron amplificados con primers de CYTB generales que se realizaron para los mamíferos, se llevo acabo los cortes de las bandas de ADN en diferentes sitios utilizando una enzima de restricción ALU 1 también conocidos como endonucleasas (figura 4). Utilizando otros reactivos como el buffer 10x, Acetylato BSA 10mg/ml, 10 µl del producto de PCR y utilizando 0.5 de esta enzima. Como esperado, los productos de PCR fueron generados a partir de 6 especimenes de mamíferos (Kauffman *et al.*, 2003).

5.2.4.2.5. Rango de forrajeo.

En la mayoría de las preferencias del huesped, según lo determinado para identificación de las fuentes alimenticias de los mosquitos, esque existe poca informacion sobre los números de huéspedes que puedan estar dentro del area. Siguiendo el cociente de forrajeo de Hess *et al.*, (1968) dentro del estudio de los mosquitos para estudiar los huespedes preferidos de *Culex quinquefasciatus* con la metodologia de Kuntz *et al.*, (1982) se realizo un censo de las proporciones de los huespedes disponibles en el area de las cuatro zonas de estudio, aplicando la tecnica del cociente de forrajeo a los resultados de la prueba, esta formula ha sido alimentados en otros como Egipto por Beier *et al.*, (1978); Kenawy *et al.*, (1990) y Zimmerman *et al.*,

(1988) también utilizando el cociente de forrajeo para estudiar las preferencias alimenticias de los mosquitos. Sin embargo los problemas con la dificultad o más generalmente la imposibilidad de enumerar los huéspedes posibles en el área y tomando en consideración su ecología y disponibilidad a los mosquitos. Edman (1971) precisó estos así como otras diferencias poniendo a prueba el cociente de forrajeo determinado para superar estas dificultades Kay *et al.*, (1997) propuso el índice de alimentación (FI) esto se define como la proporción de alimentaciones en un huésped con respecto a otro dividido por la proporción prevista de alimentaciones en estos dos huéspedes basados en los factores que afectan la alimentación. Estos factores incluyen abundancia y tamaño del huésped. Así el rango de forrajeo se calculara determinando él por ciento de la población del huésped disponible total representado por ese huésped particular. Un rango de forrajeo de uno, o cerca de uno, no indica un prejuicio selectivo y valores menos de uno, indica anulación de un huésped a favor de otro huésped disponible (Boreham y Garred-Jones 1973).

$$F1 = \frac{Ne/Ne^1}{Ef/Ef^1}$$

Donde:

Ne = numero de huéspedes identificados

Ne¹ = numero de alimentos identificados de un huésped específico II

Ef = proporción de alimentos esperados de un huésped I

Ef¹ = proporción de alimentos esperados de huéspedes.

5.2.5. Determinación de la distribución temporal, estructura de edades, estado trófico y biorritmo de picadura.

Para esta parte del trabajo se usaron diferentes métodos de muestreo de mosquitos, usando maquinas mosquito magnet, cajas rojas de madrea y aspiradoras de mochilas tipo CDC.

Las trampas mosquito magnet (Modelo: Liberty-plus; American Biophysics Corp, North Kingstown, RI) fueron usadas en cada uno de las zonas muestreadas, así cada mes se colecto en cada zona y la suma de las colectas se contabilizó por mes para toda la ciudad de Mérida, estas maquinas fueron encendidas a las 18:00 horas y dejadas

toda la noche para capturar la mayor cantidad de mosquitos. Cada hora de 18:00-24:00 horas eran contabilizados los mosquitos para determinar el horario de mayor captura atraídos por los cebos y así poder calcular el horario o biorritmo de picadura. Todos los mosquitos fueron llevados al laboratorio, se les contó, identificó a que especie correspondían, el sexo y se les determinó el estado de digestión sanguínea.

El método de las cajas rojas (0.5 m³) fueron pintadas de rojo tanto en su interior como en su exterior (Reisen y Pfunter, 1987). Las cajas rojas fueron colocadas en el patio de las casas, en lugares protegidos del sol y húmedos, haciendo fácil que los mosquitos entren a descansar en ellas, se colocaron un total de 40 en toda la ciudad, los mosquitos que se localizaban en ellas se aspiraban con aspiradores eléctricos, entre las 8:00 y 10:00 horas cuatro veces por mes. Todos los mosquitos fueron llevados al laboratorio, se les contó, identificó a que especie correspondían, el sexo y se les determinó el estado de digestión sanguínea.

El otro método usado para conocer la abundancia mensual fue el de la mochila aspiradora tipo CDC (Clark *et al.*, 1994)., la cual al igual que las cajas rojas se realizó 4 veces al mes y estas colectas se hicieron sobre la vegetación y paredes de los patios de las casas, aproximadamente entre 10 y 15 minutos llevó esta actividad por sitio de colectas. Todos los mosquitos fueron llevados al laboratorio, se les contó, identificó a que especie correspondían, el sexo y se les determinó el estado de digestión sanguínea.

5.2.5. Búsqueda del VON en mosquitos *Cx. quinquefasciatus*

5.2.5.1. Colección de especímenes.

Los mosquitos fueron colectados del campo e identificados por especie y por sexo. Se hicieron grupos de 50 mosquitos colocados en un microtubo de 2 ml de rosca tipo Eppendorf y colocados en un ultra congelador a -70°C hasta la siguiente fase.

5.2.5.2. Extracción de ARN.

Cada grupo de mosquitos fueron homogenizados en 0.5 a 1ml de diluyente (Buffer-Fosfato-salino suplementado con suero fetal bovino al 20%, 100 µg de estreptomicina/ml, 100 U de penicilina/ml y 0.25 µg de amfotericina B/ml) usando un homogenizador mecánico de alta velocidad (Mixer Mill MM300; Qiagen, Inc., Valencia, Calif.) por 30 seg. por 24 ciclos/seg. Cada grupo homogenizado fue centrifugado a temperatura ambiente por 4 minutos a 5,796 x g y el supernadante fue

removido y guardado a -70°C para aislamiento viral. El remanente en forma de pellet fue lisado en 0.8 a 1 ml de guanidina isotiocianato-conteniendo buffer ARN para lisis (RLT de RNeasy mini kit; Qiagen) o 1x buffer lisis (Applied Biosystems, Foster City, Calif.) y homogenizado otra vez como se describió anteriormente. El ARN fue extraído del producto lisiado usando el kit de RNeasy. Para el método de RNeasy una alícuota de 350 µl del homogeneado de los mosquitos fue usado para la extracción de ARN, de acuerdo a las instrucciones del manual del producto.

5.2.5.3. RT-PCR estándar.

El ARN del VON fue detectado por la transcripción reversa del PCR (RT-PCR) (Qiagen) amplificación de la región 431-bp region (nucleotidos [nt] 212 al 643) conteniendo la unión entre los genes de la cápside y la premembrana. Los primers usados en este estudio fueron el primer forward 5'-TTGTGTTGGCTCTCT TGGCGTTCTT-3' (nt 212 al 236) y el primer reverso 5'-CAGCCGACAGCA CTGGACATTCATA-3' (nt 619 al 643) y estos resultados productos fueron evaluados por un gel de 1.5% de agarosa, como se recomienda en la metodología (Kauffman *et al.*, 2003). Las bandas obtenidas para cada muestras se comparaban con las del perso específico del VON, las muestras que presentaban concordancia de peso molecular, fueron enviadas a la Universidad Estatal de Colorado (laboratorio de Microbiología) para intentar hacer aislamiento viral y secuenciación por carecer de un laboratorio de nivel de bioseguridad III en donde se deben hacer estas pruebas

RESULTADOS

6.1. Colecta de mosquitos para determinar abundancia, estado trófico, paridad, estimación de la sobrevivencia y duración del ciclo gonotrófico mediante series de tiempo y medición de la vitelogenesis de *Cx. quinquefasciatus* en épocas de lluvia y de secas.

6.1.1. Abundancia, estado trófico y paridad.

Durante 25 días consecutivos comprendidos del 13 de octubre al 6 de noviembre de 2004 se colectaron *Cx. quinquefasciatus* en reposo en la ciudad de Mérida, Yucatán. En época de lluvia se capturaron un total de 3571 mosquitos, del cual el 64% y 36% correspondieron a machos y hembras respectivamente. Igual número de días de colecta se realizó en época de secas entre el 27 de junio al 22 de julio de 2005, correspondiendo a un total de 3335 mosquitos, del cual el 68% son machos y el 32% hembras (Tabla 1 y 3). En la primera parte del estudio se disectaron 1273 hembras y en la segunda parte 1066 para determinar el estado trófico y la estructura de edades.

En época de lluvia el 70.8% de la población fue gonotróficamente activa (hembras alimentadas o grávidas), se observó por lo tanto que el estado trófico fue predominantemente de hembras alimentadas (50.4%), seguida de las hembras no alimentadas (29.2%). En época de secas la población gonotróficamente activa fue menor (64.2%), con una proporción de hembras alimentadas y no alimentadas de 43.5 y 35.8 % respectivamente. En la época de lluvias se puede observar que las hembras de *Cx. quinquefasciatus* colectadas aumentan a partir del día 5 y mantienen esta tendencia hasta el final del muestreo, mientras que en la época de secas, las hembras colectadas es uniforme del día 1 al 25.

En la época de lluvias se obtuvo una media del índice de paridad de 0.69 mientras que en las secas el índice fue 0.38, este último como resultado de un mayor número de hembras nulíparas (Tablas 2 y 4).

La paridad de *Cx. quinquefasciatus* en época de lluvias mostró una proporción del 69.4% de hembras paridas y el 30.6 % de hembras nulíparas, encontrándose una relación inversa en época de secas en la proporción de paridas (38.3%) y nulíparas (61.7%).

Los datos climáticos se registraron en ambos periodos de estudio. En época de lluvia se registró un promedio de temperatura de 28 ± 1.57 °C, precipitación pluvial 22.7 °C de temperatura fue 29.21 ± 1.10 °C, precipitación registrada de 188.3 mm y humedad relativa de 93% máxima y 74% mínima (CONAGUA, 2004-2005).

Tabla 1. Abundancia y estado trófico de *Cx. quinquefasciatus* colectadas en época de lluvia en 2004.

| Hembras disectadas | | | | | |
|---------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------|--------------|---------------|
| Día | Alimentadas | No alimentadas | Grávidas | Total | Machos |
| 1 | 18 | 13 | 7 | 38 | 106 |
| 2 | 22 | 4 | 9 | 35 | 98 |
| 3 | 9 | 17 | 9 | 35 | 70 |
| 4 | 8 | 9 | 3 | 20 | 69 |
| 5 | 21 | 18 | 9 | 48 | 95 |
| 6 | 8 | 15 | 8 | 31 | 74 |
| 7 | 33 | 24 | 13 | 70 | 133 |
| 8 | 34 | 9 | 11 | 54 | 93 |
| 9 | 24 | 10 | 3 | 37 | 29 |
| 10 | 32 | 14 | 7 | 53 | 76 |
| 11 | 25 | 21 | 9 | 55 | 105 |
| 12 | 24 | 14 | 10 | 48 | 74 |
| 13 | 31 | 10 | 14 | 55 | 89 |
| 14 | 19 | 7 | 12 | 38 | 83 |
| 15 | 21 | 11 | 15 | 47 | 89 |
| 16 | 21 | 9 | 12 | 42 | 92 |
| 17 | 28 | 20 | 12 | 60 | 94 |
| 18 | 22 | 17 | 14 | 53 | 99 |
| 19 | 18 | 23 | 14 | 55 | 115 |
| 20 | 49 | 14 | 16 | 79 | 107 |
| 21 | 39 | 18 | 17 | 74 | 100 |
| 22 | 31 | 10 | 14 | 55 | 100 |
| 23 | 29 | 13 | 9 | 51 | 99 |
| 24 | 38 | 25 | 8 | 71 | 134 |
| 25 | 37 | 27 | 5 | 69 | 75 |
| Total | 641 | 372 | 260 | 1273 | 2298 |

Tabla 2. Datos de disección de *Cx. quinquefasciatus* colectadas de cajas rojas en época de lluvia.

| Día | Nulíparas | Paridas | Total disectadas | Índice de paridad |
|--------------|------------------|----------------|-------------------------|--------------------------|
| 1 | 19 | 19 | 38 | 0.50 |
| 2 | 11 | 24 | 35 | 0.68 |
| 3 | 10 | 25 | 35 | 0.71 |
| 4 | 10 | 10 | 20 | 0.5 |
| 5 | 28 | 20 | 48 | 0.41 |
| 6 | 23 | 8 | 31 | 0.25 |
| 7 | 34 | 36 | 70 | 0.51 |
| 8 | 19 | 35 | 54 | 0.64 |
| 9 | 9 | 28 | 37 | 0.75 |
| 10 | 13 | 40 | 53 | 0.75 |
| 11 | 19 | 36 | 55 | 0.65 |
| 12 | 19 | 29 | 48 | 0.60 |
| 13 | 12 | 43 | 55 | 0.78 |
| 14 | 16 | 22 | 38 | 0.57 |
| 15 | 19 | 28 | 47 | 0.59 |
| 16 | 15 | 27 | 42 | 0.64 |
| 17 | 12 | 48 | 60 | 0.80 |
| 18 | 10 | 43 | 53 | 0.81 |
| 19 | 14 | 41 | 55 | 0.74 |
| 20 | 28 | 51 | 79 | 0.64 |
| 21 | 11 | 63 | 74 | 0.85 |
| 22 | 13 | 42 | 55 | 0.76 |
| 23 | 10 | 41 | 51 | 0.80 |
| 24 | 7 | 64 | 71 | 0.90 |
| 25 | 9 | 60 | 69 | 0.86 |
| Total | 390 | 883 | 1273 | 0.69 |

Tabla 3. Abundancia y estado trófico de *Cx. quinquefasciatus* colectadas en época de seca de 2005.

| Día | Hembras disectadas | | | Total | Machos |
|--------------|--------------------|----------------|------------|-------------|-------------|
| | Alimentadas | No alimentadas | Grávidas | | |
| 1 | 24 | 13 | 2 | 39 | 74 |
| 2 | 23 | 17 | 10 | 50 | 118 |
| 3 | 17 | 7 | 5 | 29 | 119 |
| 4 | 22 | 14 | 7 | 43 | 123 |
| 5 | 22 | 14 | 7 | 43 | 59 |
| 6 | 16 | 15 | 9 | 40 | 81 |
| 7 | 11 | 12 | 7 | 30 | 52 |
| 8 | 19 | 10 | 5 | 34 | 107 |
| 9 | 5 | 9 | 6 | 20 | 30 |
| 10 | 18 | 15 | 12 | 45 | 95 |
| 11 | 18 | 25 | 7 | 50 | 111 |
| 12 | 16 | 16 | 13 | 45 | 60 |
| 13 | 20 | 7 | 10 | 37 | 71 |
| 14 | 16 | 15 | 8 | 39 | 84 |
| 15 | 28 | 12 | 13 | 53 | 85 |
| 16 | 21 | 13 | 7 | 41 | 84 |
| 17 | 10 | 11 | 15 | 36 | 53 |
| 18 | 17 | 11 | 7 | 35 | 119 |
| 19 | 23 | 24 | 14 | 61 | 156 |
| 20 | 17 | 17 | 12 | 46 | 76 |
| 21 | 27 | 19 | 7 | 53 | 94 |
| 22 | 12 | 17 | 7 | 36 | 58 |
| 23 | 19 | 18 | 10 | 47 | 103 |
| 24 | 26 | 32 | 10 | 68 | 147 |
| 25 | 17 | 18 | 11 | 46 | 110 |
| Total | 464 | 381 | 221 | 1066 | 2269 |

Tabla 4. Datos de disección de *Cx. quinquefasciatus* colectadas de cajas rojas en época de seca.

| Día | Nulíparas | Paridas | Total disectadas | Índice de paridad |
|--------------|------------------|----------------|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 26 | 13 | 39 | 0.33 |
| 2 | 33 | 17 | 50 | 0.34 |
| 3 | 20 | 9 | 29 | 0.31 |
| 4 | 30 | 13 | 43 | 0.30 |
| 5 | 31 | 12 | 43 | 0.27 |
| 6 | 28 | 12 | 40 | 0.30 |
| 7 | 20 | 10 | 30 | 0.33 |
| 8 | 23 | 11 | 34 | 0.32 |
| 9 | 13 | 7 | 20 | 0.35 |
| 10 | 30 | 15 | 45 | 0.33 |
| 11 | 37 | 13 | 50 | 0.26 |
| 12 | 29 | 16 | 45 | 0.35 |
| 13 | 22 | 15 | 37 | 0.40 |
| 14 | 28 | 11 | 39 | 0.28 |
| 15 | 41 | 12 | 53 | 0.22 |
| 16 | 33 | 8 | 41 | 0.19 |
| 17 | 26 | 10 | 36 | 0.27 |
| 18 | 26 | 9 | 35 | 0.25 |
| 19 | 30 | 31 | 61 | 0.50 |
| 20 | 20 | 26 | 46 | 0.56 |
| 21 | 41 | 12 | 53 | 0.22 |
| 22 | 10 | 26 | 36 | 0.72 |
| 23 | 17 | 30 | 47 | 0.63 |
| 24 | 29 | 39 | 68 | 0.57 |
| 25 | 15 | 31 | 46 | 0.67 |
| Total | 658 | 408 | 1066 | 0.38 |

Tabla 5. Estado de sella de *Cx. quinquefasciatus* colectadas en la ciudad de Mérida, Yucatán, en dos épocas diferentes.

| No. hembras disectadas | | |
|-------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Estado de sella | Época de lluvias | Época de secas |
| Alimentación reciente | 370 | 166 |
| Alimentación tardía | 40 | 97 |
| Medio grávida | 168 | 94 |
| Sub grávida | 63 | 107 |
| Grávida | 260 | 221 |
| Vacía | 372 | 381 |
| Total | 1273 | 1066 |

Los grados de digestión de la sangre o estado de sella en la época de lluvias muestra una proporción similar en cuanto a hembras recién alimentadas (370) y vacías (372), mientras que en la época de secas, el numero de hembras vacías (381) fue superior a las recién alimentadas (166). Este comportamiento influyó en el incremento de las hembras nulíparas (Tabla 5).

6.1.2. Estimación de la sobrevivencia y duración del ciclo gonotrófico mediante series de tiempo.

Los datos no se ajustaron al criterio de Birley y Rajagopalan (1981) y Mutero y Birley (1987) debido a que ninguna correlación fue significativa, por lo que se decidió por el criterio de Bockarie *et al.*, (1995) que dice que si las correlaciones más altas se repiten en el mismo periodo de tiempo, este indica el numero de días del ciclo, en este caso fueron 4 días en ambos periodos. Los mosquitos alimentados con sangre llegan a ser completamente grávidas después de 4 días, indicando que el ciclo gonotrófico ocupa un mínimo de cuatro días (Tabla 6).

Tabla 6. Datos filtrados de *Cx. quinquefasciatus* en dos épocas diferentes.

| Día | Época de lluvias | Época de secas |
|----------|------------------|----------------|
| 0 | 0.889 | 0.583 |
| 1 | 0.034 | 0.037 |
| 2 | 0.141 | 0.115 |
| 3 | 0.155 | 0.237 |
| 4 | 0.175* | 0.325* |
| 5 | 0.06 | 0.162 |
| 6 | 0.184 | 0.185 |
| 7 | 0.123 | 0.174 |
| 8 | 0.257* | 0.426* |
| 9 | 0.216 | 0.317 |

* Correlaciones más altas

De acuerdo con Birley y Rajagopalan (1981) las altas correlaciones del día cero no se toman como indicador en la duración del ciclo gonotrófico porque representan la correlación entre pares de datos del total de paridas y total de hembras capturadas en el mismo día. La gran significancia del coeficiente de correlación cruzada (r) obtenida después del día cero ($U=0$) es la mejor estimación del número de días para el ciclo gonotrófico.

Con una media del índice de paridad de 0.69 y duración de 4 días, el ciclo gonotrófico se obtuvo la sobrevivencia de la población en la época de lluvias, mostrando un gran nivel de significancia (0.91) con una temperatura promedio de 28 ± 1.57 respecto a la sobrevivencia obtenida en la época de secas (0.78) con una media de temperatura de 29.21 ± 1.10 con una media del índice de paridad de 0.38 con la misma duración del ciclo gonotrófico (Figura 24).

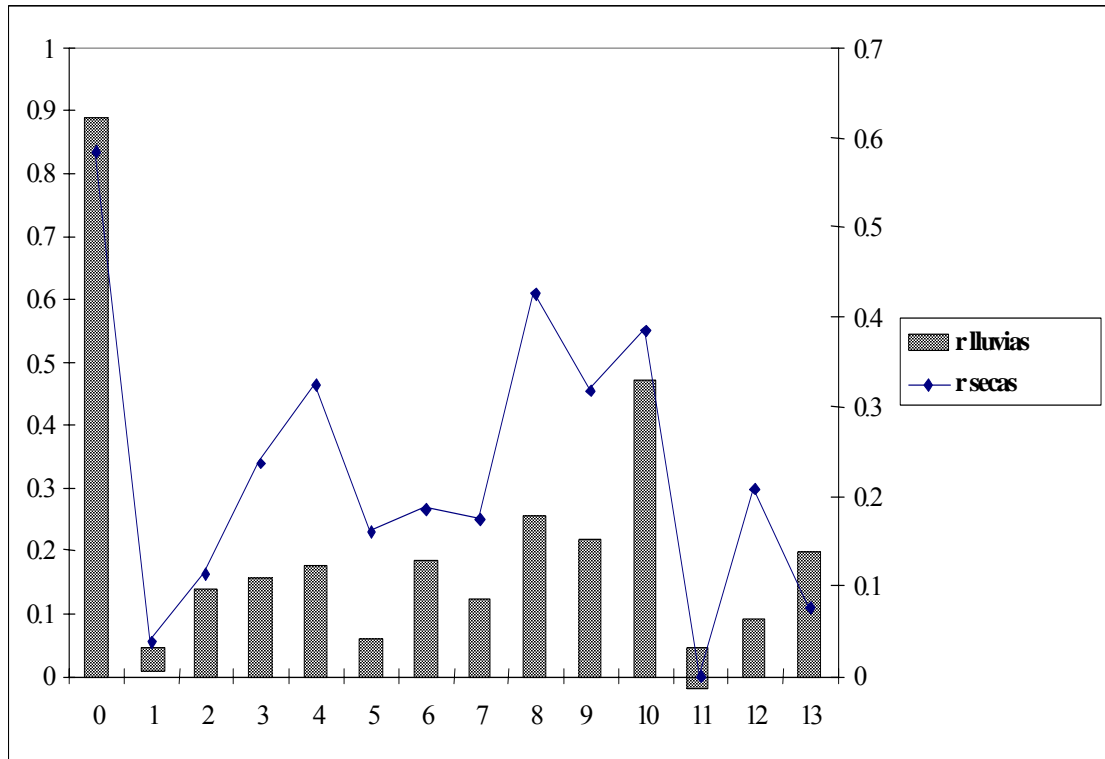


Figura 24. Ciclo gonotrófico de *Cx. quinquefasciatus* colectado en la ciudad de Mérida, Yucatán en dos temporadas.

En este estudio para estimar sobrevivencia y la duración del ciclo gonotrófico se utilizó el análisis de series de tiempo de Birley y Rajagopalan (1981) porque este método permite muestrear de manera uniforme individuos recién alimentados con sangre a intervalos diarios y separados dentro de grupos de paridas y nulíparas, la mayoría de los individuos toman una sola alimentación sanguínea por ciclo gonotrófico y completan este ciclo con el mismo número de días. Además todos los individuos repiten el ciclo con la misma probabilidad de sobrevivencia o dispersión a lo largo de su vida.

6.1.3. Medición de la vitelogénesis

Todas las hembras colectadas en ambas estaciones se hallaron en estado de Christopher II y completaron el desarrollo oogénico en un mínimo de 72 horas (3 días) después de alimentarlos para alcanzar el estado de Christopher V. La longitud del ciclo gonotrófico fue calculando adicionando 24 horas, el cuál es el tiempo considerado que requiere un mosquito hembra para localizar un sitio de oviposición, oviponer y localizar

un nuevo huésped (Mekuria *et al.*, 1991). Como en este trabajo se aplicó este criterio a los datos, la estimación de la duración del ciclo gonotrófico fue de 4 días.

Los porcentajes de hembras que no desarrollaron más allá de la fase de Christopher II fue 23% (14/60) en mosquitos colectados en la estación de lluvias, en tanto que en la estación de secas fue del 25% (15/60) manteniéndose algunos pregrávidos (Tabla 7).

Tabla 7. Vitelogénesis de una población en época de lluvias y una de época de secas de *Cx. quinquefasciatus* colectadas en la ciudad de Mérida, Yucatán.

| Estación de lluvias (Estados de Christopher) | | | | | | | Estación de Secas (Estados de Christopher) | | | | | |
|--|------------------|---|-----|-----|----|-----|--|---|-----|-----|----|-----|
| Horas después de alimentarse | No. disectado | I | II | III | IV | V | No. disectado | I | II | III | IV | V |
| 0 | 10 | | 100 | | | | 10 | | 100 | | | |
| 12 | 10 | | 100 | | | | 10 | | 100 | | | |
| 18 | 10 | | 100 | | | | 10 | | 100 | | | |
| 24 | 10 | | 90* | 10 | | | 10 | | 90* | 10 | | |
| 30 | 10 | | 30* | 70 | | | 10 | | 40* | 60 | | |
| 36 | 10 | | 10* | 90 | | | 10 | | 20* | 80 | | |
| 42 | 10 | | | 100 | | | 10 | | | 100 | | |
| 48 | 10 | | | 30 | 20 | 50 | 10 | | | 40 | 20 | 40 |
| 54 | 10 | | | | 40 | 60 | 10 | | | | 30 | 70 |
| 60 | 10 | | | | 40 | 60 | 10 | | | | 30 | 70 |
| 66 | 10 | | | | 10 | 90 | 10 | | | | 10 | 90 |
| 72 | 10 | | | | | 100 | 10 | | | | | 100 |
| 78 | 10 | | | | | 100 | 10 | | | | | 100 |

*Estado de pregravidéz

6.2. Colecta de mosquitos para determinar el patrón de selección de huéspedes de *Cx. quinquefasciatus*, así como el índice de sangre humana, rango de forrajeo e índice de alimentación por huésped.

6.2.1. Colecta de mosquitos en las cajas rojas.

Un total de 4 644 mosquitos *Cx. quinquefasciatus* fueron capturadas en las cajas rojas en este estudio (Tabla 8). De estos, 1 600 fueron hembras y 3 044 machos. Un total de 658 hembras fueron clasificadas como alimentadas, 233 como grávidas y 709 no contenían sangre. El mosquito *Cx. quinquefasciatus* estuvo presente todo el año, aunque fue más abundante en agosto (17.4% del total de las colectas fue hecha en es mes) y noviembre (15.7%).

6.2.2. Preferencias de alimentación.

Doscientos cuarenta hembras alimentadas (20 por mes) fueron usadas para la identificación de las alimentaciones sanguíneas de *Cx. quinquefasciatus*. Del total 197 (82.1%) mosquitos contenían sangre derivada de aves y 43 (17.9%) contenían sangre derivada de mamíferos durante todo el año (Tabla 9). No hubo mosquitos que tuvieran alimentaciones mixtas o de ambos grupos. La proporción de mosquitos que contenían derivados de sangre de aves estuvo en el rango del 60% (mayo) a 100% (diciembre).

Los mosquitos *Cx. quinquefasciatus* se alimentaron con mayor frecuencia de galliformes (47.1%), passeriformes (23.8%) y columbiformes (11.2%) (Tabla 11). Esto demuestra que las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* en Mérida tienen una marcada preferencia ornitofílica. La proporción de mosquitos que adquirió sangre de los galliformes cada mes estuvo en un rango del 20% (septiembre) al 85% (marzo) (Tabla 11). La proporción de mosquitos que adquirió sangre de los passeriformes también mostró una variación estacional considerable, ya que se le encontró más en los mosquitos de la segunda mitad del año. De enero a julio, la proporción de mosquitos que se alimentaron de passeriformes por mes estuvo en el rango del 10% al 25% (valor promedio: 13.6%). De agosto a diciembre, para los passeriformes fue del 30% al 45% (valor promedio: 38.0%). En agosto es el comienzo de la estación de migración de muchas especies de passeriformes que migran de los EUA a la Península de Yucatán, de

aquí que el incremento del número de mosquitos que se alimentan de este orden como consecuencia de su mayor abundancia.

Los huéspedes mamíferos más frecuentes en la alimentación de *Cx. quinquefasciatus* fueron los perros (8.8%) y los humanos (6.7%) (Tabla 12). Los gatos, caballos y cerdos no fueron una fuente común encontrada en los mosquitos y ningún mosquito durante el año se alimentó de las vacas. La proporción de mosquitos que se alimentaron de perros fue más alta en septiembre (25%) y noviembre (20%) (Tabla 12). En el mes de diciembre ninguno de los mosquitos que se colectaron presentó sangre de mamíferos.

6.2.3. Índice de sangre humana (ISH) y valores de rango de forrajeo (RF).

El total del ISH fue de 6.7% (Tabla 13). En cinco ocasiones, el valor del ISH mensual estuvo el valor del 10%. El más alto valor se presentó en el mes de mayo (15%) y en tres meses fue de 0% (febrero, marzo y diciembre) (Tabla 12). El número de humanos y de animales domésticos (mamíferos y aves), que residían en las casas que se seleccionaron para colocar las cajas rojas fueron contados en su totalidad. De estos, 88 (41%) de los vertebrados fueron humanos, 45 (21%) fueron galliformes (gallinas y pavos), 32 (15%) fueron perros, 14 (7%) fueron gatos, 5 (3%) fueron passeriformes y 4 (2%) fueron caballos. No se encontraron cerdos, vacas, ni columbiformes. Los humanos fueron los vertebrados más abundante en las zonas de muestreo. Sin embargo el RF para humanos fue <1.0 lo que indica que *Cx. quinquefasciatus* tiene una preferencia marcada a otros huéspedes vertebrados (Tabla 13). Los rangos de forrajeo fueron calculados para otros huéspedes vertebrados y de estos los rangos que fueron >1.0 se dieron en los passeriformes (9.1) y galliformes (2.0) indicando una preferencia por estas aves.

6.2.4. Índice de alimentación por huésped (IAH).

Se calcularon los IAH para cada par de huéspedes vertebrados revelando que los humanos fueron la última fuente relativa de alimentación sanguínea cuando se compara con los passeriformes, galliformes, perros, caballos y gatos (Tabla 14). Los valores para IAH no pudieron ser calculados para los columbiformes, cerdos o vacas debido a su ausencia en los sitios de colecta. En congruencia los valores más altos de IAH se

presentaron en los passeriformes, seguidos por los galliformes, de aquí que estos dos ordenes sean considerados las fuentes de alimentación sanguínea preferida por *Cx. quinquefasciatus*.

Tabla 8. Numero de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* capturados en las cajas rojas durante cada mes en Mérida, Yucatan durante todo el año de 2005.

| Mes | Número de mosquitos capturados | | | | |
|--------------|--------------------------------|----------------|------------|-------------|-------------------|
| | Hembras | | | Machos | TOTAL (%) |
| | Alimentadas | No alimentadas | Grávidas | | |
| Enero | 44 | 54 | 0 | 103 | 201 (4.3) |
| Febrero | 48 | 71 | 17 | 252 | 388 (8.4) |
| Marzo | 39 | 103 | 18 | 246 | 406 (8.7) |
| Abril | 49 | 88 | 10 | 254 | 401 (8.6) |
| Mayo | 30 | 20 | 4 | 102 | 156 (3.4) |
| Junio | 43 | 17 | 18 | 203 | 281 (6.0) |
| Julio | 37 | 51 | 20 | 361 | 469 (10.1) |
| Agosto | 125 | 94 | 48 | 542 | 809 (17.4) |
| Septiembre | 47 | 36 | 16 | 141 | 240 (5.2) |
| Octubre | 53 | 37 | 21 | 216 | 327 (7.0) |
| Noviembre | 127 | 89 | 49 | 466 | 731 (15.7) |
| Diciembre | 34 | 49 | 12 | 158 | 253 (5.4) |
| TOTAL | 658 | 709 | 233 | 3044 | 4644 (100) |

Tabla 9. Fuente de alimentación sanguínea de *Cx. quinquefasciatus* capturados en las cajas rojas por mes durante 2005 en Mérida, Yucatán. El ADN fue extraído de mosquitos alimentados y analizados por PCR usando primers específicos universales de aves y mamíferos.

| Mes | Número y porcentaje de alimentaciones sanguíneas de aves y mamíferos | | |
|--------------|--|-----------|------------|
| | Aves | Mamíferos | Total |
| Enero | 17 (85) | 3 (15) | 20 (100) |
| Febrero | 18 (90) | 2 (10) | 20 (100) |
| Marzo | 19 (95) | 1 (5) | 20 (100) |
| Abril | 18 (90) | 2 (10) | 20 (100) |
| Mayo | 12 (60) | 8 (40) | 20 (100) |
| Junio | 18 (90) | 2 (10) | 20 (100) |
| Julio | 18 (90) | 2 (10) | 20 (100) |
| Agosto | 14 (70) | 6 (30) | 20 (100) |
| Septiembre | 14 (70) | 6 (30) | 20 (100) |
| Octubre | 15 (75) | 5 (25) | 20 (100) |
| Noviembre | 14 (70) | 6 (30) | 20 (100) |
| Diciembre | 20 (100) | 0 (0) | 20 (100) |
| TOTAL | 197 | 43 | 240 |

Tabla 10. Proporción de alimentaciones sanguíneas de *Cx. quinquefasciatus* de diferentes ordenes de aves y especies de mamíferos en Mérida, Yucatán de Enero a Diciembre, 2005.

| Huésped | Fuente sanguínea | |
|---------------|------------------|------------|
| | Número | Porcentaje |
| Galliformes | 113 | 47.1 |
| Passeriformes | 57 | 23.8 |
| Columbiformes | 27 | 11.2 |
| Perro | 21 | 8.8 |
| Humano | 16 | 6.7 |
| Gato | 3 | 1.2 |
| Caballo | 2 | 0.8 |
| Cerdo | 1 | 0.4 |
| Vaca | 0 | 0 |
| TOTAL | 240 | 100 |

Tabla 11. Fuente de alimentación sanguínea de aves en mosquitos *Cx. quinquefasciatus* colectados en Mérida. El ADN fue extraído de mosquitos alimentados y analizados por PCR usando primers específicos que diferenciaban entre los órdenes passeriformes, columbiformes y galliformes.

| Mes | Número y porcentaje de alimentaciones sanguíneas en aves | | | | Total en conjunto |
|--------------|--|---------------|---------------|------------|-------------------|
| | Galliformes | Passeriformes | Columbiformes | Total | |
| Enero | 10 (50) | 4 (20) | 3 (15) | 17 (85) | 20 (100) |
| Febrero | 13 (65) | 2 (10) | 2 (10) | 18 (90) | 20 (100) |
| Marzo | 17 (85) | 2 (10) | 1 (5) | 19 (95) | 20 (100) |
| Abril | 15 (75) | 2 (10) | 1 (5) | 18 (90) | 20 (100) |
| Mayo | 8 (40) | 2 (10) | 2 (10) | 12 (60) | 20 (100) |
| Junio | 5 (25) | 5 (25) | 8 (40) | 18 (90) | 20 (100) |
| Julio | 8 (40) | 2 (10) | 8 (40) | 18 (90) | 20 (100) |
| Agosto | 6 (30) | 8 (40) | 0 (0) | 14 (70) | 20 (100) |
| Septiembre | 4 (20) | 9 (45) | 1 (5) | 14 (70) | 20 (100) |
| Octubre | 8 (40) | 7 (35) | 0 (0) | 15 (75) | 20 (100) |
| Noviembre | 8 (40) | 6 (30) | 0 (0) | 14 (70) | 20 (100) |
| Diciembre | 11 (55) | 8 (40) | 1 (5) | 20 (100) | 20 (100) |
| TOTAL | 113 | 57 | 27 | 197 | 240 |

Tabla 12. Fuente de alimentación sanguínea de mamíferos en mosquitos *Cx. quinquefasciatus* colectados en Mérida. El ADN fue extraído de mosquitos alimentados y analizados por PCR usando enzimas de digestión que identificaban al huésped a nivel de especie.

| Mes | Número y porcentaje de alimentaciones sanguíneas de mamíferos | | | | | | | Total en conjunto |
|--------------|---|-----------|----------|----------|----------|----------|--------------------|-------------------|
| | Perro | Humano | Gato | Caballo | Cerdo | Vaca | Total de Mamíferos | |
| Enero | 1 (5) | 2 (10) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 3 (15) | 20 (100) |
| Febrero | 1 (5) | 0 (0) | 1 (5) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 2 (10) | 20 (100) |
| Marzo | 1 (5) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 1 (5) | 20 (100) |
| Abril | 0 (0) | 1 (5) | 0 (0) | 0 (0) | 1 (5) | 0 (0) | 2 (10) | 20 (100) |
| Mayo | 3 (15) | 3 (15) | 2 (10) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 8 (40) | 20 (100) |
| Junio | 0 (0) | 2 (10) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 2 (10) | 20 (100) |
| Julio | 0 (0) | 2 (10) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 2 (10) | 20 (100) |
| Agosto | 3 (15) | 2 (10) | 0 (0) | 1 (5) | 0 (0) | 0 (0) | 6 (30) | 20 (100) |
| Septiembre | 5 (25) | 1 (5) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 6 (30) | 20 (100) |
| Octubre | 3 (15) | 1 (5) | 0 (0) | 1 (5) | 0 (0) | 0 (0) | 5 (25) | 20 (100) |
| Noviembre | 4 (20) | 2 (10) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 6 (30) | 20 (100) |
| Diciembre | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | 20 (100) |
| TOTAL | 21 | 16 | 3 | 2 | 1 | 0 | 43 | 240 |

Tabla 13. Rangos de forrajeo para mosquitos *Cx. quinquefasciatus* en Mérida, Yucatán.

| Huésped | % Población del huésped | % Alimentación sanguínea | Rango de forrajeo |
|---------------|-------------------------|--------------------------|-------------------|
| Humano | 47 | 6.7 | 0.1 |
| Perro | 17 | 8.7 | 0.5 |
| Gato | 7.4 | 1.3 | 0.2 |
| Cerdo | 0 | 0.4 | - |
| Vaca | 0 | 0.0 | 0.0 |
| Caballo | 2.1 | 0.8 | 0.4 |
| Galliformes | 23.9 | 47.1 | 2.0 |
| Passeriformes | 2.6 | 23.7 | 9.1 |
| Columbiformes | 0 | 11.3 | - |

Tabla 14. Índice de alimentación específica de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* de Mérida, Yucatán para cada par de alimentaciones por huésped vertebrado.

| Huésped 1 | Huésped 2 | ^a HFI |
|---------------|---------------|------------------|
| Humano | Passeriformes | 0.0 |
| | Galliformes | 0.1 |
| | Pero | 0.3 |
| | Gato | 0.8 |
| | Caballo | 0.4 |
| Passeriformes | Galliformes | 4.5 |
| | Perro | 17.4 |
| | Gato | 53.2 |
| | Caballo | 22.8 |
| Galliformes | Perro | 3.8 |
| | Gato | 11.7 |
| | Caballo | 5.0 |
| Perro | Gato | 3.1 |
| | Caballo | 1.3 |
| Gato | Caballo | 0.4 |

^aHFI para los vertebrados no presentes en los sitios de estudio no fueron calculados

6.3. Determinación de la distribución temporal y estructura de edades, tasa de inseminación y estado trófico, usando tres métodos de captura.

6.3.1. Distribución temporal de los mosquitos capturados durante una año de colecta.

Un total de 34,057 mosquitos adultos pertenecientes a 5 especies fueron colectados del mes de Enero al mes de Diciembre de 2005 (Tabla 15), de estos un total de 30 221 (88.7%) fueron identificados como *Cx. quinquefasciatus*, 2 083 (6.1%) fueron *Ae. aegypti*, 1 746 (5.1%) fueron *Oc. taeniorhynchus*, 4 individuos fueron identificados como *Cx. coronator* y 3 fueron *An. albimanus*. La especie *Cx. quinquefasciatus* fue la más abundante en cada mes. La máxima abundancia relativa fue de (99.3%) y ocurrió en Febrero. La abundancia mínima fue de (51.3%) en Julio y en sentido contrario se incremento el número de *Ae. aegypti* y *Oc. taeniorhynchus*. Novecientos treinta y dos individuos (53.3%) de la especie *Oc. taeniorhynchus* y 297 (14.4%) de *Ae. aegypti* fueron colectados en ese mes. La abundancia relativa para *Ae. aegypti* estuvo en el rango de 0.4% a 11.8% (Febrero y Julio, respectivamente). La abundancia relativa para *Oc.*

taeniorhynchus estuvo en el rango de 0% a 36.9% (Marzo/Diciembre y julio, respectivamente).

El aumento de las poblaciones de mosquitos, usualmente siguió después de los periodos de lluvias fuertes. Un total de mosquitos: 9 852 (32.6%) *Cx. quinquefasciatus*, 916 (44.0%) *Ae. aegypti* y 1 599 (91.6%) *Oc. taeniorhynchus* fueron colectados de junio-agosto en donde un poco más de la mitad de la precipitación anual ocurrió en ese periodo (572.6 mm, 52.3%) (Figura 25, Tabla 15). Un segundo pico poblacional de *Cx. quinquefasciatus* ocurrió en febrero donde se colectaron 3 798 mosquitos (12.5%). Sin embargo la lluvia fu solamente 0.9 mm y en enero no hubo lluvias, el incremento de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* se pudo deber a una relativa baja temperatura y subsiguiente baja evaporación que ocurre durante los primeros meses del año.

6.3.2. Distribución temporal de *Cx. quinquefasciatus* mediante diferentes métodos de captura.

Un total de 19 147 (56.3%) mosquitos de todas las especies fueron colectados usando las trampas mosquito magnets, de estos 10 099 (29.6%) fueron colectados usando la aspiradora de mochila, mientras que 4 811 (14.1%) fueron colectados usando las cajas rojas (Tabla 16). Las maquinas mosquito magnets proveen un eficiente método de captura para *Cx. quinquefasciatus*. De los 30 221 *Cx. quinquefasciatus* colectados: 16 266 individuos que representan el 53.8%, fueron capturados mediante el uso de las maquinas mosquito magnets, mientras que 9 310 (30.8%) y 4 645 (15.4%) fueron colectados usando la aspiradora de mochila y las cajas rojas respectivamente. Las maquinas mosquito magnets también resultaron más eficientes para colectar hembras de *Cx. quinquefasciatus*. Un total de 16 578 hembras de *Cx. quinquefasciatus* fueron colectadas y de estos individuos colectados un total de 11 722 (70.7%) fueron capturadas usando las maquinas mosquito magnets, mientras un total de 3 256 (19.6%) y 1 600 (9.7%) fueron colectadas usando la aspiradora de mochila y las cajas rojas respectivamente, la tasa de inseminación de todas las hembras durante todo el año fue del 98%, no habiendo variación entre métodos ni entre meses. Las hembras de *Cx. quinquefasciatus* fueron capturadas en las maquinas mosquito magnets con mayor frecuencia que los machos, la proporción de hembras a machos fue de 1:0.4. En contraste,

los machos fueron más frecuentes usando los otros dos métodos de colecta. La proporción de hembras a machos colectados usando cajas rojas y aspiradora de mochila fue de 1:1.9 y 1:1.8 respectivamente.

6.3.3. Estados tróficos de los mosquitos colectados con diferentes métodos de colecta.

De los 11 722 mosquitos hembras de *Cx. quinquefasciatus* colectadas con las maquinas mosquito magnet, un total de 10 703 (91.3%) fueron no alimentadas (clasificadas como estado de Sella I), 694 (5.9%), fueron total o parcialmente alimentadas (estados de Sella II al V) y 325 (2.8%) fueron grávidas (estados de Sella VI-VII) (Tabla 17). Se colectaron un total de 3 266 hembras de *Cx. quinquefasciatus* usando la mochila aspiradora, de estos individuos un total de 1 651 (50.7%) fueron no alimentadas, total o parcialmente alimentadas fueron 1 037 (31.8%) mientras que 578 (17.8%) resultaron grávidas (Tabla 18). Usando las cajas rojas se colectaron 1 600 hembras de *Cx. quinquefasciatus* y de estas un total de 709 (44.3%) fueron no alimentadas, 658 (41.1%) fueron total o parcialmente alimentadas y solo 233 (14.6%) eran grávidas (Tabla 19). Sin embargo el mayor número de mosquito hembras de *Cx. quinquefasciatus* recién alimentadas fueron colectadas usando la mochila aspiradora y en proporción la mayoría fueron capturadas usando las cajas rojas.

Se observaron variaciones estacionales en el estado de alimentación de los mosquitos (Tablas 17-19). La proporción de mosquitos alimentados con sangre usando cajas rojas y la mochila aspiradora fue mayor en el mes de junio (55.1% y 51.3%, respectivamente). La proporción de mosquitos alimentados fue baja en los meses de marzo (24.4%) y enero (21.7%), respectivamente. En contraste con la maquina mosquito magnet el rango estuvo entre 2.1% en julio y 9.3% en abril.

6.3.4. Análisis de los datos.

Se realizó un análisis de frecuencias con el total de ejemplares colectados por especie en cada mes y método de colecta. Así también, para *Cx. quinquefasciatus*, el Estado de Sella por mes para cada método de colecta y para el mes y hora de la captura. Se compararon los tres métodos de captura mediante un análisis de varianza, los análisis

fueron efectuados con el paquete estadístico SPSS 15. Se encontró diferencia altamente significativa entre los tres métodos de captura ($F = 7.120, p < 0.01$).

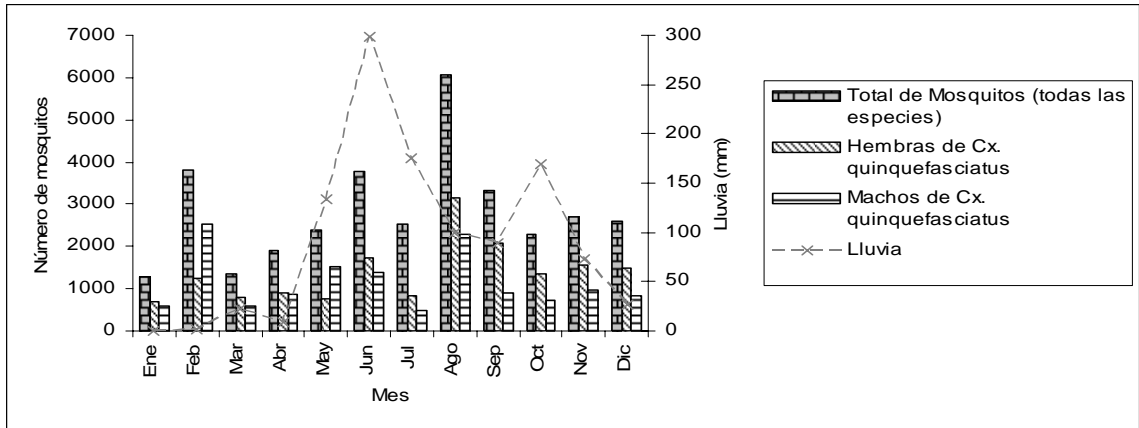


Figura 25. Variación estacional en la composición de especies de mosquitos y su abundancia en Mérida, Yucatán de enero a diciembre de 2005.

Tabla 15. Variación estacional en la composición de especies de mosquitos y su abundancia en Mérida, Yucatán de Enero a Diciembre de 2005

| Mes | Temperatura promedio mensual (°C) | Especies | | | | | | | ^b Abundancia relativa de <i>Cx. quinquefasciatus</i> |
|--------------|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|---------------|-------------|---|
| | | <i>Cx. quinquefasciatus</i> | <i>Ae. aegypti</i> | <i>Oc. taeniorhynchus</i> | <i>Cx. coronator</i> | <i>An. albimanus</i> | TOTAL | | |
| Enero | 23.7 | 1,280 (4.2%) | 13 0(.6%) | 3 (0.2%) | - ^a | - | 1,296 | 98.8 | |
| Febrero | 24.8 | 3,789 (12.5%) | 17 (0.8%) | 10 (0.6%) | - | - | 3,816 | 99.3 | |
| Marzo | 26.7 | 1,355 (4.5%) | 13 (0.6%) | - (0.0%) | - | - | 1,368 | 99.0 | |
| Abril | 27.2 | 1,782 (6.0%) | 132 (6.3%) | 4 (0.2%) | - | - | 1,918 | 92.9 | |
| Mayo | 28.7 | 2,308 (7.6%) | 46 (2.2%) | 27 (1.5%) | - | - | 2,381 | 96.9 | |
| Junio | 28.2 | 3,124 (10.3%) | 258 (12.4%) | 390 (22.3%) | - | - | 3,772 | 82.8 | |
| Julio | 28.1 | 1,294 (4.3%) | 297 (14.3%) | 932 (53.4%) | - | - | 2,523 | 51.3 | |
| Agosto | 28.1 | 5,434 (18.0%) | 361 (17.3%) | 277 (15.9%) | - | 1 | 6,073 | 89.5 | |
| Septiembre | 28.0 | 2,959 (9.8%) | 270 (13.0%) | 93 (5.3%) | 3 | 2 | 3,327 | 88.9 | |
| Octubre | 26.0 | 2,076 (6.9%) | 203 (9.7%) | 7 (0.4%) | 1 | - | 2,287 | 90.8 | |
| Noviembre | 24.4 | 2,520 (8.3%) | 183 (8.8%) | 3 (0.2%) | - | - | 2,706 | 93.1 | |
| Diciembre | 24.7 | 2,300 (7.6%) | 290 (13.9%) | - (0.0%) | - | - | 2,590 | 88.8 | |
| TOTAL | - | 30,221 (100%) | 2,083 (100%) | 1,746 (100%) | 4 | 3 | 34,057 | 88.7 | |

^a0, ^bporcentaje

Tabla 16. Eficacia de tres métodos de trapeo para colecta de mosquitos de enero a diciembre de 2005.

| Método de trapeo | Sexo | Especies | | | | | | | | TOTAL | |
|-----------------------|---------|-----------------------------|-------------|--------------------|-------------|---------------------------|-------------|----------------------|----------------------|---------------|-------------|
| | | <i>Cx. quinquefasciatus</i> | | <i>Ae. aegypti</i> | | <i>Oc. taeniorhynchus</i> | | <i>Cx. coronator</i> | <i>An. albimanus</i> | | |
| Mosquito magnet | Hembras | 11,722 | 38.8% | 605 | 29.0% | 1,547 | 88.6% | 2 | 3 | 13,879 | 40.8% |
| | Machos | 4,544 | 15.0% | 724 | 34.8% | - | - | - | - | 5,268 | 15.5% |
| | (Total) | (16,266) | (53.8%) | (1,329) | (63.8%) | (1,547) | (88.6%) | (2) | (3) | (19,147) | (56.3%) |
| Aspiradora de mochila | Hembras | 3,256 | 10.8% | 204 | 9.8% | 193 | 11.1% | 2 | - | 3,655 | 10.7% |
| | Machos | 6,054 | 20.0% | 390 | 18.7% | - | - | - | - | 6,444 | 18.9% |
| | (Total) | (9,310) | (30.8%) | (594) | (28.5%) | (193) | (11.1%) | (2) | - | (10,099) | (29.6%) |
| Cajas rojas | Hembras | 1,600 | 5.3% | 64 | 3.1% | 6 | 0.3% | - | - | 1,670 | 4.9% |
| | Machos | 3,045 | 10.1% | 96 | 4.6% | - | - | - | - | 3,141 | 9.2% |
| | (Total) | (4,645) | (15.4%) | (160) | (7.7%) | (6) | (0.3%) | - | - | (4,811) | (14.1%) |
| TOTAL | | 30,221 | 100% | 2,083 | 100% | 1746 | 100% | 4 | 3 | 34,057 | 100% |

Tabla 17. Estado de alimentación sanguínea de *Cx. quinquefasciatus* colectadas con las maquinas mosquito magnet.

| Mes | ^a Estados de Sella | | | | | | Total Hembras | ^b Porcentaje alimentado |
|--------------|-------------------------------|------------|------------|-----------|-----------|------------|---------------|------------------------------------|
| | I | II | III | IV | V | VI-VII | | |
| Enero | 417 | 19 | 2 | 0 | 0 | 0 | 438 | 4.8 |
| Febrero | 420 | 0 | 49 | 2 | 0 | 144 | 615 | 8.3 |
| Marzo | 466 | 3 | 10 | 3 | 3 | 0 | 485 | 3.9 |
| Abril | 525 | 48 | 5 | 0 | 2 | 9 | 589 | 9.3 |
| Mayo | 379 | 7 | 6 | 8 | 3 | 14 | 417 | 5.8 |
| Junio | 1 348 | 33 | 5 | 6 | 2 | 15 | 1 409 | 3.3 |
| Julio | 282 | 0 | 5 | 1 | 0 | 4 | 292 | 2.1 |
| Agosto | 2 028 | 48 | 14 | 19 | 11 | 43 | 2 163 | 4.3 |
| Septiembre | 1 645 | 61 | 20 | 33 | 25 | 56 | 1 840 | 7.6 |
| Octubre | 936 | 51 | 5 | 5 | 5 | 31 | 1 033 | 6.4 |
| Noviembre | 1 033 | 53 | 11 | 17 | 5 | 3 | 1 122 | 7.7 |
| Diciembre | 1 224 | 61 | 24 | 2 | 2 | 6 | 1 319 | 6.7 |
| TOTAL | 10 703 | 384 | 156 | 96 | 58 | 325 | 11 722 | 5.9 |

^aEstados de Sella I: sin alimentar, Estados de Sella II al V: alimentadas, Estados de Sella VI-VII: grávidas

^bPorcentaje de alimentación parcial/completa (estados de Sella II al V) de hembras de *Cx. quinquefasciatus* colectadas cada mes.

Tabla 18. Estado de alimentación sanguínea de *Cx. quinquefasciatus* colectadas con la mochila aspiradora.

| Mes | ^a Estados de Sella | | | | | | Total Hembras | ^b Porcentaje alimentado |
|--------------|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|---------------|------------------------------------|
| | I | II | III | IV | V | VI-VII | | |
| Enero | 95 | 26 | 3 | 0 | 2 | 17 | 143 | 21.7 |
| Febrero | 321 | 54 | 34 | 20 | 6 | 71 | 506 | 22.5 |
| Marzo | 89 | 18 | 8 | 7 | 2 | 12 | 136 | 25.7 |
| Abril | 91 | 16 | 11 | 16 | 11 | 33 | 178 | 30.3 |
| Mayo | 135 | 62 | 39 | 28 | 35 | 21 | 320 | 51.2 |
| Junio | 80 | 38 | 29 | 36 | 32 | 48 | 263 | 51.3 |
| Julio | 177 | 43 | 30 | 16 | 37 | 115 | 418 | 30.1 |
| Agosto | 393 | 85 | 27 | 30 | 48 | 144 | 727 | 26.1 |
| Septiembre | 48 | 16 | 4 | 11 | 16 | 38 | 133 | 35.3 |
| Octubre | 116 | 27 | 12 | 11 | 10 | 45 | 221 | 27.1 |
| Noviembre | 81 | 25 | 8 | 9 | 7 | 26 | 156 | 31.4 |
| Diciembre | 25 | 11 | 11 | 3 | 7 | 8 | 65 | 49.2 |
| TOTAL | 1 651 | 421 | 216 | 187 | 213 | 578 | 3 266 | 31.8 |

^aEstados de Sella I: sin alimentar, estados de Sella II al V: alimentadas, estados de Sella VI-VII: grávidas

^bPorcentaje de alimentación parcial/completa (estados de Sella II al V) de hembras de *Cx. quinquefasciatus* colectadas cada mes.

Tabla 19. Estado de alimentación sanguínea de *Cx. quinquefasciatus* colectadas en las cajas rojas.

| Mes | ^a Estados de Sella | | | | | | Total Hembras | ^b Porcentaje alimentado |
|--------------|-------------------------------|------------|-----------|------------|------------|------------|---------------|------------------------------------|
| | I | II | III | IV | V | VI-VII | | |
| Enero | 54 | 44 | 0 | 0 | 0 | 0 | 98 | 44.9 |
| Febrero | 71 | 26 | 9 | 7 | 6 | 17 | 136 | 35.3 |
| Marzo | 103 | 12 | 9 | 14 | 4 | 18 | 160 | 24.4 |
| Abril | 88 | 17 | 9 | 14 | 9 | 10 | 147 | 33.3 |
| Mayo | 20 | 5 | 1 | 6 | 0 | 4 | 36 | 33.3 |
| Junio | 17 | 14 | 9 | 15 | 5 | 18 | 78 | 55.1 |
| Julio | 51 | 18 | 1 | 6 | 12 | 20 | 108 | 34.3 |
| Agosto | 94 | 47 | 18 | 31 | 29 | 48 | 267 | 46.8 |
| Septiembre | 36 | 25 | 3 | 9 | 10 | 16 | 99 | 47.5 |
| Octubre | 37 | 20 | 21 | 4 | 8 | 21 | 111 | 47.7 |
| Noviembre | 89 | 66 | 9 | 16 | 36 | 49 | 265 | 47.9 |
| Diciembre | 49 | 17 | 7 | 5 | 5 | 12 | 95 | 35.8 |
| TOTAL | 709 | 311 | 96 | 127 | 124 | 233 | 1,600 | 41.1 |

^aEstados de Sella I: sin alimentar, estados de Sella II al V: alimentadas, estados de Sella VI-VII: grávidas

^bPorcentaje de alimentación parcial/completa (estados de Sella II al V) de hembras de *Cx. quinquefasciatus* colectadas cada mes.

6.4. Biorritmo de picadura de *Cx. quinquefasciatus* capturados con máquinas mosquito magnet®.

6.4.1. Horario de picadura mediante el uso de trampas mosquitos magnet.

Las colectas para determinar el biorritmo de picadura se realizaron en la tarde-noche en el horario comprendido entre las horas 17:00 a las 24:00 horas, cinco días por semana por mes por sitio seleccionado, usando las maquinas mosquito magnet. Del mes de mayo al mes de octubre ocurrió un pico de la actividad de las hembras de *Cx. quinquefasciatus* de 23:00 a 24:00 horas (Tabla 20). Durante el mayor tiempo del año, *Cx. quinquefasciatus* fue usualmente más activo de las 21:00 a las 22:00 horas, ó 22:00 a las 23:00 horas. Las capturas de esta especie se dieron en mayor cantidad en los meses de agosto y septiembre.

Tabla 20. Actividad de picadura nocturna de *Cx. quinquefasciatus*.

| Horas | Número de <i>Cx. quinquefasciatus</i> capturados en cada mes | | | | | | | | | | | |
|---------------|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | Enero | Febrero | Marzo | Abril | Mayo | Junio | Julio | Agosto | Septiembre | Octubre | Noviembre | Diciembre |
| 17:00 - 18:00 | 15 | 0 | 0 | 8 | 0 | 1 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 18:00 - 19:00 | 28 | 12 | 10 | 10 | 0 | 7 | 13 | 57 | 3 | 3 | 3 | 11 |
| 19:00 - 20:00 | 19 | 7 | 13 | 25 | 3 | 27 | 17 | 44 | 77 | 56 | 13 | 130 |
| 20:00 - 21:00 | 18 | 15 | 23 | 90 | 20 | 176 | 21 | 112 | 91 | 86 | 68 | 76 |
| 21:00 - 22:00 | 18 | 19 | 43 | 79 | 34 | 108 | 33 | 139 | 120 | 23 | 43 | 225 |
| 22:00 - 23:00 | 48 | 28 | 37 | 105 | 40 | 116 | 48 | 117 | 148 | 16 | 45 | 122 |
| 23:00 - 24:00 | 73^a | 20 | 41 | 98 | 46 | 191 | 55 | 162 | 240 | 346 | 61 | 57 |
| TOTAL | 146 | 101 | 167 | 415 | 143 | 626 | 192 | 634 | 679 | 530 | 233 | 622 |

^aLos mayores números de cada mes están en letra más negra.

6.5. Búsqueda del genoma viral del VON en mosquitos *Cx. quinquefasciatus* mediante métodos moleculares.

Se corrieron en total 685 pools cada uno de 50 mosquitos hembras de *Cx. quinquefasciatus* para la búsqueda del VON en ellos, se inicio el proceso de búsqueda desde el mes de octubre de 2004 y se finalizo en marzo del 2007. El año donde más pools se corrieron fue el de 2005, donde se probaron 440, siguiéndole el 2006 con 165 y en el 2007 sólo se revisaron 25 (Tabla 21).

Del total procesado sólo 6 resultaron positivos concordando con el tamaño de banda de 407 pb, usando los primers WN 619 Reverse y el WN 212 forward aunque las bandas fueron muy tenues. Estos positivos a PCR fueron uno en octubre de 2004, 4 en 2005 (enero, dos en mayo, diciembre) y 1 en 2006 (abril). Los productos de estos pools fueron enviados a la Universidad Estatal de Colorado donde en el laboratorio de microbiología que cuenta con instalaciones de bioseguridad nivel III, se realizaron los intentos de aislamientos inoculando los productos de PCR en cultivos de células Vero, sin embargo no se observo daño citopático por lo que no se pudo continuar con el proceso de secuenciación y esto se debió a que muy probablemente a que hubo un proceso de degradación durante el envío (Tabla 21 y Figura 26).

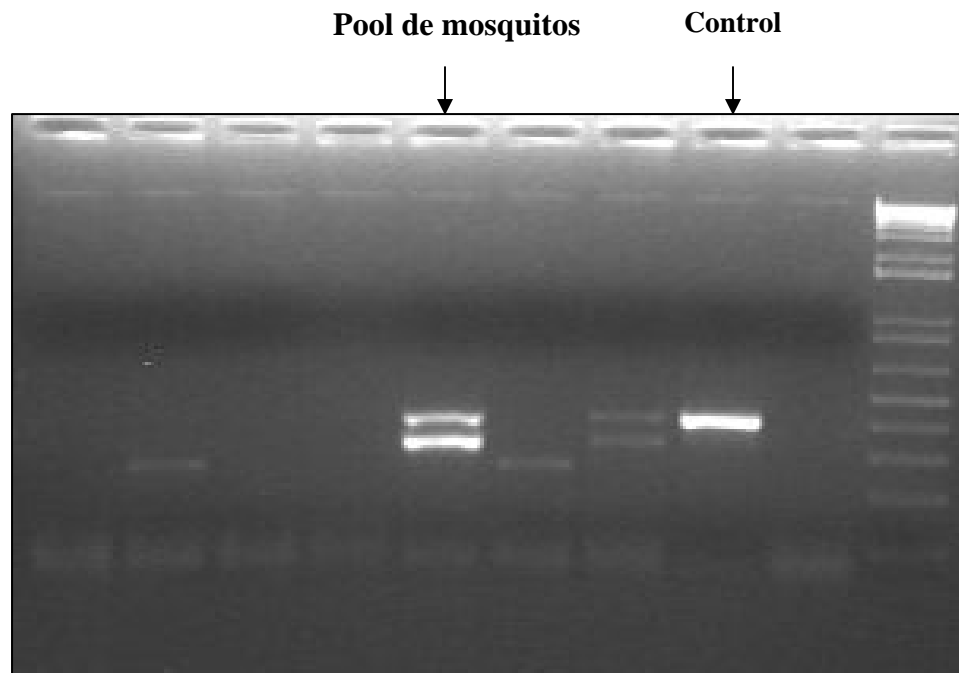


Figura 26. Gel de agarosa al 1.5%, donde se muestra un pool de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* que coincide con el peso molecular esperado para VON.

Tabla 21. Número de pools de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* hembras que se probaron en diferentes meses y años en busca del VON en ellos en la Ciudad de Mérida.

| Fecha de Colecta | No. De Pools Probados | Pools Positivos |
|-------------------------|------------------------------|------------------------|
| Año 2004 | | |
| Octubre | 33 | 1 |
| Noviembre | 22 | 0 |
| Total | 55 | 1 |
| Año 2005 | | |
| Enero | 39 | 1 |
| Febrero | 32 | 0 |
| Marzo | 22 | 0 |
| Abril | 23 | 0 |
| Mayo | 24 | 2 |
| Junio | 42 | 0 |
| Julio | 41 | 0 |
| Agosto | 44 | 0 |
| Septiembre | 36 | 0 |
| Octubre | 39 | 0 |
| Noviembre | 49 | 0 |
| Diciembre | 49 | 1 |
| Total | 440 | 4 |
| Año 2006 | | |
| Enero | 17 | 0 |
| Febrero | 19 | 0 |
| Marzo | 28 | 0 |
| Abril | 13 | 1 |
| Mayo | 11 | 0 |
| Junio | 27 | 0 |
| Julio | 20 | 0 |
| Agosto | 1 | 0 |
| Septiembre | 8 | 0 |
| Octubre | 6 | 0 |
| Noviembre | 11 | 0 |
| Diciembre | 4 | 0 |
| Total | 165 | 1 |
| Año 2007 | | |
| Enero | 17 | 0 |
| Febrero | 1 | 0 |
| Marzo | 7 | 0 |
| Total | 25 | 0 |

DISCUSION

Desde el punto de vista epidemiológico, el conocimiento de la composición de edades y el estado trófico de una población de mosquitos tiene importancia en la transmisión de virus, ya que los periodos de transmisión pueden relacionarse con las altas tasas de paridad (Rush y Templéis, 1967). Además Solís (1995) menciona que son de utilidad en la estimación de la tasa diaria de sobrevivencia y el ciclo gonotrófico, parámetros importantes en la determinación de la capacidad vectorial de las poblaciones de vectores.

Cabe mencionar que Schreiber *et al.*, (1993) menciona que durante su colecta en sitios de reposo en Irvine, California predominaron los machos de *Cx. quinquefasciatus* sobre las hembras, concluyendo que el mayor número de mosquitos machos capturados es debido probablemente a que cercanos a los sitios de colecta se encuentran los criaderos y también a que estos son más susceptibles a los cambios climáticos y en general a la fuerza del viento. En el estudio realizado en Mérida usando las cajas rojas, se obtuvo una tendencia similar en la proporción mayor de machos colectados. Otros resultados parecidos presentaron con este método McHugh (1989) con *An. freeborni*; Solís (1995) con *Cx. tarsalis* y Baak (2004) con *Cx. quinquefasciatus* en Mérida, Yucatán.

En la fase de lluvia la captura de mosquitos fue mayor y solamente se registro lluvia en los primeros tres días de colecta, de acuerdo con Stricman (1988) en un estudio realizado en San Antonio, Texas, se observó que barquillas de huevecillos de *Cx. quinquefasciatus* aumentaron a las dos semanas después del periodo de lluvia. También menciona que cuando la lluvia excede los 20 mm en 24 horas, el número de barquillas de huevecillos se reducen a la mitad. En la época de secas como era de esperarse, la captura de mosquitos fue menor, por lo que la lluvia juega un papel muy importante en la presencia de este mosquito en la ciudad de Mérida.

Stricman (1988) también revisa la influencia de la temperatura sobre la oviposición de *Cx. quinquefasciatus*, observando una gran oviposición cuando la temperatura mínima fue superior a los 22° C. En contraste Mercado *et al.*, (2006) concluye que la temperatura no es un factor limitante en la abundancia como lo es la

lluvia. En este estudio, la abundancia de los mosquitos estuvo mejor asociada con la lluvia, ya que en ambos periodos la temperatura fue superior a los 22°C.

Aparentemente, la disponibilidad de agua en la ciudad de Mérida, Yucatán y la cercanía de criaderos influyen en la presencia de hembras de menor edad, tal y como lo citan Solís (1995) quien estudió a *Cx. tarsalis* en Monterrey, Nuevo León y posteriormente Arredondo *et al.*, (1998) en el Sureste de México con *An. vestitipennis*, ambos en temporada de lluvia.

Otro aspecto a considerar en este estudio es que la colecta de hembras alimentadas siempre fue mayor a las no alimentadas en ambos periodos; Day y Curtis (1999) observaron una correlación positiva entre alimentación sanguínea de *Cx. nigripalpus* y la lluvia. Estos mencionan que es debido a que la precipitación influye en la actividad de vuelo del mosquito y su comportamiento en busca de hospederos.

Cabe mencionar que en la época de secas del estudio el numero de hembras no alimentadas tuvo un incremento, seguida de las hembras recién alimentadas y las medio grávidas, resultados similares obtuvieron Ramaiah y Das (1992) al estudiar una población de *Cx. quinquefasciatus*. Estos observaron que las hembras parcialmente alimentadas puede deberse también la habilidad defensiva de los hospederos y de esta manera se retarda la duración del ciclo gonotrófico. Ellos estimaron un ciclo de 5 días.

En este estudio para estimar sobrevivencia y la duración del ciclo gonotrófico utilizamos el análisis de series de tiempo de Birley y Rajagopalan (1981) porque este método permite muestrear de manera uniforme individuos recién alimentados con sangre a intervalos diarios y separados dentro de grupos de paridas y nulíparas, la mayoría de los individuos toman una sola alimentación sanguínea por ciclo gonotrófico y completan este ciclo con el mismo numero de días. Además todos los individuos repiten el ciclo con la misma probabilidad de sobrevivencia o dispersión a lo largo de su vida.

Cabe mencionar que se prefirió el método de las series de tiempo ya que el método Marca-liberación-recaptura, presenta desventajas porque requiere de un gran numero de individuos distinguibles de otros grupos que coinciden en el campo; así mismo, la sobrevivencia puede ser afectada por la modificación del comportamiento inducido por el colorante y perder el muestreo debido a la dispersión (Rodríguez *et al.*, 1995).

Aunque los datos, obtenidos no se ajustaron al criterio de Birley y Rajagopalan (1981) y Mutero y Birley (1987) debido a que ninguna correlación fue significativa, por lo tanto nos basamos en el criterio de Bockarie *et al*, (1995) que dice que si las correlaciones más altas se repiten en el mismo periodo de tiempo, este indica el número de días del ciclo, en este caso fueron 4 días en ambos periodos. Los mosquitos alimentados con sangre llegan a ser completamente grávidas después de 4 días, indicando que el ciclo gonotrófico ocupa un mínimo de cuatro días.

De acuerdo con Birley y Rajagopalan (1981) las altas correlaciones del día cero no se toman como indicador en la duración del ciclo gonotrófico porque representan la correlación entre pares de datos del total de paridas y total de hembras capturadas en el mismo día. La gran significancia del coeficiente de correlación cruzada (r) obtenida después del día cero ($U=0$) es la mejor estimación del número de días para el ciclo gonotrófico.

La duración del ciclo gonotrófico de 4 días en una población de *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Mérida, Yucatán, concuerdan con los resultados obtenidos por Birley y Rajagopalan (1981) en la India, colectadas en sitios de reposo; así como Milby y Reisen (1989) en California mediante el método marca-liberación-recaptura.

Por otro lado, Nessa *et al*, (1986) al realizar un estudio en California, estimó una duración de 3 días el ciclo gonotrófico de *Cx. quinquefasciatus*. Igualmente, Elizondo *et al*, (2006) reporta entre 2 y 3 días la duración en la misma especie en Monterrey, México. El primero menciona que el corto tiempo del ciclo se debe a que la mayoría de los mosquitos capturados fueron paridos y estas toman un tiempo menor en la oviposición por que sus ovarios están alrededor de la mitad o después del estado de Christopher II de desarrollo. Sin embargo en los resultados que se obtuvieron en Mérida, en ambos periodos de estudio no se ajustaron a los tres días, la diferencia en la duración del ciclo gonotrófico pudo haber sido también a que estos autores usaron en su estudio el método marca- liberación- recaptura y el número de hembras disectadas fue menor.

En contraste, Milby *et al*, (1991) al estudiar poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* a temperaturas frías de mayo a septiembre en California, estimo la duración del ciclo gonotrófico superior a 4 y 5 días. Normalmente a bajas temperaturas y humedad, la

digestión de la sangre y desarrollo de los ovarios es lento y en verano estos procesos aumentan y el ciclo es corto (Nessa *et al.*, 1986 y Rua *et al.*, 2005). Nuestro estudio de ambas épocas, presentaron altas temperaturas y humedad, probablemente a estas condiciones del ambiente se debe el ciclo gonotrófico de 4 días de *Cx. quinquefasciatus*.

Rebollar *et al.*, (1995) reporta en la ciudad de Mérida, Yucatán, para *Ae. aegypti* un ciclo gonotrófico de 7 días; la diferencia de tres días mayor respecto a nuestros resultados se debe a que esta especie toma más de una alimentación sanguínea en un solo ciclo gonotrófico.

En otros resultados similares a los hallados en este estudio, McHugh (1986) estimó en Sheridan, California, en 4 días la duración del ciclo gonotrófico de *An. freeborni* en hembras alimentadas y 6 días para las hembras no alimentadas. El mismo en 1990 obtuvo un ciclo gonotrófico de 5 y 7 días para hembras alimentadas y no alimentadas de *Cx. tarsalis*, respectivamente. En este caso los días extras para completar una oviposición de las hembras no alimentadas se debe al periodo requerido por los mosquitos recién emergidos para madurar y aparearse antes de su primera alimentación sanguínea.

El incremento en el numero de hembras alimentadas en la colección, aumenta el índice de paridad, inversamente, un incremento en el numero de hembras no alimentadas puede disminuir la paridad, influyendo en la sobrevivencia diaria (McHugh, 1989; Ulloa *et al.*, 2005). En nuestra primera parte del estudio el numero de hembras alimentadas paridas duplicó el numero de hembras nulíparas lo que puede explicar el gran nivel de significancia de la sobrevivencia (0.91); por el contrario en la segunda parte del estudio el numero de hembras nulíparas fue mayor a las paridas y la sobrevivencia diaria disminuyó (0.78).

A su vez, Birley y Rajagopalan (1981) en un estudio realizado en Kenya sobre *Cx. quinquefasciatus* con series de tiempo obtuvieron un nivel bajo de sobrevivencia diaria (0.28). Al igual que en nuestro estudio en época de secas las hembras nulíparas abundaron y la sobrevivencia diaria decreció. Esto fue probablemente a la disponibilidad de agua del área estudiada, discutido anteriormente.

Así mismo en California, Milby y Reisen (1989) estudiaron una población de *Cx. quinquefasciatus* con el método marca - liberación – recaptura y estimaron un índice

menor de sobrevivencia diaria en 0.77, similar a nuestros resultados en época de secas (0.78), y en 1991 en la misma especie y método obtuvo una sobrevivencia entre 0.65 y 0.85.

Posteriormente en Monterrey, México, Elizondo *et al.*, (2006) estimaron la sobrevivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* en 0.87 colectadas con ovitrampas. Resultado similar al nuestro en época de lluvias (0.91). En ambos estudios el gran nivel de significancia se debió probablemente a que se capturaron un gran número de hembras alimentadas y grávidas.

Con respecto a la vitelogénesis, al inicio del experimento todas las hembras disectadas se encontraron con estado de Christopher II. A sí mismo Rosay (1969) menciona que el estado I o II puede ser un estado de reposo normal antes de la primera alimentación sanguínea en *Cx. quinquefasciatus*. Igualmente en Chiapas, México, Ulloa *et al.*, (2005), reporta este nivel de desarrollo al inicio de su estudio con la especie *An. vestitipennis*.

En general, la mayor parte de los mosquitos toman una sola alimentación sanguínea para un ciclo de oviposición (Detinova, 1962), a su vez Mekuria *et al.*, (1991) menciona que el ciclo gonotrófico puede ser obtenido de manera indirecta, si al desarrollo completo de la oogénesis se le suma 24 horas, el cual es el tiempo requerido para localizar un sitio de oviposición, poner huevecillos y tomar una siguiente alimentación sanguínea. Cuando este criterio fue usado en nuestros datos, la estimación del ciclo gonotrófico fue de 4 días.

En este estudio en Mérida el mínimo tiempo requerido de 48 horas para el desarrollo de huevecillos o estado de Christopher V coincide con los datos obtenidos por Smith (1966) en una población de *Cx. quinquefasciatus* bajo condiciones de laboratorio. Sin embargo este observó que el desarrollo de la oogénesis se completo hasta la hora 84. La diferencia mayor de 12 horas respecto a los que se hallaron aquí, se debió probablemente a que este trabajo con hembras nulíparas recién emergidas, mientras que las disecciones realizadas en Mérida era una mezcla de hembras parida y nulíparas colectadas en campo.

En Colombia, Rua *et al.*, (2005) observó diferencias significantes en la duración media del desarrollo de oocitos basado sobre estados de Christopher con respecto a la

temperatura. De acuerdo a la media del tiempo de desarrollo, el estado de Christopher V en *An. albimanus* fue completado después de 66.2 y 73.1 horas a 27 y 30°C respectivamente, comparado a 91.2 horas a 24°C. Sin embargo en nuestro estudio *Cx. quinquefasciatus* mantenido a 25°C completó el desarrollo a las 72 horas.

Al igual que con la series de tiempo y determinación de la vitelogénesis, la duración del ciclo gonotrófico fue estimado en 4 días para *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Mérida, Yucatán tanto en épocas de lluvia como de secas. El no hallar diferencias en la duración del ciclo gonotrófico entre temporadas y método, probablemente se deba características propias de la especie y a la poca variación de temperatura en ambas épocas.

El segundo objetivo de este trabajo que fue el determinar el patrón de selección de huéspedes del mosquito *Cx. quinquefasciatus* durante un año. así como el índice de sangre humana, rango de forrajeo e índice de alimentación por huésped. Se demostró que las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Mérida, tienen una marcada preferencia de alimentarse de aves más que de mamíferos, ya que más del 82% de los mosquitos durante el año presentaban sangre de ave y fue siempre superior en porcentaje que de sangre de mamíferos, así también es de resaltar que el método para identificar las fuentes de alimentación en estos mosquitos es muy sensible y específico, ya que puede identificar a niveles de ordenes para las aves y especies para los mamíferos, ya que las fuentes que se identifican, son por encontrar similitudes de ADN en el interior del estomago del mosquito y no reacciones antigénicas que en ocasiones pueden ser inespecíficas para cada grupo (Lee *et al.*, 2002).

Estos resultados son de suma importancia en la incriminación de esta especie en la transmisión del VON en la región, ya que durante el ciclo de transmisión las aves juegan un papel de amplificadoras de este virus en la naturaleza y los mosquitos muy probablemente de esta especie son los que lo transmiten a otras aves, mamíferos y seguramente en corto tiempo a los humanos, por otra parte y fortaleciendo estas preferencias se ven mas marcadas en los meses de septiembre a diciembre, que son meses reportados en que ocurre la mayor cantidad de migración de las aves hacia las zonas cálidas de la Península de Yucatán, muchas de estas especies de aves pueden traer consigo el VON y mantener un ciclo enzootico discreto entre las poblaciones de aves y

mosquitos locales y así diseminar la presencia de este virus en regiones aun no reportadas de actividad (Kramer *et al.*, 2008).

La preferencia de alimentarse de aves ha sido documentada para *Cx. quinquefasciatus* en otras áreas. Tempelis (1975) mencionó que este mosquito se alimentó casi exclusivamente de aves, pero también se alimentó de perros y bovinos, con un total de alrededor de 31% de alimentación de mamíferos. Hess *et al.*, (1968) encontró que el 99% de los *Cx. quinquefasciatus* colectados en Hawai se alimentaron de aves. Zimmerman *et al.*, (1988) en el Cairo, Egipto encontró que *Cx. pipiens* se alimentó primariamente de ungulados (85.0%), humanos (14.0%) y de aves (0.6%) esta ultima tasa fue baja a pesar de la abundancia de animales domésticos en el área. Irby y Apperson, (1988) reportaron que el 95% de los mosquitos colectados en Carolina del Norte contenían sangre de ave (39% de aves galliformes).

Sin embargo en Louisiana, Niebylski y Meek, (1992) encontraron que los perros (69.2%) fue el hospedero más frecuente para alimentarse de *Cx. quinquefasciatus*, seguido de aves (16.3%) y humanos (11.1%). En Arizona, Zinser, *et al.*, (2004) encontraron que el 50% de esta especie de mosquito contenía sangre humana, el 32% sangre de ave y el 12% sangre de perro. Esto nos muestra que el medio local y las condiciones ecológicas pueden influenciar las preferencias de alimentación de hospederos de *Cx. quinquefasciatus*. En Monterrey al Norte de México (Elizondo *et al.*, 2006), se encontró también la misma preferencia a las gallinas sobre otros huéspedes, aunque allí si se observo que después de estas la alimentación más frecuente eran la de los humanos, por lo que si hubo una asociación entre estos dos vertebrados.

Considerando también a los huéspedes mamíferos más frecuentes en la alimentación de *Cx. quinquefasciatus* en Mérida, habría que mencionar que el porcentaje de mosquitos que se alimento de perros (8.8%) fue un poco más alto que la de los humanos (6.7%), también esto en ocasiones puede ser presumible ya que de hecho hay que considerar que esta especie ha sido reportada como vector de *Dirofilaria immitis* en perros, de allí que su posible relación huésped-vector es natural (Tiawsirisup y Nithiuthai, 2006).

Se debe considerar que el resultado obtenido en este estudio, fueron de mosquitos individuales que se hallaban reposando su alimentación sanguínea en una de las cajas

rojas que se colocaron en los patíos de las casas seleccionadas, muy probablemente estos mosquitos también pudieron seleccionar su alimentación debido a la disponibilidad del huésped, porque seguramente si los mosquitos colectados hubiesen sido de los interiores de las casas los resultados variarían como sucedió en Kenya en donde el valor del índice de sangre humana fue mayor dentro de los domicilios que en el exterior (Muturi *et al.*, 2008).

En respuesta a la reciente introducción del VON en la Península de Yucatán y el rol importante en el que participa *Cx. quinquefasciatus* en los Estados Unidos, se realizó este estudio para conocer la abundancia estacional, estados de alimentación y biorritmo de picadura de esta especie que ha sido reportada en la ciudad de Mérida.

En relación con el objetivo acerca de la distribución temporal y estructura de edades, tasa de inseminación y estado trófico de *Cx. quinquefasciatus* en un año de muestreo usando tres métodos de captura. Se halló que el mosquito *Cx. quinquefasciatus* fue bastante abundante durante todo el año de 2005; esta especie fue más del 88% de todas hembras de mosquitos de todas las especies colectadas en ese año. Estos datos sugieren que las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* en Yucatán puede llegar a ser un vector competente de VON, debido a su presencia y persistencia en esta región. Como era de esperarse las poblaciones de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* fueron mayores durante la época de lluvias y se vio una asociación que después de periodos donde ocurrían fuertes lluvias, existía una proliferación de mosquitos esto ha sido reportado por otros autores (Degaetano, 2005; Moreno *et al.*, 2007; Shililu *et al.*, 2004). Esta información también es muy importante porque permite conocer en que momento del año este mosquito es más abundante y por lo tanto en que momento se debe de poder controlarlo o sugerir a la población la utilización de métodos repelentes a la picadura de esta especie y evitar futuras enfermedades.

En este estudio se utilizaron tres diferentes métodos de colecta y cada uno tuvo diferente comportamiento en relación con la captura de mosquitos adultos de *Cx. quinquefasciatus* de tal forma que estadísticamente fue alta esta diferencia. Las maquinas Mosquito magnets fueron más efectivas en la captura en mayor cantidad de mosquitos hembras que las cajas rojas y las capturas con la aspiradora de mochila La proporción de

hembras con machos de *Cx. quinquefasciatus* fue también mayor cuando se usaron las maquinas mosquito magnet, ya que estas utilizan como uno de sus cebos el CO₂ y se ha demostrado que esto incrementa la cantidad de hembras colectadas, ya que esta atrae más hembras que machos (Reisen y Pfunter, 1987). Otra ventaja de las maquinas mosquito magnet es que requiere menos esfuerzo en la colecta que en las colectas de mosquitos usando cajas rojas y la mochila aspiradora. Sin embargo las cajas rojas y la mochila aspiradora proveen una mayor cantidad de mosquitos hembras alimentadas y que pueden determinarnos de que fuente alimenticia se alimentaron, así como diversos estudios de desarrollo oogenico o de ciclo gonotrófico (Reisen y Pfunter, 1987).

De tal forma dependiendo de los objetivos que se pretendan cubrir en un futuro, este estudio sirvió para demostrar que si lo que se necesita, es hacer una vigilancia del VON en alguna ciudad y por lo tanto es necesario una gran cantidad de mosquitos *Cx. quinquefasciatus*, es conveniente usar las maquinas mosquito magnets, ahora bien si es importante patrones de alimentación, comportamiento de reposo, o algún requerimiento ecológico de esta especie, se pueden usar las cajas rojas o la mochila aspiradora. Aunque sin lugar a dudas las cajas rojas son más prácticas y más seguras de hallar mosquitos en cualquier momento del día, siempre y cuando la caja roja este en un lugar sombreado (Williams yGingrich, 2007).

Por otra parte, otros de los aspectos estudiados de *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Mérida, fue el periodo donde tuvo mayor actividad de picadura o bioritmo de picadura, se decidió para realizar este proceso, la utilización de las maquinas mosquito magnet, la cual al liberar CO₂ y octanol, hacen un buen huésped potencial de alimentación para los mosquitos hambrientos y no se exponen seres humanos, ni tampoco se utilizan animales que sería difícil su mantenimiento y manejo. De tal forma que los resultados del bioritmo de picadura de *Cx. quinquefasciatus* fueron que esta especie es usualmente más activa en el mes de mayo de 23:00-24:00 y durante el resto del año que es de las 21:00-23:00 esto es de esperarse ya que en el mes de mayo es el mes de mayor calor y al final de este mes empezaran las lluvias, durante el resto del año la temperatura disminuye a partir de las 20:00 y la humedad aumenta. De tal forma se ha observado este comportamiento en otros estudios, los cuales han mostrado que los mosquitos hembras de *Cx. quinquefasciatus* son más activas en la noche que por las tarde. Por ejemplo en estudios en los que se analizó a esta especie en

la India y en Tailandia revelaron que el mayor pico de actividad se desarrolla entre las 22:00-23:00 horas (Gowda y Vijayan, 1993; Pipitgool *et al.*, 1998).

El pico de mayor actividad de búsqueda de alimento por las hembras ocurre después del anochecer, seguramente esto está también relacionado con la transmisión de enfermedades y obviamente con el VON, ya que las especies de aves que son las amplificadoras de este virus permanecen inactivas sobre arbustos y por lo tanto son una fuente fácil de alimentación sanguínea y de que los mosquitos obtengan el virus de ellas y de igual forma la mayor parte de los vertebrados, también pueden ser picados de hallarse en una zona oscura en el exterior de las cascos, patios incluso en zonas rurales (Kramer *et al.*, 2008).

Aunque fue uno de los objetivos de este trabajo el realizar la búsqueda del VON en *Cx. quiquefasciatus*, los resultados aunque de concordancia en cuanto al peso molecular esperado para VON, no se pudo determinar y confirmar la presencia de este virus en mosquitos, principalmente por carecer de un laboratorio de bioseguridad 3 que nos permitiera de una manera autónoma el realizar el aislamiento y secuenciación y se dependió de otras entidades en el extranjero que aun y que se enviaron las muestras de una manera adecuada, se desconoce el manejo una vez que está en la empresa que se encarga de transportarlo.

Cabe mencionar que aunque se procesaron aproximadamente 27 000 mosquitos en los años 2004-2007, no necesariamente se tienen que hallar virus, por ejemplo en un estudio realizado en Perú entre 1996 a 2001 por Turell *et al.*, (2005) encontraron diversos virus en 164 aislados de 539 694 mosquitos, esto indica que los niveles de infección son bajos en la naturaleza y es necesario hacer una búsqueda intensiva en mosquitos para hallar algún virus en los pools procesados y en diferentes tiempos, lugares y usando la mayor cantidad de métodos de colecta de mosquitos, a diferencia de otros patógenos que son más comunes.

A partir de mayo de 2007, se continuó con la búsqueda de este virus en otro proyecto aparte con la Universidad de Iowa, hasta este momento se han trabajado un total de 96 687 mosquitos de diferentes especies en 2 730 pools los cuales fueron procesados para aislamiento en células Vero. Del total de mosquitos que se han procesado se han hallado en un grupo de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* del zoológico de Mérida ARN

de un nuevo virus VON. El nucleótido y las secuencias de aminoácidos de este nuevo virus es muy similar a los virus del complejo de la encefalitis japonesa, el cuál indica que tiene una relación antigénica muy cercana al VON y a los otros miembros del complejo (Blitvich Bradley, datos no publicados).

De tal forma es muy probable la circulación del VON en el estado y en Mérida, ya que se ha documentando la presencia de este en caballos, aves y diversos animales en cautiverio (Loroño *et al.*, 2003, Farfan *et al.*, 2004, Farfan *et al.*, 2006), por lo que no se descarta que en algún momento encontremos el virus, aunque lo más importante en este momento es poder aislarlo y una vez hecho esto secuenciarlo para documentar fehacientemente su presencia y más que nada compararlo filogenéticamente con los otros VON hallados en México y en el mundo.

CONCLUSIONES

1. Como primera conclusión de este trabajo tenemos que los datos obtenidos mediante la correlación de estos, sugieren que el ciclo gonoótrofico de *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Mérida es de 4 días, sin importar que se trate de época de lluvias o de secas. Esta aseveración fue confirmada con el desarrollo oogénico el cual requirió de 72 horas para completarse y si le añadimos un día que le lleva al mosquito hallar un criadero harían las 96 horas o 4 días igual que con el método de series de tiempo, cabe mencionar que aunque hubo una diferencia diferentes entre las dos épocas del año esto no influye en la duración del ciclo gonotrófico.
2. Otra de las conclusiones que se demostró es que las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* en Mérida, se alimentan más frecuentemente de aves durante todo el año. Esto sugiere que esta especie puede ser importante en la transmisión del VON por sus marcadas preferencias ornitofílicas. Aunque el ISH en estos mosquitos tuvo un bajo valor que indica que los humanos no son la fuente de alimentación preferida, si se encontraron mosquitos alimentados de sangre humana por lo que la disponibilidad del hospedero puede influenciar en la alimentación de esta especie.
3. 2. Se determinó al menos en un año de muestreo que *Cx. quinquefasciatus* en la ciudad de Mérida estuvo presente durante todo el año de 2005, su presencia fue mayor en dos épocas una que fue en febrero cuando la temperatura en promedio es más baja y evita la evaporación de los criaderos y durante los meses de junio-agosto cuando es considerada la época de lluvias fuertes en la ciudad. El método en el que se capturó la mayor cantidad de esta especie fue el de las máquinas mosquito magnet que al usar como cebo de atracción el CO₂ y el octneol influyen principalmente en las hembras que buscan huéspedes para alimentarse, en contraste con los otros dos métodos en donde se capturan hembras alimentadas y que solo reposan en ellos. De igual forma se determinó que el biorritmo de picadura cambia un poco en la época de mayor calor en el mes de mayo de 23:00-24:00 que en el resto del año que es de las 21:00-23:00.

4. Por último y pese que no se pudo aislar el VON durante el estudio en *Cx. quinquefasciatus*, la insistencia en la incriminación de este mosquito en la transmisión de este virus en la región, nos permitió hallar un grupo de mosquitos positivos a un nuevo virus similar al VON (en este momento se está secuenciando) en un trabajo subsecuente a este en 2007, con nuestro mismo grupo de trabajo, por lo que esto nos está permitiendo reconocer ya a esta especie implicada en la transmisión de VON en la ciudad de Mérida, Yucatán.

LITERATURA CITADA

- Aitken TH. 1961. The public health importance of *Culex quinquefasciatus* Say in the West Indies. West Indian Med J 10: 264-8.
- Armstrong WS, Bashour CA, Smedira NG, Heupler FA, Hoeltge GA, Mawhorter SD, Sudheendra V, Gordon M. 2003. A case of fatal West Nile virus meningoencephalitis associated with receipt of blood transfusions after open heart surgery. Ann Thorac Surg 76:605-7.
- Arredondo JI, Rodríguez MH, Washino RH. 1998. Gonotrophic cycle and survivorship of *Anopheles vestitipennis* (Diptera: Culicidae) in two different ecological areas of Southern Mexico. J Med Entomol 35 (6):937-942.
- Baak-Baak CM. 2004. Identificación y distribución de mosquitos domiciliarios en la ciudad de Mérida, Yucatán. Memoria de Residencia Profesional. Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2, Conkal, Yucatán. 46pp.
- Barr AR. 1967. Occurrence and distribution of the *Culex pipiens* complex. Bol OMS 37:293-96.
- Beaty BJ, Marquardt WC. 1996. The Biology of Disease Vectors Press of Colorado. USA. 85-97pp.
- Beier JC, Perkins PV, Wirtz RA, Koros J, Diggs D, Gargan TP, Koech DK. 1988. Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on anopheles (Diptera: Culicidae) in Kenya. J Med Entomol 25:9-16.
- Berthet FX, Zeller HG, Drouet MT, Rausier J. 1997. Extensive nucleotide changes and deletions within the envelope glycoprotein gene of Euro-African West Nile Viruses. J Gen Virol 78: 2293-2297.
- Bequaert J. 1933. Contribution to the entomology of Yucatan. Carnegie. Inst Washington Publ 431:547-74.
- Birley MH, Rajagopalan PK. 1981. Estimation of the survival and biting rates of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) J Med Entomol 18: 181-6.
- Blitvich B, Fernandez I, Contreras J, Marlenee N, Gonzalez J, Komar N, Gubler D, Calisher C, Beaty B. 2003. Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Coahuila State, Mexico. Emerg Infect Dis 9:853-6.
- Boakye DA, Tang J, Truc P, Merriweather, Unnasch TR. 1999. Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. Med Vet Entomol 13, 282-7.

- Bockarie MJ, Service MW, Barnish G, Touré YG. 1995. Vectorial Capacity and entomological inoculation rates of *Anopheles gambiae* in high rainfall forested area of Southern Sierra Leone. *Tropical Medical Parasitology* 46: 164-1.
- Boreham PF, Garret-Jones C. 1973. Prevalence of mixed blood meals and double feeding in a malaria vector (*Anopheles sacharovi favre*). *Bull WHO* 48:605-614.
- Burkett DA, Lee W, Lee J, Kim KW, Lee HC, Lee HI, Shin JS, Wirtz EW, Cho RA, Claborn HW, Coleman DM, Klein A. 2001. Light, carbon dioxide, and octenol-baited mosquito trap and host-seeking activity evaluations for mosquitoes in a malarious area of the Republic of Korea. *J Am Mosq Control Assoc* 17:196-205.
- Burkett DA. 2003. Isolation of Japanese encephalitis and Getah viruses from mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected near Camp Greaves, Gyonggi Province, Republic of Korea, 2000. *J Med Entomol* 40: 580-4.
- Campbell G, Marfin A, Lanciotti R, Gubler D. 2002. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2:519–29.
- Carpenter ST, Lacasse WJ. 1955. Mosquitoes of North America (North of México). University of California Press. Berkley. 360 pp.
- Castex M, Suarez E, Marquetti M. 1990. Food sources of *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae) in Machurrucutu locality, Havana Province, Cuba. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85:241-2.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2001. West Nile virus activity eastern-United States, 2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*50:617–9.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2002. Provisional surveillance summary of the West Nile Virus epidemic—United States, January–November 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*, 51:1129–33.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2003. Division of Vector Borne Infectious Diseases. West Nile Virus: En <http://.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/index.htm>
- Centers for Disease Control and Prevention. 2004. West-Nile virus activity -United States, 2003. *MMWR. Wkly Rep.* 53: 1071-1072.

- Contreras C. 1995. Listado preeliminar de Fauna Silvestre del estado de Nuevo León, México. Consejo Consultivo Estatal para la Preservación y Fomento de la Flora y Fauna Silvestre de Nuevo León. pp 111-112.
- Cooperband MF, Cardé RT. 2006. Comparison of plume structures of carbon dioxide emitted from different mosquito traps. *J Med and Vet Entomol* 20: 1-10.
- Craven RB, Roehrig JT. 2001. West Nile virus. *Jama*. 286:651-3.
- Curtis CF, Hawkins PM. 1982. Entomological studies of on-site sanitation systems in Botswana and Tanzania. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 76, 99-108.
- Darsie RF, Ward RA. 1981. Identification y Geographical Distribution of the Mosquitoes of the North America North of México. *Mosquito systematics, Supp.* 1:1-313.
- Davis CT, D. Beasley D, Guzman H, Raj P, D'Anton MD, Novak R. 2003. Genetic variation among temporally and geographically distinct West Nile virus isolates, United States, 2001, 2002. *Emerg Infect Dis* 12:423-429.
- Day JF, Curtis G. 1999. Influence of rainfall on *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae) blood-feeding behavior in Indian River County, Florida. *Ann. Entomol Soc Am* 82: 32-37.
- Degaetano AT. 2005. Meteorological effects on adult mosquito (*Culex*) populations in metropolitan New Jersey. *Int J Biometeorol* 49(5):345-353.
- De Meillon B, Sebastián A, Khan ZH. 1967a. Cane-sugar feeding in *Culex pipiens fatigans*. *Bull World Health Org.* 36(1): 53-65.
- De Meillon B, Sebastian A, Kahn ZH. 1967b. Time of Arrival of gravid *Culex pipiens fatigans* at an oviposition cycle and the relationship between time of feeding and time of oviposition. *Bull. World Health Org* 36: 163- 167.
- Detinova TS. 1962. Age grouping methods in Diptera of medical importance, with special reference to some vectors of malaria. WHO. Genova. 47:216pp.
- Díaz A. Vargas L. 1973. Mosquitos mexicanos Distribución geográfica actualizada. *Rev. Inv. Salud Pública* 33:111-125.
- Dodd RY. 2003. Emerging infections, transfusion safety, and epidemiology. *N Engl J Med.* 349:1205-6.
- Edman JD. 1971. Host-feeding patterns of Florida mosquitoes. I. *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettia*, *Mansonia* and *Psorophora*. *J Med Entomol* 8(6): 687-95.

- Elizondo-Quiroga, A. 2002. Taxonomía y Distribución de los Mosquitos (Diptera: Culicidae) de las Regiones Fisiográficas Llanura Costera del Golfo y Sierra Madre Oriental, del Estado de Nuevo León, México. Tesis Profesional inédita. Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. San Nicolas de los Garza, Nuevo León. 111 pp
- Elizondo-Quiroga A, Flores-Suarez A, Elizondo-Quiroga D, Ponce-Garcia G, Blitvich B, Contreras-Cordero JF, Gonzalez-Rojas JI, Mercado-Hernandez R, Beaty BJ, Fernandez-Salas I. 2006. Host-feeding preference of *Culex quinquefasciatus* in Monterrey, northeastern Mexico. J Am Mosq Control Assoc 22: 654-661.
- Elizondo-Quiroga A., Flores-Suarez A, Elizondo-Quiroga D, Ponce-Garcia G, Blitvich B, J.F. Contreras-Cordero JF, Gonzalez-Rojas JI, Mercado-Hernandez R, Beaty BJ, Fernandez-Salas I. 2006. Gonotrophic cycle and survivorship of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) using sticky ovitraps in Monterrey, Northeastern México. Journal of the American Mosquito Control Association. 22 (1): 10-14.
- Elizondo-Quiroga D, Davis CT, Fernandez-Salas I, Escobar-Lopez R, Velasco-Olmos D, Soto-Gastalum LC, Aviles-Acosta M, Elizondo-Quiroga A, Gonzalez-Rojas JI, Contreras-Cordero JF, Guzman H, Travassos da Rosa A, Blitvich B, Barrett AD, Beaty BJ, Tesh RB. 2005. West Nile Virus isolation in human and mosquitoes, Mexico. Emerging Infectious Diseases 11: 1449-1452.
- Farfan-Ale J, Blitvich B, Loroño-Pino M, Marlenee N, Rosado-Paredes E, Garcia_rejon J, Flores-Glores L, Chulim L, Lopez-Uribe M, Perez G, Sanchez-Martínez I. Santamaria, M, Moo J, Gubler D, Cropp B, Calisher C, Beaty BJ. 2004. Longitudinal studies of west nile virus infection in avians, Yucatan state, Mexico. Vector Borne Zoonotic Dis. 4:3-14.
- Farfan-Ale J, Blitvich B, Marlenee N, Loroño-Pino M, Puerto-Manzano F, Garcia-Rejon J, Rosado-Paredes E, Flores-Flores L, Ortega-Salazar A, Chavez-Medina J, Cremieux-Grimaldi JC, Correa-Morales F, Hernandez-Gaona G, Mendez-Galvan JF, Beaty BJ. 2006. Antibodies to West Nile virus in asymptomatic mammals, birds, and reptiles in the Yucatan Peninsula of Mexico. Am J Trop Med Hyg 74(5):908-914.
- Fernandez-Salas I, Roberts D, Rodriguez, Marina C. 1993. Host selection patterns of *Anopheles pseudopunctipennis* under insecticide spraying situations in southern Mexico. J Am Mosq Control Assoc 9:375-84.
- Fernandez-Salas I, Contreras-Cordero J, Blitvich B, J. Gonzalez-Rojas JI, Cavazos A, Marlenee N, Elizondo-Quiroga A, Loroño-Pino M, Gubler D, Cropp B, Calisher C, Beaty BJ. 2003. Serologic evidence of West Nile Virus infection in birds, Tamaulipas State, Mexico. Vector Borne Zoonotic Dis 3: 209-13.
- Fleming G. 1986. Biología y Ecología de los vectores de la Malaria en las Américas. Organización Panamericana de la Salud (OPS). EEUU. 54pp.

- Flores-Suárez AE. 1990. Contribución al estudio de las Poblaciones y Comunidades Larvianas de mosquitos de Importancia en Salud Pública en el área Metropolitana de Monterrey, N.L. Tesis de Maestría en Entomología Médica. Inédita. Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. San Nicolas de los Garza, Nuevo León. 77pp
- Fonseca DM, Keyghobadi N, Malcolm C, Mehmet C, Schaffner F, Mogi M, Fleischer R, Wilkerson R. 2004. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. Science 303: 1535-8.
- Forattini O, Gomes P, Natal D, Kakitani I, Marucci D. 1989. Preferencias alimentares e domiciliacao de mosquitos Culicidae no vale do Ribeira, Sao Paulo, Brasil. Rev Saude Públ 23:9-19.
- Garrett-Jones C, Shidrawi GR.1969. Malaria vectorial capacity of a population of *Anopheles gambiae*: an exercise in epidemiological entomology. Bull World Health Organ 40(4): 531-45.
- Goddard LB, Roth AE, Reisen WK, Scott TW. 2002. Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus. Emerg Infect Dis 12: 1385-1391.
- Goldblum N, Jasinska-Klingberg W, Klingberg MA, Marberg K, Sterk V. 1956. The natural history of West fever. I. Clinical observations during an epidemic in Israel. Am. J. Hyg 64. 259-269.
- Gomes A, Silva C, Marques NN, Brito M. 2003. Host-feeding patterns of potential human disease vectors in the Paraíba Valley region, State of Sao Paulo, Brazil. J Vector Ecol 28: 74-8.
- Goodwin MH. 1942. Studies on artificial resting places of *Anopheles quadrimaculatus* Say. NATL Malaria Soc J 1:93-99.
- Gowda NN, Vijayan VA. 1993. Biting density, behavior and age distribution of *Culex quinquefasciatus*, say in Mysore City, India. Southeast Asian J Trop Med Public Health 24(1):152-156.
- Gubler DJ. 2007. The continuing spread of West Nile virus in the western hemisphere. Clin Infect Dis 45(8): 1039-46.
- Harbach R, Dahl C, White GB.1985. *Culex (culex) pipiens* Lin. (Diptera:Culicidae): concepts, type designation and description. Proc Ent Soc Washington. 87. 24pp.
- Harwood RF, James MT. 1987. Entomología médica y Veterinaria. 1º edición. Editorial Limusa. México. 615 pp.
- Hayes CG. 1988. West Nile viruses. In The Arboviruses: Epidemiology and Ecology. T.P.Monath. Ed.: CRC press, Inc. Boca Raton, FL: 59-88.

- Heinemann S, Belkin JN. 1977. Collection Records of the Project "Mosquitoes of Middle America". México (MEX, MF, MT, MX). Mosq Systematic Vol. 9 (4): 483-535.
- Henderson L, Uzcátegui NY, Gould EA, Nuttall PA. 2004. Ixodid and argasid tick species and West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 10(4): 653-657.
- Hess AD, Hayes RO, Tempelis CH. 1968. The use of the foraging ratio technique in mosquito host preference studies. *Mosq News* 28: 836-389.
- Holmes PR, Birley MH. 1987. An improved method for survival rate analysis from time series of haematophagous dipteran populations. *J Anim Ecol* 56: 427-440.
- Hubalek Z, Halouzka J. 1999. West Nile fever- a reemerging mosquito borne viral diseases in Europe. *Emerg Infect Dis* 5: 643-650.
- Ibáñez S, Martínez C. 1988. Identificación de mosquitos domiciliarios. *Folia Entomológica*. 4: 53-97.
- Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática (INEGI). 2002. Anuario estadístico de Yucatán. México. 660 pp.
- Irby WS, Apperson CS. 1988. Hosts of mosquitoes (Diptera: Culicidae) on the coastal plain of North Carolina. *J Med Entomol*. 25:85-93.
- Jia XY, Briese T, Jordan I, Rambaut A, Chi HC, Mackenzie JS, Hall RA, Scherret J, Lipkin WI. 1999. Genetic analysis of West Nile New York 1999 encephalitis virus. *Lancet* 354: 1971-1972.
- Jupp PG. 2001. The ecology of West Nile virus in South Africa and the occurrence of outbreaks in humans. *Ann N Y Acad Sci*, 951:143-52.
- Kauffman EB, Jones SA, Dupuis AP, Ngo KA, Bernard D, Kramer L. 2003. Virus detection protocols for West Nile Virus in vertebrate and mosquito specimens *J. Clin. Microbiol.*, 41:3661-67.
- Karabatsos N. Editor. 1985. International Catalog of Arboviruses, including certain other Viruses of Vertebrates. *Am Soc Trop Med Hyg* 1-1147 pp
- Kay BH, Boreham PF, Edman JD. 1979. Application of the "feeding index" concept to studies of mosquito host-feeding patterns. *Mosq News* 39: 68-72.
- Kenawy MA, Beier JC, Asiago CM, el Said S. 1990. Factors affecting the human-feeding behavior of anopheline mosquitoes in Egyptian oases. *J Am Mosq Control Assoc* 6(3): 446-51.

- Klinberg M, Jasinska W, Klinberg A, Goldlum N. 1959 Certain aspect of the epidemiology and distribution of immunity of West Nile virus in Israel. Proc. 6th Int. Cong. Trop. Med. Malaria 5: 132-140.
- Kline DL. 2002. Evaluation of various models of propane-powered mosquito traps. J Vector Ecol 27:1-7.
- Knight KL, Stone A. 1977. A Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera: Culicidae) the Thomás Say Foundation, Entomol Soc Amer Vol. VI, pp 70-156.
- Kramer LD, Styer LM Ebel GD. (2008). A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. Annu Rev Entomol 53: 61-81.
- Kulasekera VL, Kramer L, Nasci RS, Mostashari F, Cherry B, Trock SC, Glaser C, Miller JR. 2001. West Nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, 2000. Emerg Infect Dis 7:722-5.
- Kuntz KJ, Olson JK, Rade BJ. 1982. Role of domestic animals as hosts for blood seeking females of *Psorophora columbiae* and other mosquito species in Texas USA ricelands. Mosq News 42: 202-210.
- Lanciotti RS, Roehring JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K, Crise B, Volpe KE, Crabtree MB, Scherret JH, Hall RA, MacKenzie JS, Cropp CB, Panigrahy B, E. Ostlund E, Schmitt B, Malkinson M, Banet C, Weissman J, Komar N, Savage HM, Stone W, McNamara T, Gubler DJ. 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. Science 286:2333-37.
- Lawrie CH, Uzcategui NY, Gould EA, Nuttall PA. 2004. Ixodid and argasid tick species and West Nile virus. Emerg Infect Dis 10: 653-7.
- Lee JH, Hassan H, Hill G, Cupp EW, Higazi TB, Mitchell CJ, Godsey MS, Unnasch TR. 2002. Identification of mosquito avian-derived blood meals by polymerase chain reaction-heteroduplex analysis. Am J Trop Med Hyg 66(5): 599-604.
- Loroño M, Blitvich B, Farfan J, Puerto F, Blanco J, Marlenee N, Rosado E, Garcia J, D. Gubler D, Calisher C, Beaty BJ. 2003. Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Yucatan State, México. Emerg Infect Dis 9:857-9.
- Marquetti MC, Valdes V, Aguilera L, Navarro A. 2000. Entomological surveillance over *Aedes aegypti* and other culicids in Ciudad de La Habana, Cuba 1991-1996. Rev Cubana Med Trop 52: 133-7.
- Mattingly PF, Rozeboom LE, Knight KE, Laven H, Drummond F, Christophers SR, Shute PG. 1951. The *Culex* complex. Trans R Ent Soc London 7:331-343.

- McHugh ChP.1986. Survivorship and gonocycle length of *Anopheles freeborni* and *Cx. tarsalis* in the Sacramento Valley of California. Proc Calif Mosq And Vector Contr Asso 53: 133-135.
- McHugh ChP.1989. Ecology of a semi-isolated population of adult *Anopheles freeborni*: Abundance, trophic status, parity, survivorship, gonotrophic cycle length, and host selection. Am J Trop Med Hyg 41, 169-176.
- Mekuria Y, Granados R, Tidwell M, Williams D, Wirtz R, Roberts D.1991. Malaria transmission potential by *Anopheles* mosquitoes of Dajabon, Dominican Republic. J Am Mosq Control Assoc 7 (3): 456-461.
- Mercado R, Aguilar J, Fernández I, Earl P. 2006. The Association of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in Allende, Nuevo León, México. J Am Mosq Control Assoc 22 (1): 5-9.
- Meyer RP, Hardy JL, Presser SB. 1983. Comparative vector competence of *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* from the coachella, imperial, and San Joaquin Valleys of California for St. Louis encephalitis virus. Am J Trop Med Hyg 32, 305-11.
- Milby MM, Reisen W. 1989. Estimation of vectorial capacity: Vector survivorship. Bull Soc Vector Ecol 14(1): 47-54.
- Milby MM, Reisen W, Meyer R. 1991. Mark-release-recapture studies with *Culex* mosquitoes along the Kern River, 1990. Proc Calif Mosq Vector Control Association. 59: 58-61.
- Moreno JE, Rubio-Palis Y, Paez E, Perez E, Sanchez V. 2007. Abundance, biting behaviour and parous rate of anopheline mosquito species in relation to malaria incidence in gold-mining areas of southern Venezuela. Med Vet Entomol 21(4):339-349.
- Mutero BC, Birley MH. 1987. Estimation of the survival rate and oviposition cycle of field populations of malaria vectors in Kenya. Journal of Applied Ecology 24: 853-863.
- Muturi EJ, Muriu S, Shililu J, Mwangangi JM, Jacob BG, Mbogo C, Githure J, Novak RJ. 2008. Blood-feeding patterns of *Culex quinquefasciatus* and other culicines and implications for disease transmission in Mwea rice scheme, Kenya. Parasitol Res 102(6): 1329-35.
- Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O'Leary D, Murray K, Huang, Rosenberg A, Greenberg A, M. Sherman M, Wong S, Layton M. 2001. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. N Engl J Med 344:1807-14.
- Nayar JK, Knight JW, Munstermann LE. 2003. Temporal and geographic genetic variation in *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Florida. J Med Entomol 40 (6): 882-889.

- Nessa MB, Uddin T, Khoda M. 1986. Gonotrophic cycle of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) in Dhaka. Bangladesh J Zool 14 (2): 111-115.
- Nelson MJ. 1986. *Aedes aegypti*: Biología y Ecología. Organización Panamericana de la Salud (OPS). EEUU. 51 p.
- Niebylski ML, Meek CL. 1992. Blood-feeding of *Culex* mosquitoes in an urban environment. J Am Mosq Control Assoc 8: 173-177.
- Ngo KA, Kramer LD. 2003. Identification of mosquito bloodmeals using polymerase chain reaction (PCR) with order-specific primers. J Med Entomol 40: 215-222.
- Petersen LR, Roehring JT. 2001. West Nile Virus: a Reemerging Global Pathogen. Emerg Infect Dis 7:611-4.
- Pipitgool V, Waree P, Sithithaworn P, Limviroj W. 1998. Studies on biting density and biting cycle of *Culex quinquefasciatus*, say in Khon Kaen City, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 29(2):333-336.
- Rajnikant M, Bhatt RM, Gupta DK, Sharma RC, Srivastava HC, Gautam AS. 1993. Observations on mosquito breeding in wells and its control. Indian J Malariol. 30: 215-20.
- Ramaiah KD, Das PK. 1992. Non-involvement of nulliparous females in the transmission of bancroftian filariasis. Acta tropica. 52:149-153.
- Rebollar-Tellez E, Loroño-Pino M, Rodríguez-Angulo E, Farfán-Ale J. 1995. Blood-Feeding frequency and life expectancy of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in an urban area of Mérida city, state of Yucatán, México. Revista Biomédica 6(3): 135-145.
- Reisen WK. 1978. A quantitative mosquito survey of 7 villages in Punjab Province, Pakistan with notes on bionomics, sampling methodology and the effects of insecticides. Southeast Asian J Trop Med Public Health 9, 587-601.
- Reisen WK, Pfunter AR. 1987. Effectiveness of five methods for sampling adult *Culex* mosquitoes in rural and urban habitats in San Bernardino County, California. J Am Mosq Control Assoc 3: 601-606.
- Reisen WK, Milby MM, Meyer RP, Pfunter AR, Spoehel J, Hazelrigg JE, Webb JP. 1991. Mark-release-recapture studies with *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Southern California. J Med Entomol 28(3): 357-71.
- Reisen WK, Lothrop H, Chiles R, Madon M, Cossen C, Woods L, Husted S, Kramer V, Edman J. 2004. West Nile Virus in California. Emerg Infect Dis 10(8): 1369- 1377.

- Rodriguez PM, Reyes F, Rodríguez MH. 1995. Estimating the gonotrophic cycle and survivorship of *Simulium ochraceum* (Diptera:Simuliidae) during routine vector surveillance in Southern México. *J Am Mosq Control Assoc* 11 (3): 360-362.
- Roehrig J, Layton M, Smith P, Campbell, Nasci R, Lanciotti R. 2002. The emergence of West Nile virus in North America: ecology, epidemiology, and surveillance. *Curr Top Microbiol Immunol* 267:223–40.
- Rosay B. 1969. Anatomical indicators for assessing age of mosquitoes: Changes in ovarian follicles. *Annals of the Entomological Society of America* 62 (3):605-611.
- Rua GL, Quiñónez ML, Vélez I, Zuluaga J, Rojas W, Poveda G, Ruiz D. 2005. Laboratory estimation of the effects of increasing temperatures on the duration of gonotrophic cycle of *Anopheles albimanus* (Diptera:Culicidae). *Mem Instituto Oswaldo Cruz* 100 (5): 515-520.
- Rueda LM, Patel KJ, Axtell RC, Stinner RE. 1990. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 27, 892-8.
- Rush WA, Templéis CH. 1967. Biology of *Culex tarsalis* during the spring season in Oregon in relation to western encephalitis virus. *Mosq News* 27: 307-315.
- Schreiber ET, Walton WE, Mulla MS.1993. Mosquito utilization of resting sites at an urban residence in Southern California. *Bull Soc Vector Ecol* 12 (2): 152-159.
- Scherret JH, Poidinger M, Mackenzie JS. 2001. The relationship between West Nile and Kunjin viruses. *Emerg Infect Dis* 7: 697-705.
- Secretaria de Salud de México. Vigilancia del virus del Oeste del Nilo. 2003. <http://www.cenave.gob.mx/von/default.asp>
- Secretaria de Salud. 2007. Descripción de la situación en México del VON. . <http://www.cenave.gob.mx/von/default.asp>
- Service MV. 1993. Mosquito Ecology. Field Sampling Methods. 2° edición. Elsevier Applied Science Londres, 988 pp.
- Shililu J, Ghebremeskel T, Seulu F, Mengistu S, Fekadu H, Zerom M, Asmelash GE, Sintasath D, Mbogo C, Githure J, Brantly E, Beier JC, Novak RJ. 2004. Seasonal abundance, vector behavior, and malaria parasite transmission in Eritrea. *J Am Mosq Control Assoc* 20(2):155-164.
- Smith T. 1966. External appearance as an indicator of ovarian development in *Culex Pipiens quinquefasciatus* Say. *Mosq News* 26 (1): 42-44.

- Smithburn K, Hughes T, Burke A, Paul J. 1940. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 20:471–92.
- Sirivanakarn S, White GG. 1978. Neotype designation of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera, Culicidae). *Proc Ent Soc Washington* 80(3):360-372.
- Solís, I. A. 1995. Bionomía de seis especies de mosquitos (Diptera: Culicidae) vectores potenciales de encefalitis en Salinas Victoria, Nuevo León, Noreste de México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. 35pp.
- Stricman D. 1988. Rate of oviposition by *Culex quinquefasciatus* in San Antonio, Texas, during three years. *J Am Mosq Control Assoc* 4 (3): 339-344.
- Takeda T, Whitehouse CA, Brewer M, Gettman AD, Mather TN. 2003. Arbovirus surveillance in Rhode Island: assessing potential ecologic and climatic correlates. *J Am Mosq Control Assoc* 19: 179-89.
- Tempelis CH. 1975. Host feeding patterns of mosquitoes, with a review of advances in analysis of blood meals by serology. *J Med Entomol* 11: 635-653.
- Tesh R, Parsons BR, Siirin M, Randle MY, Sargent C, Guzman H, Wuithiranyagool T, Higgs S, Vanlandingham DL, Bala A, Haas K, Zerinque B. 2004. Year-round West Nile virus activity, Gulf Coast region, Texas and Louisiana. *Emerg Infect Dis* 10(9): 1649-52.
- Tiawsirisup S, Nithiuthai S. 2006. Vector competence of *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say) for *Dirofilaria immitis* (Leidy). *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 37 Suppl 3: 110-4.
- Turell MJ, O'Guinn ML, Wasieloski LP, Dohm D, Lee W, Cho HW, Kim HC, Burkett DA, Mores CN, Coleman RE, Klein TA. 2003. Isolation of Japanese encephalitis and Getah viruses from mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected near Camp Greaves, Gyonggi Province, Republic of Korea, 2000. *J Med Entomol* 40, 580-4.
- Turell M.J, M.L O'Guinn, Jones JW, Sardelis MR, Dohm DJ, Watts DM, Fernandez R, Travassos da Rosa A, Guzman H, Tesh R, Rossi CA, Ludwig V, Mangiafico JA, Kondig J, Wasieloski LP, Pecor J, Zyzak M, Schoeler G, Mores CN, Calampa C, Lee JS, Klein TA. 2005. Isolation of viruses from mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in the Amazon Basin region of Peru. *J Med Entomol* 42: 891-8.
- Vinogradova EB. 2000. *Culex pipiens pipiens* Mosquitoes: Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, Applied importance and Control Ed. Pensoft, Moscu. 250pp.
- Ulloa A, Rodriguez MH, Arredondo J, Fernandez I. 2005. Biological variation in two *Anopheles vestitipennis* populations with different feeding preferences in Sothern México. *J Am Mosq Control Assoc* 21 (4): 350-354.

Williams GM, Gingrich JB. 2007. Comparison of light traps, gravid traps, and resting boxes for West Nile virus surveillance. *J Vector Ecol* 32(2): 285-91.

Zimmerman JH, Abbassy MM, Hanafi HA, Beier JC, Dees WH. 1988. Host-feeding patterns of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a rural village near Cairo, Egypt. *J Med Entomol* 25(5): 410-2.

Zinser M, Ramberg F, Willott E. 2004. *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as a potential West Nile virus vector in Tucson, Arizona: blood meal analysis indicates feeding on both humans and birds. *Journal of Insect Science* 4: 20-22.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Julián Everardo García Rejón

Candidato para el grado de

Doctor en Ciencias Biológicas

Tesis: BIONOMÍA DEL MOSQUITO *Culex quinquefasciatus* (SAY, 1823) Y SU RELACIÓN CON EL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON) EN LA CIUDAD DE MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO.

Campo de Estudio: Biología de los principales vectores de arbovirus en México.

Datos Personales: Nacido en Mérida, Yucatán, México, el 17 de noviembre de 1968.

Educación: Licenciado en Biología, egresado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Desde 1993.

Maestro en Ciencias, con especialidad en entomología Médica egresado de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Desde 1996.

Experiencia Profesional:

1997- 2008. Profesor Investigador Asociado D “T.C” Centro De Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” Universidad Autónoma de Yucatán. Laboratorio de Arbovirología.