

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**IDENTIFICACIÓN Y SEROTIPIFICACIÓN DEL VIRUS DENGUE,
DENSIDADES Y TASA DE INFECCIÓN DE POBLACIONES DOMESTICAS
DE *Ae. aegypti* EN CANCÚN, QUINTANA ROO, MEXICO**

Por

Q.B.P. ROSA MARIA SANCHEZ CASAS

TESIS

**Como requisito parcial para obtener el Grado de DOCTOR EN CIENCIAS
con acentuación en Entomología Médica**

Febrero 2013

**IDENTIFICACIÓN Y SEROTIPIFICACIÓN DEL VIRUS DENGUE,
DENSIDADES Y TASA DE INFECCIÓN DE POBLACIONES DOMESTICAS
DE *Ae. aegypti* EN CANCÚN, QUINTANA ROO, MEXICO**

Comité de Tesis

Ildfonso Fernández Salas, Ph. D.

Director de tesis

Eduardo Alfonso Rebollar Téllez, Ph. D.

Secretario

Dr. Roberto Mercado Hernández

Vocal

Dr. Raúl Torres Zapata

Vocal

Dr. Feliciano Segovia Salinas

Vocal

AGRADECIMIENTOS

Dr. Ildefonso Fernández Salas, si le digo GRACIAS, no sería suficiente, comparto el entusiasmo para cada proyecto así como los logros, hacemos un buen equipo de trabajo, gracias nuevamente por todo, Dios lo bendiga.

Dr. Eduardo A. Rebollar Téllez, por ese gran amigo que siempre escucha, que comparte sus conocimientos y nos motiva a ser ordenados y mejores.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Entomología Médica así como al Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud.

A esos chicos que llegaron un día al laboratorio y formaron parte de este equipo de formación, Luís Ibarra, Maricela Laguna, Marcela Alvarado, Saraí Sánchez, Ewry Arvid Zarate, Rocío Ramírez, Esteban Díaz, Alberto García, Pedro Mis, Marco Domínguez, Antonio Juan Cortes, Jorge Rodríguez, Ezequiel Magallón, Guadalupe Reyes, Aldo Ortega.

A los chicos nuevos que se están convirtiendo en grandes amigos: Adriana González, Samanta del Río, Wilfredo Arche, Alejandro Gaitán, Jessy Alanís, Rubén y Ale

Mi significativo grupo de Bioestadística: Osve, Clau, Roger, Hugo, Allen, Tavo, Karlita, Manuel. y mi apoyo de siempre en posgrado Carmen Vazquez.. tqm

Y ahora mis amigas de Crecimiento: Laura Alemán, Angélica Rangel, Esther Torres, Jessy y Eri.

Hay algunas personas que vas conociendo a lo largo de tu carrera y no porque no las menciones no significa que te olvides de ellas, también forman parte de este gran camino, y siempre brindaron su apoyo y su invaluable amistad.

En la vida siempre tenemos amigos nuevos y antiguos pero no por esos dejan de ser mejores o peores, tan solo están en nuestra vida cuando deben estar, tienen una función y hay algo que de ellos debemos aprender.

La vida está llena de enseñanzas, solo debemos dejar que éstas fluyan...

Un agradecimiento especial por el apoyo recibido en la realización de este trabajo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo para la conclusión de los estudios de Doctorado en Ciencias con acentuación en Entomología Médica (Becario No. 351755)

Al proyecto “Análisis filogenético de poblaciones del virus Dengue (DENV) aislados del mosquito vector *Ae. aegypti* en tres localidades geográficamente separadas de México: Monterrey, Chetumal y Acapulco” *FONSALUD-CONACYT 2010 141768*.

**Valor es lo que se necesita para levantarse y hablar;
Pero también es lo que se requiere para sentarse y escuchar**

Winston Churchill

**La realización personal,
Significa que estamos conectados conscientemente con nuestra fuente del ser.**

Wayne Dyer

DEDICATORIA

A Dios:

Por permitirme existir, por la oportunidad de llegar a este momento de mi vida, por todas esas pruebas y fortaleza que me han permitido seguir, por cuidar de Jordan, darme salud, familia, amigos y trabajo. Por este despertar y vivido presente...

A mis Padres y hermanos, por el solo hecho de estar aquí.

Mamá.- Gracias por todo tu apoyo, por sobrellevar a mis hijos. Te quiero mucho y sabes que siempre contarás conmigo.

Papá.- Gracias por todos los valores que me diste, porque ellos forman parte de este camino recorrido. Te quiero.

No hay una escala para medir cuanto se puede querer a un hijo, lo único que les puedo decir es que los amo, los adoro, los regaño, trato de entenderlos y guiarlos lo mejor que puedo, que cada día le pido a Dios que me los cuide y que valoren todo lo que tienen y que saquen provecho a las cualidades que cada uno tiene, que sean felices, que tengan metas y que no olviden sus valores. . Mi tesoro mas valioso, son mi motivación a seguir adelante cada día, saben es muy difícil ser madre, trabajar, estudiar y tener el privilegio de ser su amiga, yo creo que dentro de mis posibilidades he cubierto cada uno de esos puntos, espero que ustedes así lo vean y lo valoren también. Los quiero tanto que ni idea tienen de cuanto puede sacrificar una madre por un hijo, se que algún día lo entenderán. Los amo tanto mis tesoros

*Susy Oyuela y Blanquis: por convertirse en confidentes, amigas, respaldo, todo!
Gracias!!!*

Mis hijos:

Jordan: *ahora, papito, tendrías casi 20 años, parece mentira que cuando naciste apenas medías 44 cm y te veías tan indefenso, y ahora podrías ser todo un hombre, enorme, fuerte y listo para emprender el camino de la vida, sin embargo, Dios dispuso un cambio inesperado de planes, ahora estas con él, ya no habrá para ti mas regaños, mas desvelos, mas preocupaciones terrenales, tan solo eres un enorme ángel, que desde allá se que nos cuidas, sabes que siempre contarás con todo mi amor. Gracias papito por darme la oportunidad de ser tu mamá. Te extraño, siempre estás en mi corazón, en mi mente, en mi luz...*

Joanny, *hace 5 años te escribí esto: que te parecías tanto a mí en tu personalidad cuando yo era niña, tan seria y sensible, inteligente, y muy emprendedora, no dudaba que con esas cualidades llegarías tan lejos como tú quisieras, sin embargo ahora estas en plena adolescencia y bueno rebelde un poco, pero sabes? Me encanta tu seguridad, tu fortaleza y ese sentido de justicia y de ayuda a los demás, aunque a veces exageras tu fanatismo a tu ídolo sé que es parte de esta etapa de tu vida, gracias muñequita por escucharme, por estar conmigo, siempre éstas en mi corazón, y aunque no te guste darme abrazos, yo siempre te amaré...*

Judith, *a tus 10 años conservas tu carisma sin igual, gritas horrible cuando te enojas pero cambias todo con una sonrisa, eres espontánea y tienes un montón de cualidades aunque tienes tus sobresaltos, también tienes tu corazón noble y mi muñequita deseo que siempre seas feliz, que sigas disfrutando de esa etapa de la niñez, tienes muchas cosas que aprender aún, así que solo se feliz, y no olvides que siempre te amo...*

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS.....	12
LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE GRAFICAS.....	15
NOMENCLATURA.....	16
RESUMEN.....	17
ABSTRACT.....	18
1. INTRODUCCION.....	19
2. HIPÓTESIS.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo general	
3.2 Objetivos particulares	
4. ANTECEDENTES.....	23
4.1 Generalidades.....	23
4.2 Agente etiológico.....	24
4.2.1. Estructura del virión.....	26
4.2.2. Replicación y ensamblaje de las partículas virales....	27

4.3 Distribución de serotipos.....	28
4.3.1. Variación de virus dengue entre serotipos.....	28
4.4 Casos de Dengue en México.....	30
4.5 Ae. aegypti como vector.....	31
4.5.1. Oviposición y hábitats larvarios.....	31
4.5.2. Comportamiento adulto.....	32
4.5.3. Capacidad del vector.....	34
4.5.4. Capacidad vectorial.....	34
4.5.5. Importancia de la detección de serotipos circulantes....	35
4.6 Distribución geográfica.....	35
4.7 Ciclo biológico.....	36
4.7.1. Huevos.....	37
4.7.2. Larva.....	37
4.7.3. Pupa.....	38
4.7.4. Adultos.....	38
4.7.5. Ciclo gonotrófico.....	39
4.8 Enfermedad.....	40
4.8.1. Fiebre por Dengue (FD).....	41
4.8.2. Fiebre hemorrágica por Dengue (FHD).....	41
4.8.3. Síndrome de Shock por Dengue (SSD).....	41
4.9 Epidemiología.....	42
4.9.1. Distribución geográfica.....	42
4.9.2. Nivel Mundial.....	42
4.9.3. México.....	43

4.9.4. Seroepidemiología en México.....	43
4.9.5. Transmisión.....	44
4.9.6. Período extrínseco de incubación.....	44
4.9.7. Período intrínseco de incubación.....	45
4.9.8. Factores involucradas en las epidemias de Dengue.....	45
4.9.8.1. Factores relacionados al mosquito.....	45
4.9.8.2. Factores ambientales.....	46
4.9.8.3. Factores relacionados al humano.....	47
4.9.8.4. Factores relacionados al virus.....	49
4.9.9. Sistemas de vigilancia.....	49
4.9.9.1. Vigilancia epidemiológica.....	49
4.9.9.2. Vigilancia entomológica.....	50
4.9.9.3. Prevención.....	50
4.9.9.4. Mosquitos infectados en campo.....	51
4.9.9.4.1. Asia.....	51
4.9.9.4.2. América.....	52
4.9.9.4.2.1. Estados Unidos y México....	52
4.9.9.4.2.2. Sudamérica.....	52
4.9.9.5. Sistemas de información geográfica (GIS) como herramientas en la vigilancia del dengue y para el control del vector.....	54
5. MÉTODOS.....	56
5.1 Área de estudio.....	56
5.2 Colecta de mosquitos.....	56
5.2.1. Colecta de datos.....	57

5.2.2. Homogenización de mosquitos.....	58
5.2.3. Extracción de RNA.....	59
5.2.4. Técnica de RT-PCR.....	60
5.2.5. Electroforesis en gel de agarosa.....	60
5.3 Densidades poblacionales.....	62
5.4 Tasa de infección.....	62
6. RESULTADOS.....	63
6.1 Identificación de DENV y serotipificación en <i>Ae. aegypti</i> por RT-PCR.....	63
6.2 Densidades poblacionales de mosquitos adultos.....	65
6.3 Tasa de infección y dispersión de mosquitos infectados al DENV	69
7 DISCUSIÓN.....	73
8 CONCLUSIONES.....	79
LITERATURA CITADA.....	80
RESUMEN BIOGRÁFICO.....	95
ARTICULOS PUBLICADOS.....	96

LISTA DE TABLAS

Tablas	Página
I. Programas utilizados para llevar a cabo la RT-PCR en el termociclador Longgene® modelo MG96G.....	61
II. Reactivos utilizados en la RT-PCR en fase 1 y fase 2.....	61
III. Iniciadores de Seah (1995) para la detección de dengue.....	62
IV. Número de pools de hembras <i>Ae. aegypti</i> que resultaron positivos a DENV encontrados en la Región 102 y 103 del Municipio de Benito Juárez, Quintana Roo.....	64
V. Resultados de serotipificación de los virus de Dengue identificados en hembras <i>Ae aegypti</i> colectadas en las dos localidades de estudio en Cancún, Quintana Roo	64
VI. Distribución de las densidades domiciliarias de poblaciones adultas de <i>Ae. aegypti</i> en las Regiones 102 y 103 de la localidad de Cancún, Quintana Roo	65
VII. Distribución de las densidades domiciliarias de poblaciones adultas de <i>Ae. aegypti</i> infectados, tasa de infección, así como serotipos obtenidos en las Regiones 102 y 103 de la localidad de Cancún, Quintana Roo.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Genoma viral Dengue (Perera y Kuhn, 2008).....	26
2.	Estructura del genoma viral del dengue y sus productos proteicos (Clyde <i>et al</i> , 2006).....	27
3.	Distribución geográfica de los distintos genotipos	29
4.	Clasificación de Serotipos y genotipos del Virus Dengue.....	30
5.	Ciclo Biológico de <i>Ae. aegypti</i> . 1) Huevo, 2) Larva, 3) Pupa, 4) Adulto. Línea azul: Fase acuática. Línea roja: Fase terrestre. (Urdaneta & Failloux, 2011).....	39
6.	Clasificación de casos de dengue sugerida y niveles de gravedad (OMS, 2009).....	40
7.	Países en riesgo de Dengue, 2010 (OMS, 2010).....	42
8.	Transmisión del virus Dengue por <i>Ae. aegypti</i>	45
9.	Ubicación Municipio de Benito Juárez en la Península de Yucatán, el sur de México.....	57
10.	Aspirador motorizado de espalda BioQuip®.....	58
11.	Bitácora utilizada en las colectas en campo.....	58

12.	Gel de electroforesis de los productos de la RT-PCR con los iniciadores de Seah (1995), de los mosquitos positivos a Dengue.....	64
13.	Bitácora con información de las localidades muestreadas (Región 102 y 103).....	66
14.	Distribución espacial de las casas donde DENV-2 fue aislado de <i>Ae. aegypti</i> colectados en las Regiones 102 y 103 de la Ciudad de Cancún, Quintana Roo, México	70
15.	Conglomerado de viviendas de la Región 103 donde se colectaron e identificaron mosquitos <i>Ae. aegypti</i> infectados con DENV.....	70
16.	Ausencia de conglomerado de viviendas en la Región 102 donde solo se colectó e identificó un mosquito <i>Ae. aegypti</i> infectado con DENV.....	71
17.	Mapa de densidad de mosquitos colectado de <i>Ae. aegypti</i> con el aspirador de mochila CDC en la Región 102 de Benito Juárez, México	72
18.	Mapa de densidad de mosquitos colectado de <i>Ae. aegypti</i> con el aspirador de mochila CDC en la Región 103 de Benito Juárez, México.....	72

LISTA DE GRAFICAS

Gráfica	Página
1. Distribución de densidades de hembras <i>Ae aegypti</i> por vivienda individual obtenidos con el aspirador de mochila CDC en las dos Regiones de la Ciudad de Cancún Quintana Roo, México.....	67
2. Distribución de densidades de hembras <i>Ae aegypti</i> por vivienda individual obtenidos con el aspirador de mochila CDC en la Región 102 de la Ciudad de Cancún Quintana Roo, México.....	68
3. Distribución de densidades de hembras <i>Ae aegypti</i> por vivienda individual obtenidos con el aspirador de mochila CDC en la Región 103 de la Ciudad de Cancún Quintana Roo, México	68

NOMENCLATURA

DENV	Virus Dengue
DENV-1	Virus Dengue serotipo 1
DENV-2	Virus Dengue serotipo 2
DENV-3	Virus Dengue serotipo 3
DENV-4	Virus Dengue serotipo 4
FD	Fiebre Dengue
FHD	Fiebre Hemorrágica por Dengue
GIS	Sistema de Información Geográfica
IC	Intervalo de Confianza
KDa	kilo Dalton
PEI	Período Extrínseco de Incubación
PII	Período Intrínseco de Incubación
RE	Retículo Endoplasmático
RNA	Ácido Ribonucleico
RT-PCR	Retrotranscripción de la Reacción en Cadena de la Polimerasa
SCHD	Síndrome de Choque por Dengue
SSD	Síndrome Shock por Dengue

RESUMEN

En 2011, la Secretaría de Salud del Estado de Quintana Roo, anunció varios casos de dengue confirmados por laboratorio ocurridos entre los residentes de dos localidades de Ciudad de Cancún, Quintana Roo, México. Para identificar el serotipo de virus dengue y asociarlos de manera temporal y espacial, en Octubre del 2011 se inicio la vigilancia entomológica-viral en dichas localidades. Los mosquitos adultos fueron obtenidos de las casas por un aspirador de mochila. La colecta total de mosquitos *Ae. aegypti* resultó en 965 mosquitos, de los cuales se obtuvieron 419 hembras, mismas que se homogenizaron en pools de 10 mosquitos para RT-PCR se utilizaron como controles virus dengue 1-4. Cinco (12%) de los 41 pools fueron positivos para DENV-2. Posteriormente los mosquitos de dichos pools se sometieron de manera individual a una segunda RT-PCR para identificar la casa donde fueron colectados y de esta manera obtener la tasa de infección. Seis mosquitos fueron positivos para el virus dengue serotipo-2 (DENV-2), tres (50%) de los cuales fueron colectados en la misma casa. En cuando a la densidad de mosquitos se encontró que en 15 casas estaba presente el 60% de los mosquitos procesados en este estudio, además que en una sola vivienda se localizaron 21 hembras, encontrándose en esta casa el 50% de los mosquitos infectados. La tasa de infección total de hembras *Ae. aegypti* resultó 1.4%. En resumen, esta investigación nos proporciona pruebas de la reciente transmisión de DENV-2 en el estado de Quintana Roo.

ABSTRACT

In 2011, the State Health Department announced that several laboratory-confirmed cases of dengue had occurred among residents in two neighborhoods of Ciudad de Cancún, Quintana Roo State, Mexico. To identify the dengue virus serotype(s) temporally and spatially associated with the cases, entomologic-based virus surveillance was initiated in October 2011 in both neighborhoods. Adult mosquitoes were collected from houses by CDC-backpack aspirator, and all female *Ae. aegypti* L. ($n = 419$) were individually homogenized and assayed in pools of as many as 10 by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) using dengue virus-specific primers. Five (12%) of 41 pools were positive for dengue virus RNA. The individual mosquitoes that comprised the pools were analyzed separately by RT-PCR using dengue virus serotype-specific primers. Six mosquitoes were positive for dengue virus serotype-2 (DENV-2) RNA, three of which were collected in the same house. The overall dengue virus-infection rate in female *Ae. aegypti* was 1.4%. In summary, we provide evidence of recent DENV-2 transmission in Quintana Roo State.

1. INTRODUCCIÓN

El Dengue es una enfermedad infecciosa aguda de etiología viral, transmitida por los mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Estas especies se han adaptado a la convivencia con humanos, a menudo proliferando en acumulaciones de agua en basureros, patios y jardines o en contenedores desechados por humanos. Los mosquitos *Ae.* se alimentan durante el día (Lifson, 1996). El agente etiológico es Virus Dengue con 4 serotipos: DENV 1, 2, 3 y 4. La infección viral puede producir en sus formas más benignas un cuadro asintomático, cuadros de fiebre indiferenciada o Fiebre por Dengue (FD) (Gubler, 1998) o en sus formas más severas: Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) o Síndrome de Choque por Dengue (SCHD), que son causadas por reinfecciones con diferentes serotipos del virus (Haslstead, 2008).

Dengue es considerado como la enfermedad más común transmitida por artrópodos (arbovirosis), de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), ya que existen entre 30 y 60 millones de infecciones por año en el mundo, con miles de muertes en 100 países y aproximadamente dos mil millones de personas en riesgo (SSA, 2009).

En México aunque circulan los cuatro serotipos, el número de muertes por Dengue se ha mantenido por debajo de 1% del total de casos de FDH (SSA, 2009). La OMS coloca a México como el quinto lugar de incidencia en América Latina. La detección y serotipificación del virus Dengue en poblaciones de mosquitos en regiones

donde la enfermedad es hiperendémica, puede servir como un sistema de alerta temprana que ayude a monitorear las tasas de infección de los diferentes serotipos dentro de las poblaciones vectoriales, para predecir epidemias tanto de FD como de FHD a causa de la circulación concomitante de diferentes serotipos (Chung *et al.*, 2002; Philip & Ryagi, 2006). Además se puede complementar la vigilancia virológica durante los periodos inter e intraepidémicos (Chow *et al.*, 1998). Este tipo de análisis permite posicionar el vector como el elemento primario y necesario en el ciclo de transmisión durante las evaluaciones epidemiológicas (Liotta *et al.*, 2005)

2. HIPÓTESIS

Los incrementos en densidades poblacionales de *Ae. aegypti* en el ambiente doméstico están relacionados con incrementos en casos de Dengue en la población humana. Cuando esta relación se cumple, los insectos vectores actúan como centinelas pues se observan aumentos proporcionales en el número de hembras mosquito con infección natural al virus del Dengue. Esto se traduce en una mayor tasa de infección en el complejo vector-virus. Por otra parte, el corto rango de vuelo de menos de 100 m de *Ae. aegypti* es compensado cuando hay densidades elevadas del vector en las viviendas y eso explicará la dispersión horizontal de nuevos casos de Dengue desde la vivienda con el caso índice hasta casas cercanas en este rango de distancia de vuelo de las hembras *Ae. aegypti* infectadas con virus Dengue. Además, al identificar la circulación de los diferentes serotipos del virus de Dengue en el mosquito vector *Ae. aegypti*, se podría correlacionar con la gravedad del brote epidémicos ya sea de Fiebre Dengue (FD) o Fiebre Dengue Hemorrágico (FDH).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Identificar y serotipificar el virus Dengue, así como densidades poblacionales y tasa de infección del mosquito *Ae. aegypti*, colectados en ambientes domésticos y endémicos de la ciudad de Cancún, Quintana Roo, México.

3.2 Objetivos específicos

1. Identificación molecular de los virus de Dengue circulantes en poblaciones de campo del vector *Ae. aegypti* y su serotipificación en zonas urbanas endémicas de Cancún, Quintana Roo, mediante RT-PCR.
2. Estimación de densidades poblacionales de mosquitos adultos *Ae. aegypti* en domicilios de Quintana Roo, México.
3. Determinación de la tasa de infección natural al virus del Dengue en las poblaciones domiciliarias de hembras *Ae. aegypti* en cada región de estudio

4. ANTECEDENTES

4.1 Generalidades.

El Dengue es la enfermedad transmitida por vector que se diseminado a nivel mundial durante los últimos 50 años y la causante de la fiebre hemorrágica con mayor incidencia (San Martín, 2010). Las razones para esto incluyen una elevación en la frecuencia de brotes epidémicos y la cambiante distribución del virus y el vector. La enfermedad se ha vuelto endémica en más de 100 países, aunque se le sigue considerando un padecimiento de zonas tropicales y subtropicales. Fenómenos naturales como 'El Niño' y los efectos del continuo calentamiento global, con el paso del tiempo incrementarán el número de zonas en las cuales el ambiente será apto para la transmisión de la enfermedad, representando un riesgo potencial para la población mundial (Esler, 2009).

Dengue representa un serio problema de salud pública en México. La situación se ha complicado porque la proporción de la enfermedad con sintomatología severa, Dengue Hemorrágico, ha aumentado en relación con el Dengue Clásico en proporción 1:5 (Fernández, 2009). En el año 2009, el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica CENAVECE de la Secretaría de Salud Federal reportó más de 56,000 casos sumando ambas patologías (CENAVECE, 2010). Los Programas de gobierno de prevención y control del Dengue se enfrentan al problema de que a la fecha no existe una vacuna eficiente que provea inmunidad permanente; además, el desarrollo de

medicamentos antivirales está en una etapa muy temprana aún. Por lo tanto, la eliminación y reducción de poblaciones de mosquitos vectores con el uso de insecticidas y participación de la comunidad es el único método disponible (WHO, 2009).

El dengue es la enfermedad viral transmitida por artrópodos a humanos más frecuente del mundo, con cerca de la mitad de la población mundial en riesgo de infectarse en algún momento de su vida (San Martin *et al.*, 2010). Sus manifestaciones clínicas varían en severidad desde un síndrome febril autolimitado conocido como **fiebre indiferenciada, fiebre dengue o dengue hemorrágico en sus grados I, II, III y IV** (WHO, 2009). La complicación más grave, el síndrome de shock por dengue es potencialmente fatal. El alto predominio de la enfermedad, la carencia de una vacuna eficaz y la ausencia de un tratamiento antiviral específico sitúan a este padecimiento como un serio problema reemergente a nivel mundial (Guzmán *et al.*, 2002).

El Dengue se ha intensificado alcanzando niveles alarmantes en la última década, esto puede deberse a diferentes factores como los son: el incremento en las densidades del mosquito *Ae. aegypti* así como *Ae. albopictus* al cual se le adiciona la capacidad de transmisión transovárica de diferentes arbovirosis, además la circulación de varios serotipos en la misma región y época, finalmente debido a los programas de control del vector deficientes (Guzmán *et al.*, 2002).

4.2 Agente etiológico

El virus de Dengue es miembro del género *Flaviviridae* y de la familia Flavivirus (Guzmán *et al.*, 2002). Se han descrito cuatro tipos de virus del dengue altamente relacionados entre sí (serotipos), con la capacidad de causar el mismo cuadro patológico al infectar al hospedero humano (Teysou, 2009). Dengue es transmitido por mosquitos y también son los arbovirus más prevalentes en regiones tropicales y subtropicales de

Asia, Pacífico Sur, África, México, América Central y del Sur (Gubler, 1997). Producen un espectro de infección que va desde asintomática a una fiebre moderada conocida como Dengue Clásico hasta una enfermedad severa y fatal llamada Dengue Hemorrágico y Síndrome de Shock por Dengue (Burke *et al.*, 1988).

Se conocen cuatro serotipos de los virus del Dengue designados como DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4. La infección induce inmunidad protectora por toda la vida al serotipo homólogo pero solo protección temporal contra los serotipos heterólogos (Kurane & Ennis 1992). Los cuatro serotipos de DENV han sido asociados con Dengue Clásico y Hemorrágico. El mecanismo responsable del Dengue Hemorrágico (DH) y el Síndrome de Shock por Dengue (SSD) no está completamente entendido pero se acepta ampliamente que una infección secundaria es el principal factor de riesgo (Halstead, 1988). Por lo tanto, la co-circulación de diferentes serotipos de DENV en la misma área geográfica favorece los brotes de Dengue Hemorrágico, así como los movimientos globales de DENV entre diferentes áreas geográficas es uno de los principales factores que han aumentado las tasas de Dengue Clásico así como la emergencia del Dengue Hemorrágico en América Latina y Asia. Actualmente, los cuatro serotipos son endémicos en estas regiones.

En México está documentada la presencia de los cuatro serotipos de Dengue, recientemente en el 2009, el serotipo DENV-1 fue aislado en los Estados de Yucatán, Campeche, Oaxaca, Colima, Tamaulipas, Veracruz y Sinaloa. El serotipo DENV-2 fue aislado de muestras de pacientes en los Estados de Yucatán, San Luis Potosí, Chiapas, Guerrero y Veracruz. Mientras que en ese mismo año el serotipo DENV-3 fue aislado en el Estado de Jalisco (CENAVECE 2012).

4.2.1. Estructura del virión

Los viriones maduros contienen tres proteínas estructurales, la proteína C de la cápside, la proteína M de membrana y la proteína E de envoltura. Múltiples copias de la proteína C (11 KDa) encapsulan el genoma de RNA para formar la nucleocápside viral (Ma *et al.*, 2004; Chang *et al.*, 2001). La nucleocápside está rodeada por una bicapa lipídica, en la cual 180 copias de M y E están ancladas. La proteína M es un fragmento de aproximadamente 8 KDa de su forma precursora prM (aprox. 21 KDa). La proteína E es de 53 KDa (Figura 1). El análisis estructural de los viriones maduros revelan que el virus posee una nucleocápside icosaédrica (Kuhn *et al.*, 2002).

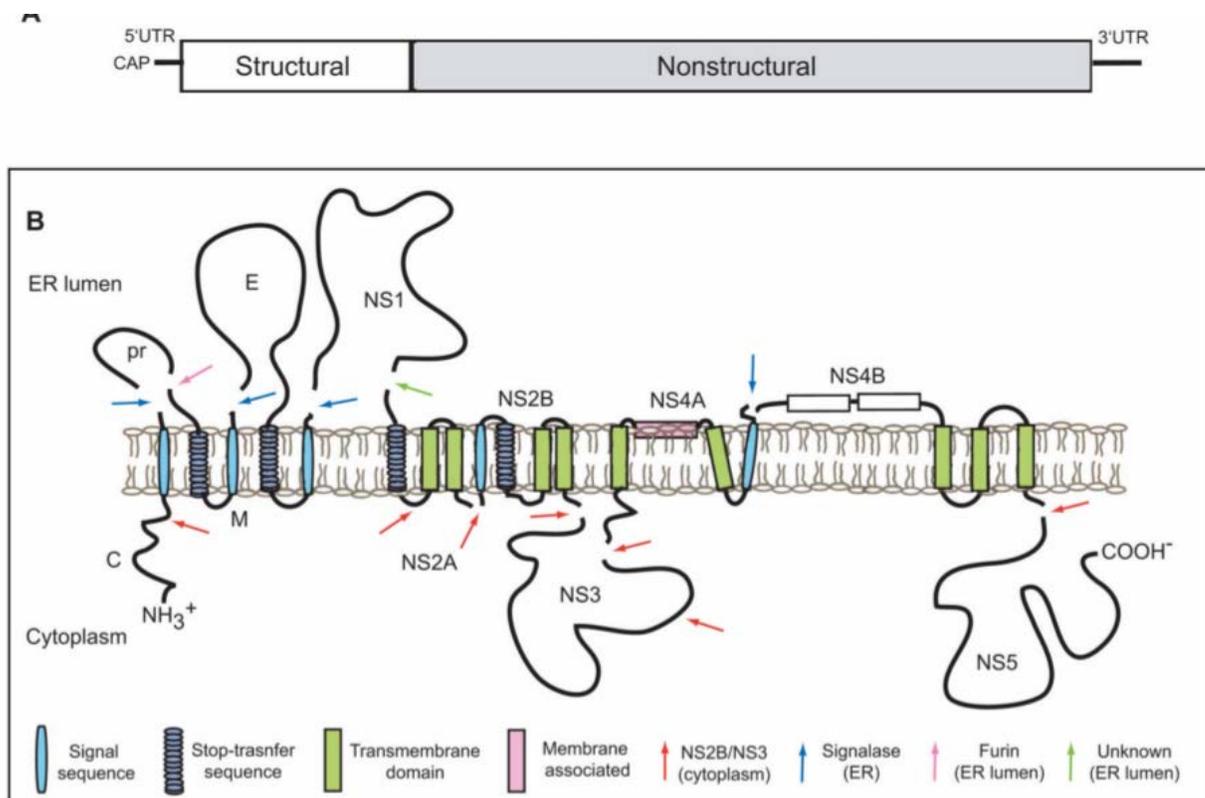


Figura 1. Genoma viral Dengue (Perera y Kuhn, 2008)

4.2.2. Replicación y ensamblaje de las partículas virales.

Una representación esquemática del genoma viral y traducción de las proteínas virales están descritas en la figura 2. Después de que el virus entra a la célula y se desnuda del genoma viral. Durante este proceso, la señal de la poliproteína dirige su traslocación a través de la membrana del retículo endoplasmático (RE). La poliproteína es procesada post-traduccionamente por las proteasas virales y celulares en tres proteínas estructurales (C, prM y E) y siete no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5). La proteína E tiene glicosilados los residuos Asn67 y Asn153 para asegurar un adecuado plegamiento de la proteína (Modis *et al.*, 2003; Bryant *et al.*, 2007).

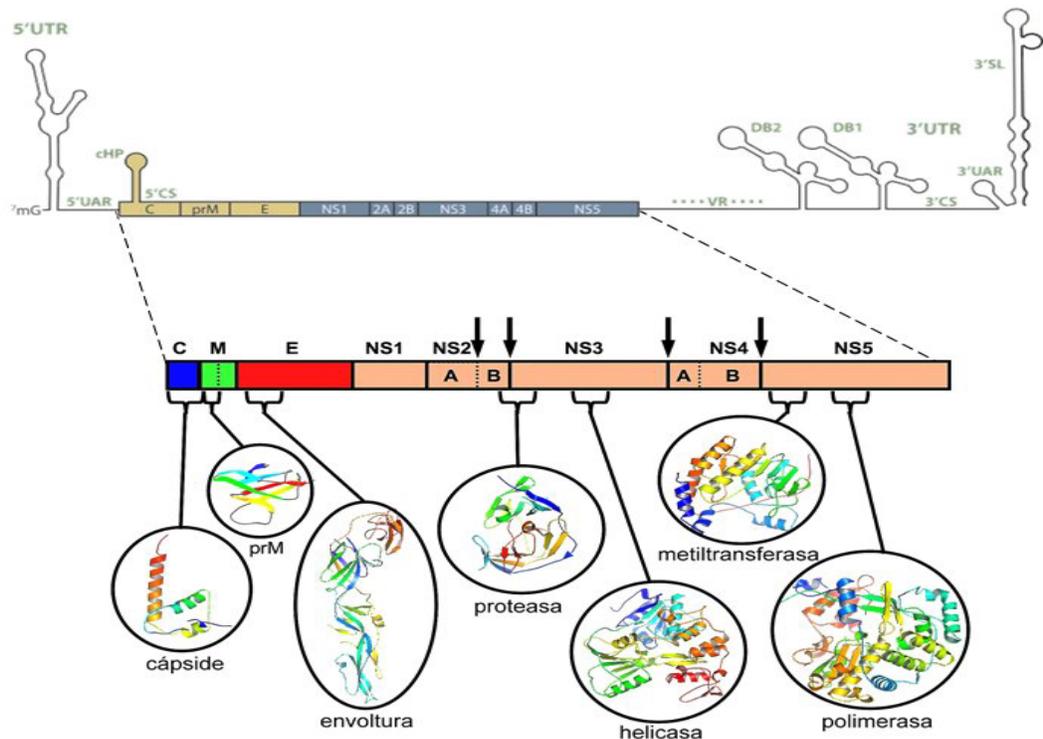


Figura 2. Estructura del genoma viral del dengue y sus productos proteicos (Clyde *et al.*, 2006).

Sobre la traducción, las proteínas no estructurales (NS) inician la replicación del genoma viral. De éstas, las mejor caracterizadas son la NS3, su cofactor NS2B y la NS5. La NS3 alberga dominios catalíticos, incluyendo serin-proteasas, los cuales requieren el cofactor NS2B (Arias *et al.*, 1993; Falgout *et al.*, 1991). También exhibe función helicasa requeridas para la síntesis del RNA viral (Li *et al.*, 1999), así como de actividad 5' trifosfatasa, el cual es el primer paso en la metilación de los RNA mensajeros (Bartelma & Padmanabhan, 2002). La proteína NS5 sirve como la RNA polimerasa viral dependiente de RNA (Nomaguchi *et al.*, 2003), así como metiltransferasa, otra enzima esencial en la metilación del RNA mensajero (Clyde *et al.*, 2006).

4.3 Distribución de serotipos

Actualmente el análisis del genoma de los serotipos virales ha sido la pieza central de los estudios en la evolución y epidemiología del dengue. En particular, cada uno de los serotipos presenta diversidad genética extensa en forma de clúster filogenéticamente relacionados que se han denominado genotipos, aunque no se ha descrito un criterio específico para definir cada uno de ellos (Ricco-Hesse, 1990).

Los genotipos se han definido dependiendo de la región geográfica que ocupan: americano, asiático/americano, asiático I, asiático II y cosmopolita. Sumado a esto se ha reportado que la posibilidad de la sustitución del genotipo viral circulante en una población por uno distinto pudiera ser la causa de los brotes epidémicos reemergentes (Messer, 2003) (Figura 3).

4.3.1. Variación de Virus Dengue entre serotipos

La microevolución dentro de los serotipos de DENV ha sido detectada por una variedad de técnicas. Y han sido divididos los serotipos en agregados llamados

topotipos, genotipos o subtipos dependiendo de los autores y métodos usados. Rico-Hesse (1990), secuenció 40 aislados virales de DENV-1 de diferentes zonas tropicales, encontrando 5 genotipos con un 6% de divergencia, esto fue confirmado cuando Goncalvez *et al.*, (2002), realizó la secuenciación de 44 cepas también de zonas tropicales y encontró esos mismos 5 genotipos con 6% de divergencia. Respecto al serotipo 2, Carrillo *et al.*, (2010) secuenció 37 aislados de la República Mexicana, clasificando 6 genotipos con un 10% de divergencia. En cuanto al serotipo 3, Uzcategui *et al.*, (2003) secuenció 15 aislados virales de Venezuela, y clasificó 5 genotipos con 8% de divergencia. El serotipo 4 fue clasificado por Lanciotti *et al.*, (1997), encontrando 4 genotipos con 8% de divergencia (Figura 4)



Figura 3. Distribución geográfica de los distintos genotipos

Actualmente el análisis del genoma de los serotipos virales ha sido la pieza central de los estudios en la evolución y epidemiología del dengue. En particular, cada uno de los serotipos presenta diversidad genética extensa en forma de clúster

filogenéticamente relacionados que se han denominado **genotipos**, aunque no se ha descrito un criterio específico para definir cada uno de ellos (Carrillo *et al.*, 2010).

Serotipo 1	Serotipo 2	Serotipo 3	Serotipo 4
I	Asiático/Americano	I	I
II	Asiático I	II	II
III	Asiático II	III	III
IV	Cosmopolitano	IV	Selvático
V	Selvático	V	

Figura 4. Clasificación de Serotipos y genotipos del Virus Dengue.

4.4 Casos de Dengue en México

En el 2009, el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica (CENA VECE) registró el número más alto de casos de Dengue Clásico (44,565) y Hemorrágico (11,396) en los últimos 10 años: 55,961 casos totales (con 96 defunciones). Durante el 2010, se registraron 30,156 casos de Fiebre Dengue y 6,548 Fiebre Dengue Hemorrágica, con 62 defunciones, circulando los 4 serotipos registrados. En el 2011, se reportaron 15,578 casos de los cuales 10,970 se clasificaron como Fiebre dengue y 4,608 FDH, con 36 defunciones. En cuanto al 2012, se dio un marcado incremento en los casos cerrando el año con 50,368 casos de los cuales 32,662 se diagnosticaron como Fiebre por Dengue y 17,706 como Fiebre Hemorrágica por Dengue, con 64 muertes. Esto nos habla de la gravedad de esta enfermedad y representa una amenaza para la

salud pública de México. Una explicación es la falta de investigación sobre la epidemiología molecular de los virus circulantes en el país y su asociación con poblaciones genéticamente aisladas del vector *Ae. aegypti* (CENAVECE, 2012).

4.5. *Ae. aegypti* como vector

4.5.1. Oviposición y hábitats larvarios

Aunque estos pueden ser hábitats naturales, como bromelias y agujeros de árboles, entre otros, los contenedores artificiales representan el hábitat larvario más común para *Ae. aegypti* (Rodhain & Rosen, 1997). Los hábitats más comúnmente citados son contenedores de almacenaje de agua (tanques, cisternas, tarros, barriles, cubos, etc.), sin embargo, existen contenedores más pequeños como floreros, latas, botellas, neumáticos, carros chatarra, cubos, tinas, cazuelas, contenedores plásticos, muebles, juguetes, llantas, etc (Focks *et al.*, 2003). Cada vez más, *Ae. aegypti* está siendo encontrado en sitios no tradicionales o atípicos, como charcos sobre pisos de cemento, lonas plásticas, canales de lluvias, alcantarillado, tanques de salida de alcantarilla, pozos, fosas sépticas, y otros sitios subterráneos (Morrison *et al.*, 2004b). En muchos casos estos sitios atípicos producen gran un número de adultos de *Ae. aegypti* y a menudo plantean desafíos de control porque no son fáciles para eliminar o tratar con larvicidas. Estos sitios también indican que *Ae. aegypti* no siempre prefiere el agua limpia, los sitios de desarrollo larvario varían según las condiciones locales. Los huevos, que son sumamente resistentes al desecamiento, son puestos encima de la línea de agua e incuban sólo cuando los niveles del agua se elevan; es un mecanismo de supervivencia evidente que aumenta la probabilidad para la metamorfosis completa. La capacidad de los huevos para permanecer disecados durante meses representa un desafío particular para controlar. El desarrollo de larva a adulto es dependiente de la

temperatura así como de los recursos alimenticios en el ambiente acuático (Focks *et al.*, 1993a). Por ejemplo, la duración de etapas larvales puede extenderse de 7 a 9 días y el de pupa de 2 a 3 días en temperaturas de 25 ° C (Rodhain & Rosen, 1997). En *Ae. aegypti* la densidad larvaria es regulada principalmente por la competencia intraespecífica para el alimento (Southwood *et al.*, 1972); La mortalidad larval puede ser alta en condiciones naturales, mientras que la mortalidad de pupa que no se alimentan es baja. Cuando los recursos de alimentos son limitados o la temperatura es baja, el desarrollo puede reducir la marcha o detenerse hasta que las condiciones se presenten favorables nuevamente (McDonald *et al.*, 1977).

4.5.2. Comportamiento adulto

La asociación entre *Ae. aegypti* y las personas es fundamental ya que la transmisión se hace más eficiente para el Dengue. Es sumamente antropofílico (>95 %), las hembras y machos descansan dentro de casas donde se alimentan con frecuencia (varias veces durante un solo ciclo gonotrófico) y preferencialmente de las personas (Scott *et al.*, 2000). *Ae. aegypti* es principalmente un picador diurno, por lo general con dos picos de actividad, uno a media mañana y el otro a última hora de la tarde (Rodhain & Rosen, 1997), pero el modelo se cambia por el comportamiento humano incluyendo la creciente disponibilidad de luz artificial y el trabajo fuera de casa durante el día, y no excluye alguna noche picando (Chadee & Martínez, 2000). Las hembras raras veces se dispersan más allá de 100m por alimento, ya que los sustratos para Oviposición están disponibles dentro de las viviendas donde ellos residen; el vuelo ampliado no es necesario y raras veces es descubierto (Harrington *et al.*, 2005). La fecundidad de una hembra *Ae. aegypti* dependerá del tamaño, la temperatura ambiente, y la disponibilidad de alimento además de los sitios de oviposición (Focks *et al.*, 1993a). La disponibilidad

de sitios de oviposición puede influir en el comportamiento desde que pone huevos, hasta causar la retención del mismo (Chadee *et al.*, 1997). Cuando los sitios de Oviposición son raros, hay aumentos de retención de los huevos y las hembras tienden a ponerlos en un determinado lugar; en contraste cuando los sitios son el objeto expuesto se lleva a cabo la distribución de huevos con múltiples sitios (Corbet & Chadee 1993; Colton *et al.*, 2003). También hay pruebas que indican que la indisponibilidad de sitios de oviposición estimula el aumento de la dispersión de las hembras (Reiter *et al.*, 1995). Aunque los adultos no vuelan grandes distancias, *Ae. aegypti* se transporta largas distancias vía coche, camión, barco, tren, y hasta avión parecen ser relativamente comunes (García-Franco *et al.*, 2002). Los sitios de descanso preferidos de adulto *Ae. aegypti* son lugares oscuros asociados a casas, sobre todo armarios, cuartos de baño, y muebles bajos.

Asumiendo que la mortalidad es independiente de la edad, la vida útil de las hembras, se estima, que es aproximadamente de 8 a 15 días y para machos de 3 a 6 días (Rodhain & Rosen, 1997), por lo general es expresada como la tasa de supervivencia de 24-hr. Las tasas de supervivencia diarias sólo pueden ser estimadas indirectamente y de forma diversa siendo encontradas del 55 al 90% (Harrington *et al.*, 2005).

La supervivencia adulta, el tiempo de desarrollo de huevo, y la frecuencia de alimentación es dependiente de temperaturas (Focks *et al.*, 1993a; Scott *et al.*, 2003). Aunque, la supervivencia adulta probablemente sea afectada por la exposición a patógenos, depredadores, humedad, precipitación, factores exógenos mal estudiados, estudios recientes en campo (Harrington & Scott *et al.*, 2001a) y laboratorio se manifestaron que la mortalidad adulta es dependiente de la edad.

4.5.3. Capacidad del vector

Poco se conoce sobre la magnitud de viremia necesaria para infectar a *Ae. aegypti* en la naturaleza (Rodhain & Rosen, 1997) y hay variabilidad claramente genética en la sensibilidad entre diferentes las poblaciones de orígenes geográficos. En general esperan que dosis virales más altas sean más infectivas. La resistencia relativa de *Ae. aegypti* a la infección con virus del dengue podría favorecer la propagación de cepas víricas que producen altas viremias y puede correlacionarse con severas manifestaciones clínicas (Rodhain & Rosen, 1997). La transmisión vertical del virus del dengue y virus de la fiebre amarilla ha sido demostrada en laboratorio. Las tasas de infección filiales (por ejemplo el porcentaje de progenie infectada) varían según la especie del mosquito y la cepa del virus, pero tienden a ser relativamente bajas, sobre todo para *Ae. aegypti*. Una tasa del 0.015% fue observada entre 5 cepas diferentes de *Ae. aegypti* en hembras F1 (Rosen *et al.*, 1988).

4.5.4. Capacidad Vectorial

Aunque sea menos susceptible a la infección el virus del dengue que otra especie, *Ae. aegypti* es un vector sumamente eficiente debido a que se alimenta de sangre, (Rodhain & Rosen, 1997) así como el comportamiento y la asociación cercana con poblaciones humanas. La alimentación sólo con sangre humana le confiere una ventaja de salud (Morrison *et al.*, 1999; Harrington *et al.*, 2001a). Ha sido difícil mostrar las asociaciones entre la transmisión dengue y la densidad del vector así como las fluctuaciones estacionales en la supervivencia adulta o frecuencia alimenticia. Sin embargo, se ha mostrado que la transmisión de virus puede ocurrir en muy baja densidad en *Ae. aegypti* la cual está asociada con la transmisión del virus (Kuno, 1998) y espera que umbrales entomológicos para virus del dengue sean bajos (Focks *et al.*, 2000; Scott

et al., 2000). Un múltiple comportamiento de alimentación de *Ae. aegypti* aumenta las tasas de contacto con anfitriones infectados, y es la explicación de porque este mosquito es un vector tan excepcionalmente eficiente aún en bajas densidades (Scott *et al.*, 1993).

4.5.5. Importancia de la detección de serotipos circulantes

La detección y serotipificación del virus del Dengue en las poblaciones del mosquito vector en regiones donde la enfermedad es hiperendémica, puede servir como un sistema de alerta temprana que ayude a monitorear las tasas de infección de los diferentes serotipos dentro de las poblaciones vectoriales, para predecir epidemias tanto de FD, como de FHD a causa de la circulación concomitante de diferentes serotipos (Chung *et al.*, 2001; Philip & Tyagi, 2006). También puede complementar la vigilancia virológica durante los periodos inter e intraepidémicos (Chow *et al.*, 1998; Sithiprasasna *et al.*, 2004). Este tipo de análisis permite posicionar el vector como el elemento primario y necesario en el ciclo de transmisión durante las evaluaciones epidemiológicas (Liotta *et al.*, 2005).

4.6 Distribución geográfica

Es de dominio universal el conocimiento de que el *Ae. aegypti* tiene una distribución muy amplia y estable entre los trópicos y zonas subtropicales; tiene, además, una preferencia doméstica en su ciclo de vida, por lo que su adaptabilidad es muy grande hacia los diferentes escenarios que el humano hace en sus viviendas; muy difundido en áreas con características urbanas, aunque también se encuentra en áreas rurales. Se distribuye en forma permanente entre los 35° de latitud norte y 35° de latitud sur pero puede extenderse hasta los 45° norte y hasta los 40° sur, donde coinciden con una isoterma de 10 °C en verano, la altitud promedio en donde se encuentra es por

debajo de los 1,200 metros, aunque se ha registrado alturas de alrededor de los 2,400 metros sobre el nivel del mar en África. Sus condiciones mínimas de sobrevivencia y su resistencia a diferentes eventos adversos, como la desecación y la inanición, lo hace un mosquito de presencia muy común y continua, así como de elevadas densidades poblacionales durante las épocas lluviosas con temperatura y humedad estables (Nelson, 1986; Suarez & Nelson 1981; Christophers, 1960).

4.7 Ciclo biológico

La especie es predominantemente doméstica, prolifera en recipientes artificiales o naturales que se encuentran en las viviendas o en sus alrededores, únicamente las hembras son hematófagas, se alimentan de sangre humana o de los animales domésticos que detectan por estímulos visuales, movimientos, tamaño, olor, humedad, temperatura, concentración de CO₂, entre otros. Esta sangre les es necesaria para desencadenar la maduración de sus óvulos y de esta forma puedan producir los huevos. Rara vez se encuentran a más de 100 metros de la vivienda humana (Martínez, 1987).

Los cambios morfológicos que tiene que experimentar *Ae. aegypti* a través de toda su vida son complejos, el hecho de tener que vivir en el agua cierto tiempo y luego desplazarse al ambiente aéreo requieren desde aparatos bucales diferentes (masticador como larva y picador chupador como adulto hembra) hasta formas de locomoción totalmente opuestas; movimientos natatorios de su cuerpo en el agua y presencia de un par de alas para vuelo horizontal, vertical y a diferente velocidad.

Las fases del ciclo de vida de *Ae. aegypti* son: huevo, larva (cuatro mudas con sus cuatro estadios respectivos), pupa y adulto diferenciado en sexos como hembra y macho (Chapman, 1982)

4.7.1. Huevos

Los huevos de *Ae. aegypti* miden aproximadamente un milímetro de longitud, son depositados uno a uno al ras del agua quedando adheridos a las paredes del recipiente. En el momento de la postura los huevos son blancos, cambian rápidamente a color negro. Completo el desarrollo embrionario, el embrión dentro del huevo es capaz de resistir largos períodos de desecación por meses o hasta por más de un año, al volver a tener contacto con el agua la acción bacteriana de la materia orgánica disminuye la tensión de oxígeno estimulando la eclosión en tan sólo alrededor de 15 minutos (Nelson, 1986).

4.7.2. Larva

Las larvas y pupas de *Ae. aegypti* son acuáticas, y como en la mayoría de los insectos holometábolos, los estadios larvales son el período de crecimiento y desarrollo. Las larvas se alimentan prácticamente durante todo el día de cualquier materia orgánica acumulado en las paredes y en el fondo del recipiente, utilizan sus sedas bucales que tienen forma de abanico (Nelson, 1986).

La duración del desarrollo larval está en función de la temperatura, la disponibilidad de alimento y la densidad de larvas en el criadero.

En condiciones óptimas, el período larval desde la eclosión hasta la pupación puede ser de cinco días, pero por lo regular ocurre de siete a catorce días. Las larvas y las pupas de los machos se desarrollan más rápido que las hembras para garantizar la fecundación (Nelson, 1986).

4.7.3. Pupa

Las pupas no se alimentan. Su función es la metamorfosis del estadio larval al adulto. Las pupas de los mosquitos son diferentes a las de otros insectos holometábolos por presentar reacciones inmediatas a estímulos externos tales como vibraciones y cambios en la intensidad de la luz, desplazándose activamente por todo el criadero. El estadio de pupa dura aproximadamente dos o tres días, emergiendo alrededor del 88% de los adultos en cuestión de 48 horas (Méndez *et al.*, 1996).

4.7.4. Adultos

La función más importante del adulto de *Ae. aegypti* es la reproducción. En la mayoría de los insectos voladores, inclusive otras especies de mosquitos, el adulto también hace la labor de dispersión de la especie. Sin embargo, para *Ae. aegypti* el transporte pasivo de huevos y larvas en recipientes ha tenido mayor trascendencia en su distribución en la que el hombre ha participado en forma determinante en comparación con la dispersión activa propia de la especie (Nelson, 1986) (Figura 5).

Al emerger, el mosquito adulto antes de 24 horas ambos sexos están listos para el apareamiento, alrededor del 58% de las hembras nulíparas son inseminadas antes de su primera alimentación sanguínea, un 17% durante y el 25% es inseminada entre la segunda alimentación y la primera oviposición; los machos rondan como voladores solitarios aunque es más común que lo hagan en grupos pequeños son atraídos por los mismos huéspedes vertebrados que las hembras. (Bates 1970; Kettle 1993)

Las hembras se alimentan de sangre de cualquier vertebrado, por sus hábitos domésticos muestran marcada predilección por la del hombre (Nelson, 1986). Los picos

de alimentación ocurren principalmente durante el día registrando mayor actividad en la primera hora de haber amanecido y una hora antes del anochecer (Fernández, 2009).

Es común que después de cada alimentación sanguínea la hembra desarrolle un lote de huevos, la primera generación de óvulos requiere por lo menos dos alimentaciones sanguíneas para su maduración, aunque *Ae. aegypti* suele alimentarse más de una vez entre cada postura, es decir por alimentaciones múltiples, especialmente si es perturbada antes de estar completamente satisfecha con dos a tres miligramos de sangre, mientras se alimenta desecha gotas de un fluido claro (Nelson 1986; Kettle 1993).

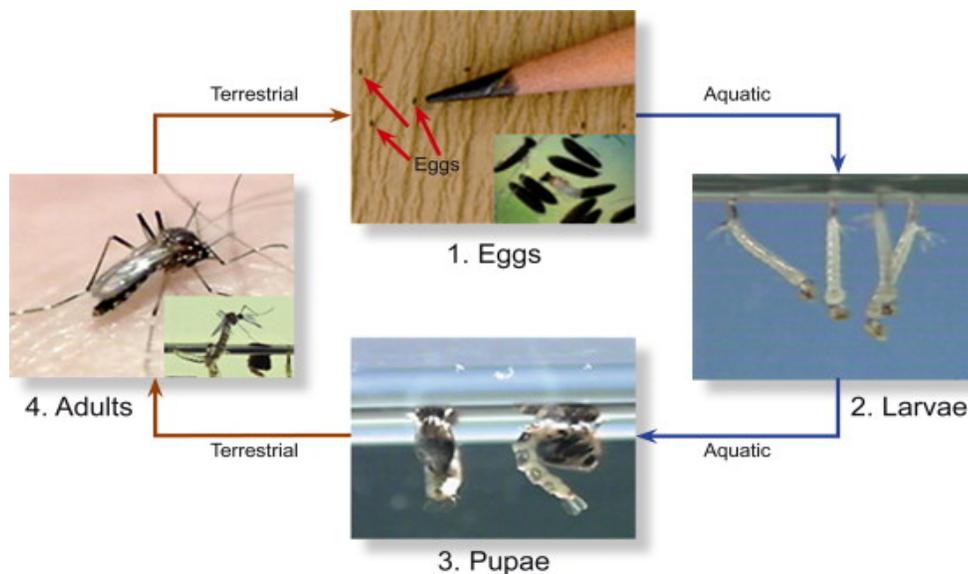


Figura 5 Ciclo Biológico de *Ae. aegypti*. 1) Huevo, 2) Larva, 3) Pupa, 4) Adulto. Línea azul: Fase acuática. Línea roja: Fase terrestre. (Urdaneta & Failloux, 2011)

4.7.5. Ciclo gonotrófico

Por lo general, el intervalo de tiempo que transcurre entre la alimentación sanguínea y la postura (ciclo gonotrófico) es de 48 horas en los trópicos bajo condiciones óptimas de temperatura. Llega a ocurrir alimentación de nueva cuenta el

mismo día en que se ponen los huevecillos. La mayoría de las posturas ocurre cerca del crepúsculo. La hembra grávida prefiere los recipientes oscuros o sombreados que contienen agua relativamente limpia, clara y transparente. Los huevos quedan adheridos a las paredes del recipiente en la zona húmeda justamente encima de la superficie del agua; la hembra suele distribuir los huevos de un mismo ciclo gonotrófico en varios recipientes (Nelson, 1986).

4.8 Enfermedad.

Los cambios en la epidemiología del Dengue conducen a problemas con el uso de la actual clasificación de la OMS. Las infecciones sintomáticas por el virus del Dengue se agruparon en tres categorías: fiebre indiferenciada, fiebre por Dengue y fiebre hemorrágica por Dengue. Además, esta última se clasificó en cuatro grados, según su gravedad, en donde los grados III y IV corresponden al síndrome de choque por Dengue (OMS, 1997). Ha habido muchos informes sobre dificultades en el uso de esta clasificación (Deen *et al.*, 2006) (Figura 6).

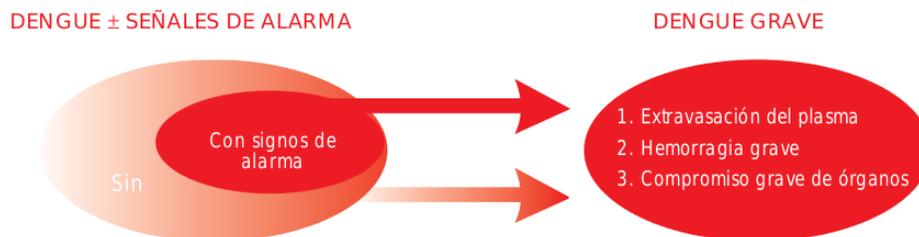


Figura 6. Clasificación de casos de dengue sugerida y niveles de gravedad (OMS, 2009)

Las dificultades en la aplicación de los criterios clínicos para la fiebre hemorrágica por Dengue, junto con el aumento en los casos de Dengue clínicamente graves que no cumplen con los estrictos criterios para ese diagnóstico, llevaron a

solicitar que se reconsiderara la clasificación. La OMS (2009) ha sugerido una nueva clasificación de los casos de dengue y su nivel de severidad (Figura 6).

4.8.1. Fiebre por dengue (FD)

Es todo paciente con enfermedad febril aguda caracterizada por dos o más de las manifestaciones siguientes: cefalea generalmente frontal, dolor retro orbitario, mialgias, artralgias, exantema y la presencia simultánea en la zona de otros casos confirmados de Dengue (OMS, 1997).

4.8.2. Fiebre hemorrágica por dengue (FHD)

Incluye todos los siguientes criterios: fiebre o antecedente de fiebre, presencia de hemorragia evidenciada por la prueba del torniquete positiva, petequias, equimosis, púrpura y/o sangrado de mucosas, del tracto gastrointestinal, sitios de inyecciones u otras, acompañado de trombocitopenia igual o menor a $100,000/\text{mm}^3$, señales de extravasación de plasma y de incremento en la permeabilidad vascular (derrame pleural, ascitis). Así como la presencia de hemoconcentración manifestada por un incremento en el hematocrito mayor de 20% (OMS, 1997).

4.8.3. Síndrome de Shock por Dengue (SSD)

Incluye los criterios de la fiebre hemorrágica más la presencia de hipotensión arterial, pulso rápido y débil, extremidades frías. La clasificación de la FHD según su gravedad:

- **Grado I:** Fiebre acompañada de síntomas generales no específicos, prueba del torniquete positiva, trombocitopenia y hemoconcentración.
- **Grado II:** Las manifestaciones del grado I más la presencia de hemorragia espontánea.

- **Grado III:** Insuficiencia circulatoria que se manifiesta por pulso rápido y débil, disminución del intervalo de la presión diastólica/sistólica a menos de 20 mmHg, hipotensión, piel húmeda y fría, cianosis e inquietud.
- **Grado IV.** Estado de choque profundo con presión sanguínea y pulso imperceptible (OMS, 1997).

4.9. Epidemiología

4.9.1. Distribución geográfica

4.9.2. Nivel Mundial

En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con la creciente expansión geográfica hacia nuevos países y, en la actual década, de áreas urbanas a rurales. Es considerada como la enfermedad más común transmitida por artrópodos (arbovirosis); de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen entre 30 y 60 millones de infecciones por año en el mundo, con miles de muertes en más de 100 países y aproximadamente 2.5 mil millones de personas viven en países con Dengue endémico (OMS, 2009).

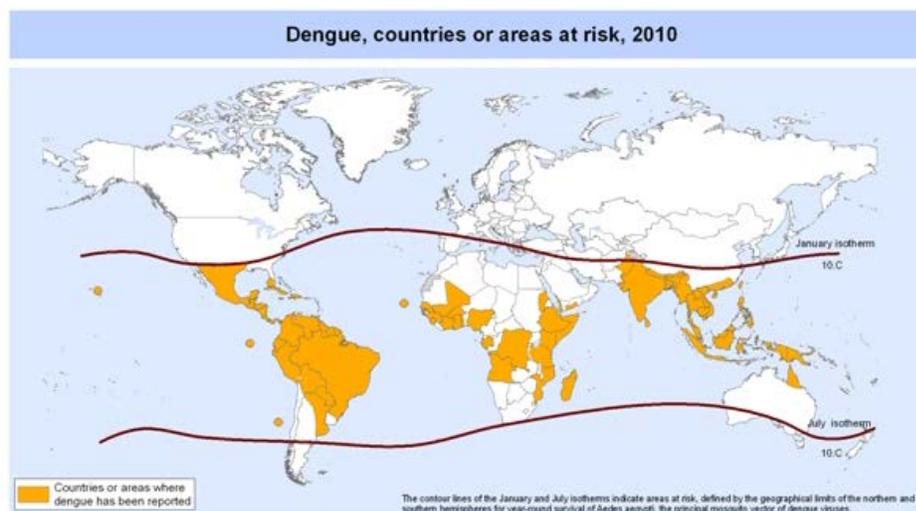


Figura 7. Países en riesgo de Dengue, 2010 (OMS, 2010)

La Asamblea Mundial de la Salud de 2005, (Reglamento Sanitario Internacional, RSI), incluye el Dengue como ejemplo de una enfermedad que puede constituir una emergencia de salud pública de interés internacional con implicaciones para la seguridad sanitaria, debido a la necesidad de interrumpir la infección y la rápida propagación de la epidemia más allá de las fronteras nacionales (OMS 2009) (Figura 7)

4.9.3. México

El Dengue reingresó a finales de los años setenta a México y se extendió por todo el país. En la actualidad presenta variaciones anuales en su incidencia y brotes epidémicos de diferentes magnitudes, en particular en los estados de la Región sureste y costas del Océano Pacífico y Golfo de México, con eventos epidemiológicos más esporádicos en los estados del centro y norte del país (SSA, 2009).

El comportamiento de la transmisión denota aumentos anuales progresivos, con repuntes en el segundo semestre de cada año. No obstante, en México se observan incrementos en la transmisión al inicio de cada ciclo anual (SSA, 2009).

4.9.4. Seroepidemiología en México

Posterior a la reintroducción del Dengue en el territorio nacional a fines de los años setenta, y de acuerdo a la información proporcionada por el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica, el serotipo 1 fue identificado hasta 1982 en Veracruz, en tanto que el serotipo 2 se identificó en Guerrero en 1983, mismo año en que se aisló el serotipo 4 en Oaxaca (SSA, 2009).

En el 2006 se aislaron los cuatro serotipos: DENV-1 (53%), DENV-2 (8%), DENV-3 (27%) y DENV-4 (12%) (SSA, 2009).

4.9.5. Transmisión

Se transmite mediante la picadura de la hembra del mosquito *Ae. aegypti* infectada. Para que el mosquito transmita la enfermedad debe estar afectado con el agente etiológico: el virus del dengue. La infección se produce cuando el mosquito pica a una persona enferma y capta el virus, y después pica a otra sana (hospedador) y se lo trasmite (CDC, 2010).

Una característica particular es que *Ae. aegypti* puede interrumpir su alimentación y reiniciar picando a la misma persona u otra. Este comportamiento incrementa el riesgo de transmisión del virus del Dengue debido a que un mosquito infectado puede picar a más de dos personas para completar su alimentación. (Scott *et al.*, 1993).

4.9.6. Periodo extrínseco de incubación

Es el intervalo de tiempo entre la infección del vector y la transmisión del virus por el mismo, cuando éste todavía está afuera del hospedero. Se ha reportado que el periodo extrínseco de incubación (PEI) está en el rango entre d 10-14 días (Siler *et al.*, 1926).

Inmediatamente después que un mosquito hembra toma una alimentación de sangre de una persona infectada con dengue, se infecta con el virus en las células epiteliales del intestino.

Alrededor de 8-10 días después, el virus se esparce a otros tejidos incluyendo las glándulas salivales y subsecuentemente se libera a la saliva. El virus parece que no tienen un efecto perjudicial sobre el mosquito, el cual permanece infectado de por vida (Gubler, 2010)

4.9.7. Periodo intrínseco de incubación

Es el tiempo desde la infección con el virus hasta el inicio de los síntomas en el hospedero humano. El periodo intrínseco de incubación (PII) promedia entre los 4.5 y 7 días, con un pequeño número de casos que exceden los 10 días, y la viremia puede sobrevenir de 6-18 horas antes del inicio de la fiebre. La viremia sintomática aparece a los 4-5 días, pero puede extenderse hasta los 12 días (Siler *et al.*, 1926).

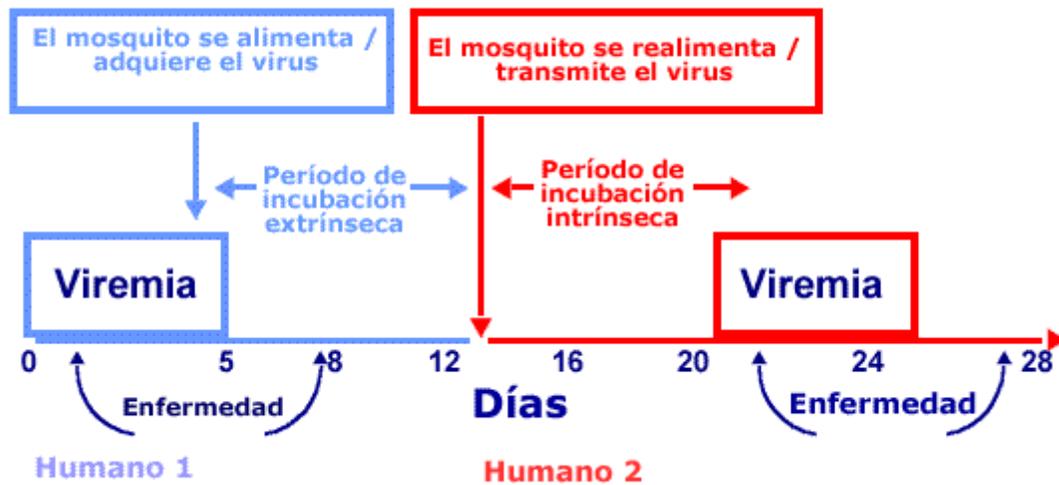


Figura 8. Transmisión del virus Dengue por *Ae. aegypti*

4.9.8. Factores involucrados en las epidemias de Dengue

4.9.8.1. Factores relacionados al mosquito

Densidad de mosquitos requeridos para la transmisión. La densidad mínima de *Ae. aegypti* que permite la transmisión del virus se ha debatido por mucho tiempo y aún no hay un dato en específico. Por ejemplo, durante un brote de fiebre amarilla en Quito, el Índice de Casa (IC) fue de 5 (Smith, 1951). Sin embargo, en Singapur, donde la densidad del vector se ha mantenido con un Índice de Casa de menos de 1 por muchos

años, las infecciones por dengue ocurrieron sobre un periodo largo de tiempo (Chan, 1985).

Heterogeneidad espacial. Particularmente en Norte y Sur América, las infestaciones de *Ae. aegypti* no están uniformemente presentes a lo largo de las áreas residenciales. Esto explica por qué los brotes epidémicos son dispersos y no uniformes (Favier *et al.*, 2006).

4.9.8.2. Factores ambientales

Efecto de la temperatura y la precipitación. Los cambios de las poblaciones de *Ae. aegypti* pueden correlacionarse con varios fenómenos climatológicos. La variabilidad diaria, estacional e interanual en la temperatura, humedad atmosférica y la precipitación pueden influenciar las poblaciones de mosquitos y la competencia vectorial en una variedad de maneras. La transmisión del dengue es casi siempre estacional; los casos se incrementan durante la estación cálida y lluviosa (Halstead, 2008b).

Temperatura. Temperaturas cálidas y alta humedad contribuyen a un incremento en la sobrevivencia de adultos. Además, acortan el ciclo gonotrófico y el periodo extrínseco de incubación (Yasuno & Tonn, 1970).

Precipitación. Hay dos ejemplos que ilustran roles contradictorios de precipitación sobre las poblaciones de *Ae. aegypti*. En un estudio de 1966 a 1968 en un templo budista en Tailandia, se encontró la presencia constante de criaderos de *Ae. aegypti* debido a que los criaderos eran manualmente llenados y no tenían influencia de la precipitación (Pant & Yasuno, 1973). En contraste, en un estudio conducido en Bangkok (1962), se observó que la población de hembras *Ae. aegypti* se hizo presente

con el comienzo de la estación lluviosa y anticiparon la curva de hospitalización de FDH por dos meses (Halstead, 2008b).

Variación climática global y el calentamiento global. Los datos que apoyan que una influencia en variaciones climáticas interanuales, como El Niño, y del calentamiento global en la transmisión del dengue no son convincentes. La transmisión del dengue está muy relacionada con la pobreza urbana, la falta de agua entubada universal y de aire acondicionado (Halstead, 2008b)

4.9.8.3. Factores relacionados al humano

Número básico de reproducción. El número básico de reproducción, R_0 , es el número de infecciones secundarias que resultan de un único humano infectado. A mayor número básico de reproducción, mayor es la explosión de la transmisión. Las enfermedades con altos números están caracterizadas con umbrales bajos de inmunidad de grupo (Fine, 1993). Los números básicos de reproducción estimados para dengue están en el rango de 1.33 y 11.6. Las grandes variaciones en este valor se deben a que muchas de estas mediciones sufren de limitaciones en los datos o metodologías epidemiológicas, entomológicas o serológicas (Halstead, 2008b).

Título de la viremia. Un punto crucial para la transmisión exitosa es la cantidad de virus en la sangre. Sin embargo, el umbral virémico necesario para la transmisión del virus dengue es desconocido. La duración de la viremia puede estar en función de la dosis viral administrada por los mosquitos infectados (Nishura & Halstead, 2007).

Transmisión doméstica. Una vez que un mosquito infectivo entra a una casa o el miembro de una hogar resulta infectado, la probabilidad de múltiples infecciones en los

hogares se incrementa y puede resultar en infecciones de dengue agrupadas (Neff *et al.*, 1967).

Dispersión del virus. La dispersión del virus dengue es principalmente por acción humana. Los humanos virémicos son las fuentes más probables de importación del virus a lo largo del mundo. Se ha demostrado en países endémicos, ondas progresivas de casos con una periodicidad de hasta tres años entre grandes brotes, así como un patrón de predominancia sucesiva de diferentes serotipos (Cummings *et al.*, 2004).

Re infección. La observación epidemiológica más fundamental relacionada al FHD y SSD es que ocurren regularmente en localidades donde dos o más serotipos del dengue están simultáneamente, o en epidemias secuenciales. En estas localidades, FHD y SSD ocurren en dos grupos inmunológicos: a) en individuos de un año o más quienes han sido infectados con dos o más serotipos de dengue diferentes en intervalos de al menos un año hasta 20 años, y b) en áreas hiperendémicas, con individuos menores de un año quienes adquirieron anticuerpos pasivamente (leche materna de madres que ya habían sido infectadas) y quienes son infectados con el virus del dengue por primera vez, siempre y cuando los serotipos que hayan infectado, tanto a la madre como al bebé, hayan sido diferentes (Halstead, 2008a). Las segundas infecciones con dengue se han asociado con grandes y brotes de FHD/SSD (Kouri *et al.*, 1986).

Edad. Se ha observado que los niños más jóvenes son más susceptibles que los niños más grandes y adultos a la permeabilidad vascular durante una segunda infección de Dengue (Guzman *et al.*, 2002).

Inmunidad de grupo. Es el máximo nivel de inmunidad en el cual la transmisión es eliminada en una población determinada. Permite conocer nivel deseado de inmunización (mediante la vacunación) de una población ante un agente infeccioso. (Halstead, 2008a).

4.9.8.4. Factores relacionados al virus

Diferentes cepas del mismo serotipo del virus parecen variar en su capacidad de causar una enfermedad manifiesta o infecciones aparentes. Las infecciones primarias con el virus DENV-2 genotipo Nueva Guinea y con el virus DENV-2 genotipo cosmopolita produjeron solamente FD y en contraste, la infección primaria con el virus DENV-2 genotipo III no causó una enfermedad (Guzman *et al.*, 1990). Sin embargo, la infección secundaria con el virus DENV-2 genotipo Americano causó una epidemia con casos severos de FDH (Watts *et al.*, 1999).

Si los factores virológicos están involucrados, es muy probable que residan en las características antigénicas en común entre los virus de la primera y segunda infección. Un ejemplo es la neutralización del virus DENV-2 genotipo Americano por anticuerpos para DENV-1. Estos resultados sugieren que la baja virulencia del DENV-2 genotipo Americano resultó de una similitud en los epítopes superficiales de DENV-1, que permitió la neutralización parcial y la reducción de la enfermedad por los anticuerpos anti-DENV-1 (Kochel *et al.*, 2002).

4.9.9. Sistemas de vigilancia

4.9.9.1. Vigilancia epidemiológica

Se fundamenta en la detección pasiva de casos clínicos que se presentan a consulta en los sistemas oficiales de salud sobre todo a nivel hospitalario (Chairulfatah

et al., 2001; Kurukumbi *et al.*, 2001), los cuales son inmediatamente sometidos a un análisis serológico (determinación de anticuerpos *IgM* e *IgG*) o molecular (*RT-PCR*) y a un estudio epidemiológico en el que se localiza la vivienda del enfermo, la cual es sometida a un “cerco epidemiológico” y a la aplicación intensiva de medidas químicas antivectoriales con larvicidas y nebulizaciones espaciales de ultra bajo volumen (Gratz, 1991).

4.9.9.2. Vigilancia entomológica

La vigilancia entomológica se emplea para determinar los cambios en la distribución geográfica del vector, para obtener mediciones relativas a la población de vectores a lo largo del tiempo y para facilitar las decisiones apropiadas y oportunas en lo referente a intervenciones. Los sistemas de vigilancia para prevenir epidemias de Dengue se han apoyado en los índices larvarios, obtenidos a partir de la inspección de contenedores con agua existentes dentro y alrededor de las casas inspeccionadas. Habitualmente se emplean los siguientes índices para estimar los niveles de infestación por *Ae. aegypti* (PAHO, 1994):

- **INDICE DE CASA:** (Casas infestadas / Casas inspeccionadas) x 100
- **ÍNDICE DE RECIPIENTES:** % de depósitos con agua infestados por larvas, pupas o ambas: (Recipientes positivos / Recipientes inspeccionados) x 100
- **ÍNDICE DE BRETEAU:** número de recipientes positivos por 100 casas inspeccionadas

4.9.9.3. Prevención

Ante la falta de medicamentos efectivos y de vacunas probadas en campo, el control del Dengue se centra en su prevención, la cual se basa en la eliminación del

vector. Hasta ahora los intentos para eliminar al *Ae.* se han apoyado exclusivamente en la aplicación de productos químicos, tanto larvicidas como adulticidas (Gratz, 1991).

4.9.9.4. Mosquitos *Ae. aegypti* infectados en campo: Estudios previos.

El primer estudio en detectar el virus Dengue en mosquitos *Ae. aegypti* colectados en campo, se realizó por Hammon *et al.*, (1960) en Filipinas y Taiwán. Los estudios posteriores, fueron realizados principalmente en diferentes países de Asia y América.

4.9.9.4.1. Asia

Chung *et al.*, (2001) encontraron que el 1.33% de los machos colectados en Singapur desde septiembre de 1997 hasta agosto de 1998, estaban infectados con Dengue, siendo el primer estudio que demostró la transmisión vertical en el ambiente natural.

Chung y Pang (2002), colectaron 781 hembras desde 1997 hasta el 2000 en Singapur, y se encontró que el 6.91% fue positivo para Dengue, principalmente DENV-1. Además, se correlacionó la tasa mínima de infección de mosquitos con el número de casos de DC/DHF en ese país, en la cual la tasa mínima de infección descendió de 12.45 por 1000 mosquitos en 1997, a 3.85 por 1000 mosquitos en 1999; al igual que los casos de DC/DHF, de 130.1 por cada 100,000 habitantes en 1997 a 35.4 por cada 100,000 habitantes en 1999.

En el sureste de Taiwán, Chen *et al.*, (2010) colectaron 43,133 mosquitos hembra entre el periodo 2004-2007 y los agruparon en 7628 lotes, de los cuales fueron positivos solamente el 0.2%. La tasa de infección calculada por la Estimación de Máxima Probabilidad fue de 0.970 por 1000 mosquitos (Intervalo de confianza, 95% [IC]= 0.53–

1.65). Los cuatro serotipos de DENV fueron detectados con un 8.3% para DENV-4 en 2004, 16.7% para DENV-2 y 66.7% para DENV-3 en 2005-2006 y un 8.3% para DENV-1 en 2007. La transmisión en esta Región es única, porque recibe una constante importación de diferentes serotipos de DENV de los países del sureste asiático vecinos.

4.9.9.4.2. América

4.9.9.4.2.1 Estados Unidos y México.

El primer estudio de este tipo realizado en México fue hecho por García-Rejón *et al.*, (2008) en Yucatán, México, donde se procesaron 336 lotes de hembras (total 1938), colectadas en las viviendas de pacientes (casos de Dengue confirmados por el Laboratorio de Arbovirología, UADY) que habían mostrado síntomas dentro de un rango de 1-4 semanas, resultando positivos 34 lotes (10.1%) para DENV por RT-PCR, predominando el serotipo DENV-1, sobre DENV-2 y DENV-3. La tasa mínima de infección fue de 1.8%.

Mora-Covarrubias *et al.*, (2010) hicieron el primer reporte de la presencia de mosquitos hembra infectados con Dengue en Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Se capturaron 122 mosquitos y se agruparon en 42 lotes, de los cuales siete fueron positivos para DENV-2, diez para DENV-3 y siete para ambos serotipos.

4.9.9.4.2.2. Sudamérica

El primer estudio realizado en esta Región fue en Colombia por Romero *et al.*, (1998), donde colectaron 2065 hembras durante seis meses, de los cuales tres fueron positivos para DENV-1 y 21 para DENV-2. La tasa mínima de infección contando ambos serotipos fue de 1.1%. Estos resultados fueron consistentes a los serotipos detectados en pacientes que habían padecido Dengue en la región de estudio.

En un estudio prospectivo de campo conducido de Julio del 2000 a Julio del 2001 por Lourenço *et al.*, (2002) en el estado de Río de Janeiro, Brasil, colectaron 352 hembras y se agruparon en lotes, cada uno de entre 9-17 mosquitos. Tres lotes fueron positivos únicamente para DENV-3, a pesar de la co-circulación de DENV-1, DENV-2 y DENV-3 en el área.

En un estudio que fue realizado en el estado de Amazonas, Brasil, Pinheiro *et al.*, (2005) lograron colectar 674 mosquitos hembra durante los meses de Febrero a Junio del 2003, los cuales se agruparon en 82 lotes. Catorce lotes fueron positivos para DENV-3 (17.1%) y la tasa de infección mínima del 2.1%.

Urdaneta *et al.*, (2005) condujeron un estudio de Noviembre del 2000 a Diciembre de 2001 en estado de Aragua, Venezuela, colectaron 1,632 mosquitos y se agruparon en 296 lotes; de esos, 154 lotes (469 mosquitos) fueron colectados en casas de personas con diagnóstico clínico de Dengue, y los otros 142 lotes (1,163 mosquitos) de residencias adyacentes. De las primeras casas, ocho lotes (5.2%) fueron positivos para DENV-1 (0.7%), DENV-3 (3.2%) y DENV-4 (1.3%). De las residencias adyacentes, 18 lotes (12.7%) fueron positivos para DENV-3 (12%) y DENV-4 (0.7%). De 26 lotes positivos a Dengue, 22 de ellos fueron positivos a DENV-3 (84.6%). El serotipo más prevalente en el 2001 en la epidemia de Dengue también fue DENV-3. La tasa mínima de infección fue de 17 por 1000 mosquitos en las casas con pacientes diagnosticados con Dengue, y de 15 por 1000 mosquitos en las residencias adyacentes.

Vilela *et al.*, (2010) colectaron 137 hembras durante el periodo de 2005-2006 en la ciudad de Belo Horizonte, Brasil, y se agruparon en 15 lotes. Resultaron positivos tres lotes para DENV-3.

4.9.9.5. Sistemas de información geográfica (GIS) como herramientas en la vigilancia del dengue y para el control del vector.

Los primeros estudios fueron hechos en Tailandia por Sithiprasasna *et al.*, (1997, 2004), en la que se utilizaron los GIS para el estudio de la distribución espacial de la fiebre por Dengue. Se utilizó el sistema de posicionamiento global (GPS) para referenciar y mapear las localidades involucradas en los estudios epidemiológicos de dengue. En el GIS, a los mapas creados se les superpuso el nombre de la localidad, número de casa, datos demográficos de los ocupantes de las casas, las poblaciones de *Ae. aegypti*, los criaderos positivos presentes y los datos seroepidemiológicos de los ocupantes de las casas. Estas bases de datos demostraron ser herramientas poderosas para monitorear el estatus de los esfuerzos de control de los criaderos de *Ae. aegypti* y evaluar el impacto de su control en la transmisión de dengue y dengue hemorrágico.

Lozano-Fuentes *et al.*, (2008) utilizaron el programa de Google Earth® para obtener imágenes de satélite y con las herramientas simples del software, generaron información de la infraestructura de la ciudad para desplegar los datos de la enfermedad en un Sistema de Soporte a Decisión del Dengue (DDSS en inglés). La combinación de Google Earth® demostró que tiene un tremendo potencial para fortalecer la capacidad de salud pública en general y facilitar la labor de los sistemas de soporte a decisiones para prevenir y controlar las enfermedades transmitidas por vectores en regiones de pobreza.

Chang *et al.*, (2009) desarrollaron un sistema de vigilancia utilizando Google Earth® y tecnologías de mapeo GIS (ArcGIS 9) en Nicaragua. Obteniendo imágenes visuales de la localización de los casos de dengue, infestación larval y de los sitios potenciales en el desarrollo larval, que fueron utilizadas por especialistas del control de dengue para priorizar las intervenciones de control específicas a ciertos vecindarios.

Este programa de vigilancia de dengue logró priorizar las estrategias de control en las áreas de más alto riesgo para eliminar la fuente más probable del mosquito vector. Este programa se adaptó bajo recursos limitados y puede ser implementado en muchos países en vías de desarrollo a un bajo costo.

El objetivo del presente estudio es detectar la circulación de los diferentes serotipos del virus de Dengue en poblaciones del mosquito vector *Ae. aegypti* en la ciudad de Cancún, Quintana Roo, México. Además de estimar las densidades poblacionales por vivienda, conocer la tasa de infección actual, lo cual nos ayudará a comprender mejor la dinámica de transmisión de la enfermedad de esta población del vector en dicha región de estudio, pudiendo ofrecer una ventana de oportunidad para la prevención de brotes epidemiológicos, tanto de FD como de FHD.

5. MATERIAL Y MÉTODO

5.1 Área de estudio

Se realizó en la ciudad de Cancún, Quintana Roo, que pertenece al municipio Benito Juárez, con una extensión de 1.664 km² y 22 km de costa. Su Zona Metropolitana cuenta con más de 676mil habitantes (INEGI, 2010) (Figura 9). El clima es cálido y lluvioso. Temperatura media anual de 25.5°C y lluvias oscilan entre 1 000 y 1 300mm. Durante el verano se ve afectada por tormentas tropicales y ciclones. La temporada de huracanes comienza a mediados de junio; los meses más afectados son septiembre y octubre (INAFED, 2009)

5.2 Colecta de mosquitos

Los mosquitos fueron colectados durante el 2011, en dos Regiones denominadas 102 y 103 de la ciudad de Cancún, Municipio de Benito Juárez, en Quintana Roo. Las zonas fueron elegidas por muestreo de conveniencia por antecedentes de casos de Dengue presentados. Los mosquitos adultos se colectaron utilizando un CDC aspirador de espalda BioQuip® La fuerza de succión es suave pero suficiente para atraer al vector y quede atrapado en un colector ubicado en la boquilla del aspirador; la boquilla incluye una manguera que sirve para alcanzar áreas donde reposan los mosquitos durante el día como debajo de las camas, atrás de muebles, paredes de baños, lugares entre macetas en el jardín, debajo de lavabos, entre algunos sitios preferidos (Clark *et al.*, 1994) (Figura 10).

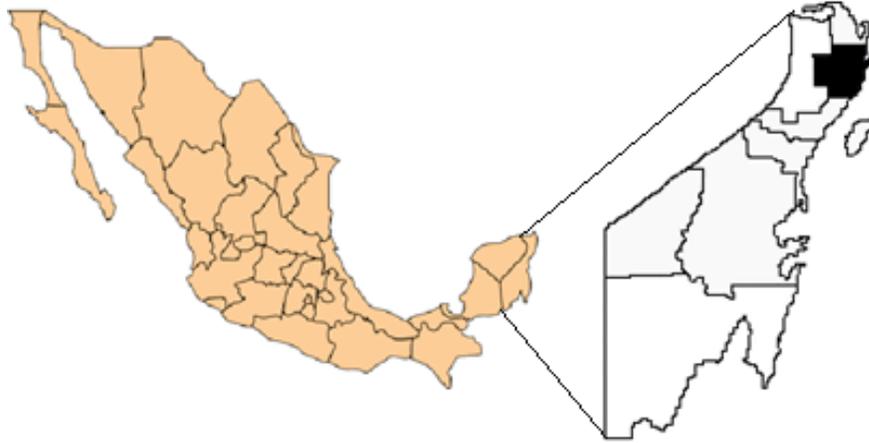


Figura 9. Ubicación Municipio de Benito Juárez en la Península de Yucatán, el sur de México.

Posterior a la colecta, los mosquitos fueron identificados hasta especie utilizando una chill-table y claves de identificación (Darsie & Ward, 2005). Colocándose en microtubos de 1.7mL; transportándose en CO₂ al Laboratorio de Arbovirología del Centro de Investigaciones Regionales “Hideyo Noguchi” de la Universidad Autónoma de Yucatán para realizar RT-PCR. Para este estudio no se consideraron machos.

5.2.1. Colecta de datos.

Para la colecta de datos se llevo a cabo una bitácora, la cual contenía información general de las viviendas visitadas para este estudio. Entre los datos considerados para estas visitas fueron: un consecutivo asignado a cada casa visitada, fecha del día de la colecta, así como un cuestionario a los habitantes de dichas viviendas respecto a que si recientemente habían presentado casos de Dengue. Se tomó nota de la dirección, además de la presencia o ausencia de mosquitos, se totalizó el número de los mismos,

separando hembras y machos, además se revisaron las viviendas si presentaban criaderos o no y por último se georeferenciaron los sitios con GPS (Figura 11).



Figura 10. Aspirador motorizado de espalda BioQuip®

<p align="center">Proyecto: Análisis filogenético de poblaciones del virus dengue DENV aislados del mosquito vector <i>Aedes aegypti</i> en tres localidades geográficamente separadas de México: Monterrey, Chetumal y Acapulco</p>									
#	Fecha	Casos Recientes de Dengue SI/NO	Dirección y sitio de colecta	Mosquitos SI/NO	TOTAL <i>Aedes aegypti</i>	TOTAL MACHOS <i>Ae. aegypti</i>	TOTAL HEMBRAS <i>Ae. aegypti</i>	Criaderos SI/NO	Coordenadas GPS

OBSERVACIONES DE LOS DATOS QUE SE PIDEN
 Num: consecutivo de colecta 1,2... n se colocará en el tubo eppendorf

L. colecta: sitio de aspirado (casa, lugar publico, etc)
 Coordenadas: datos tomados por gps
 Antecedentes de dengue: si hubo casos de dengue y si se sabe si fue DC o DH
 Hembras y machos de la misma casa se guardaran en tubos separados pero con el mismo # del consecutivo

MODO DE TRANSPORTE_ Cámara húmeda
 LUGAR DE ALMACENAJE __ CO₂
 Colector: nombre del colector : _____
 Colector: nombre del colector : _____

Figura 11. Bitácora utilizada en las colectas en campo

5.2.2. Homogenización de mosquitos

Para extraer las partículas virales que están dentro del mosquito, se procedió a homogenizar cada mosquito colectado y obtener el sobrenadante donde se encuentran las partículas virales (García-Rejón *et al.*, 2008). Cada mosquito se homogenizó con pistilos estériles en un microtubo de 1.7mL con 150 µL de medio L-15 Invitro®,

suplementado con 2% suero bovino fetal HyClone®, aminoácidos no esenciales al 1%, antibióticos y antimicóticos al 1%. Posteriormente se centrifugó cada macerado a 5,000 rpm a 4°C por 5 minutos. Finalmente se tomó el sobrenadante, se transfirió a otro microtubo de 1.7mL y se almacenó a -70°C.

5.2.3. Extracción de RNA

Para ésta técnica se empleó el método del reactivo TRIZOL (Gibco, BRL), que consiste en separar las moléculas de RNA en un sistema de fenol y precipitación con alcohol (Chomczynsky & Sachi, 1987). Se tomaron 100 µL del sobrenadante de cada mosquito y de los controles, y se le añadieron 500 µL de Trizol®. Se mezcló vigorosamente y se incubó a 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se añadieron 100 µL de cloroformo por cada 500 µL de Trizol empleado. Se agitó manualmente por 15 segundos.

Se incubó a temperatura ambiente por 5 minutos y posteriormente se centrifugó a 12,000g durante 15 minutos a 4°C. Se formaron tres fases. Se transfirieron 150 µL de la fase acuosa a otro vial. El resto se desechó. Se añadieron 250 µL de isopropanol absoluto, se mezcló en el vortex y se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se centrifugó 12,000g por 10 minutos a 4°C.

El RNA se precipitó en forma de pastilla de color blanco. La pastilla se lavó con 500 µL de etanol al 75% y luego se centrifugó a 7,500g durante 5 minutos a 4°C. Se hizo esto dos veces. El sobrenadante se desechó y se dejó secar la pastilla por 15 minutos, dejando el tubo destapado sobre un papel absorbente. Finalmente, se agregaron 45 µL de agua tratada con DEPC® para resuspender el RNA, y se almacenó -70°C.

5.2.4. Técnica de RT-PCR

La detección viral se llevó a cabo mediante la técnica de RT-PCR, que utiliza iniciadores que tienen como blanco una Región del gen NS3 del virus. De las muestras positivas se prosiguió con una segunda ronda de PCR semi-anidada para realizar la serotipificación, que incluye el iniciador para los serotipos DENV1-4, teniendo un producto de PCR de tamaño de banda de 482pb, 119pb, 290pb y 392pb, respectivamente (Seah *et. al.*, 1995) (Tabla III).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) será realizada usando los oligonucleótidos D2, D1 y la enzima ADN Polimerasa Taq (Tabla II). Se formaron 40 lotes, cada uno con una mezcla de RNA de 10 mosquitos y un lote con una mezcla de cinco mosquitos. Para lo anterior, se tomaron 10 microlitos de cada solución de RNA de cada uno de los mosquitos, para formar los 41 lotes de mezclas de RNA.

Se efectuó la mezcla de reacción para la RT-PCR de cada lote, dependiendo la fase. La primera fase es a partir del RNA de lote, y la segunda, una dilución 1:100 del producto de la primera fase.

Las extracciones de RNA de los controles positivos se incluyen también. Se llevó a cabo la RT-PCR en el termociclador Longene® modelo MG96G, en un esquema de dos fases con los siguientes programas (Tabla I)

5.2.5. Electroforesis en Gel de Agarosa

Después de efectuar la RT-PCR, se realizó la Electroforesis en Gel de Agarosa 2% (Promega Corp, Madison, WI) para visualizar los productos de amplificación. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio para ser visualizados con ayuda del transiluminador.

Programa 1° Fase		
1	42°	1 hr
2	94°	30s
3	55°	1 min
4	72°	2 min
5	25 ciclos	Pasos 2-4
6	72°	10 min
7	4°	Hold

Programa 2° Fase		
1	94°	30s
2	55°	1 min
3	72°	2 min
4	25 ciclos	1 min
5	72°	10 min
6	4°	hold

Tabla I. Programas utilizados para llevar a cabo la RT-PCR en el termociclador Longgene® modelo MG96G.

Mezcla de reacción 1° Fase	
	1x
Amortiguador 5x	2.3 µL
MgCl ₂ 25mM	2.0 µL
DTT 100mM	1.2 µL
dNTPs	0.2 µL
H ₂ O libre de nucleasas	15.55 µL
DV1 1:10	0.5 µL
DV3 1:10	0.5 µL
Transcriptasa reversa	0.10 µL
ADN TaqPolimerasa	0.15 µL
RNA de lote o de mosquito	2.5 µL

Mezcla de reacción 2° Fase	
	1x
Amortiguador 5x	2.3 µL
MgCl ₂ 25mM	2.0 µL
dNTPs	0.2 µL
H ₂ O libre de nucleasas	15.35 µL
DV1 1:10	0.5 µL
DVSP1 1:10	0.5 µL
DVSP2 1:10	0.5 µL
DVSP3 1:10	0.5 µL
DVSP4 1:10	0.5 µL
ADN TaqPolimerasa	0.15 µL
Producto 1° fase RT-PCR 1:100	2.5 µL

Tabla II. Reactivos utilizados en la RT-PCR en fase 1 y fase 2.

DV1 (+)	5'GGRACKTCAGGWTCTCC-3'	4918-4934	-
DV3 (-)	5' AARTGIGCYTCRTCCAT-3'	5384-5368	470
DSP1 (-)	5'-AGTTTCTTTTCCTAAACACCTCG-3'	5067-5045	169
DSP2 (-)	5'-CCGGTGTGCTCRGCYCTGAT-3'	5279-5260	362
DSP3 (-)	5'-TTAGAGTYCTTAAGCGTCTCTTG-3'	5174-5152	265
DSP4 (-)	5'-CCTGGTTGATGACAAAAGTCTTG-3'	5342-5320	426

Tabla III. Iniciadores de Seah (1995) para la detección de dengue.

I= INOSINE; K= G/T; R= A/G; W= A/T; Y=C/T

5.3 Densidades y distribución geoespacial de *Ae. aegypti*

En cada punto de colecta, se tomó el punto GPS (Sistema de Geoposicionamiento Global) para determinar la distribución geográfica de los mosquitos. Se utilizó el programa de Google Earth® para obtener el mapa y los puntos de colecta, y así obtener la distribución geográfica de los mosquitos.

Dentro de las representaciones espaciales realizadas en esta investigación se realizaron mapas que muestran la presencia de criaderos, así como la presencia de *Ae. aegypti*, tanto hembras como machos. Un diagrama más que muestra las densidades poblacionales del mosquito y por último los mosquitos identificados como positivos a virus Dengue.

5.4 Tasa de infección

Se dividió el número de mosquitos infectados entre el total de mosquitos colectados, multiplicados por 100, para obtener la tasa de infección en porcentaje

5. RESULTADOS

6.1 Identificación de DENV y serotipificación en *Ae. aegypti* por RT-PCR

Para llevar a cabo la extracción de RNA de las 419 hembras de *Ae. aegypti* se agruparon en pools de 10 hembras cada uno, por cuestiones de manejo y material dañado, solo se trabajaron al final con 405 hembras, formándose 40 pools de 10 hembras y 1 pool con 6. El virus Dengue fue detectado por RT-PCR en 5 (12%) de los 41 pools obtenidos en las dos regiones muestreadas. Por separado la Región 102 produjo 1 (6%) pool positivo de 17 analizados, mientras que en la Región 103 se encontraron 4 (17%) de 24 pools analizados (Tabla IV). Ya identificados los pools positivos a DENV se procedió a realizar la misma técnica molecular de forma individual en cada mosquito, dando como resultado 50 reacciones separadas de RT-PCR. Esta segunda ronda del análisis molecular produjo un total de 6 mosquitos positivos en las dos Regiones combinadas.

Cinco (1.9%) fue el mayor número de mosquitos individuales positivos para DENV y se encontró en la Región 103. Solo un (0.6%) mosquito positivo fue encontrado en los pools correspondientes a la Región 102 (Tabla IV). No hubo diferencia significativa entre la cantidad de pools positivos a DENV en ambas regiones ($t = 7,22, df = 87, P < 0,000$).

Región	Total de pools	Pools positivos para DENV	Mosquitos individuales positivos para DENV
102	17	1 (6%)	1 (0.6%)
103	24	4 (17%)	5 (1.9%)
Total	41	5 (12%)	6 (1.4%)

Tabla IV. Número de pools de hembras *Ae. aegypti* que resultaron positivos a DENV encontrados en la Región 102 y 103 del Municipio de Benito Juárez, Quintana Roo.

En esta investigación el único serotipo encontrado en mosquitos *Ae aegypti* fue DENV-2 y se identificó en ambas localidades. El serotipo 2 fue constante en los 6 mosquitos positivos a DENV en las Regiones 102 y 103 (Tabla V). Esto fue confirmado al comparar esta banda con los controles positivos de los diferentes serotipos de virus dengue: 1, 2, 3 y 4. Igualmente con el marcador donde se aprecia el peso molecular del DENV-2 con un tamaño de banda de 362pb. La visualización del gel de agarosa indica el serotipo 2 para las 6 muestras analizadas de acuerdo al control que se encuentra en el carril 9 (Figura 12)

Región	Mosquitos individuales positivos para DENV	Serotipo encontrado
102	1 (0.6%)	DENV-2
103	5 (1.9%)	DENV-2
Total	6 (1.4%)	DENV-2

Tabla V. Resultados de serotipificación de los virus de Dengue identificados en hembras *Ae aegypti* colectadas en las dos localidades de estudio en Cancún, Quintana Roo.

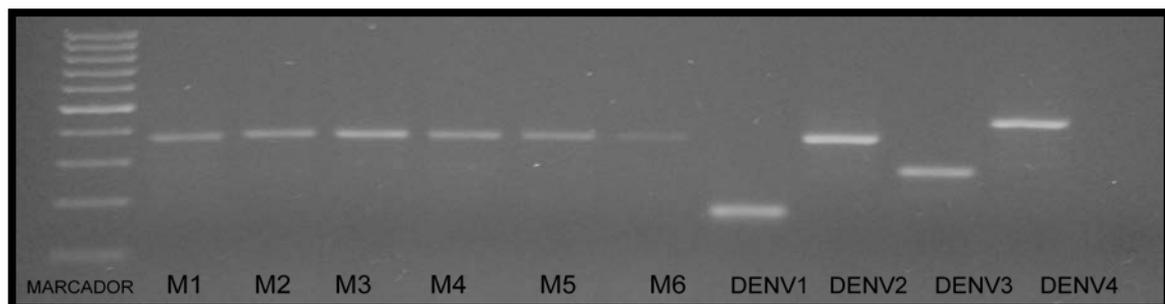


Figura 12. Gel de electroforesis de los productos de la RT-PCR con los iniciadores de Seah (1995), de los mosquitos positivos a Dengue.

6.2 Densidades poblacionales de mosquitos adultos

El muestreo se realizó en 88 viviendas, localizadas en 14 manzanas, distribuidas en las dos regiones (colonias) de las localidades del Municipio de Benito Juárez. El mosquito *Ae. aegypti* se encontró en 75 de 88 casas (85%) (Tabla VI, Figura 15, 16). En ambas regiones el porcentaje de presencia de hembras *Ae. aegypti* resultó ser muy similar ya que en la Región 102 se presentó un 85% y en la Región 103, un 86%. El número total de *Ae. aegypti* colectados fue de 965, de los cuales 419 (43%) fueron identificados como hembras. En la Región 102 se colectó un total de 160 hembras, y en la Región 103 se colectaron un número mayor con 259 hembras (Tabla VI).

El promedio total de hembras de *Ae. aegypti* colectadas por vivienda resultó de $4,76 \pm 6,19$. En base a los resultados del análisis de medias por *t-Student* éste nos reveló no presentar diferencia significativa entre las áreas de muestreo. El promedio de hembras colectadas por vivienda en la Región 103 ($6,02 \pm 7,30$) fue significativamente mayor en comparación con la Región 102 ($3,56 \pm 4,66$) ($t = 14,221$, $df = 44$, $P < 0,000$).

Región	# Casas muestreadas	Casas con presencia de hembras <i>Ae. aegypti</i>	Total de hembras <i>Ae. aegypti</i>	Promedio mosquitos hembra <i>Ae. Aegypti</i> por casa \pm (DE)
102	45	38(85%)	160	3.56\pm(4.66)
103	43	37 (86%)	259	6.02\pm(7.30)
Total	88	75 (85%)	419	4.76\pm(6.19)

Tabla VI. Distribución de las densidades domiciliarias de poblaciones adultas de *Ae. aegypti* en las Regiones 102 y 103 de la localidad de Cancún, Quintana Roo

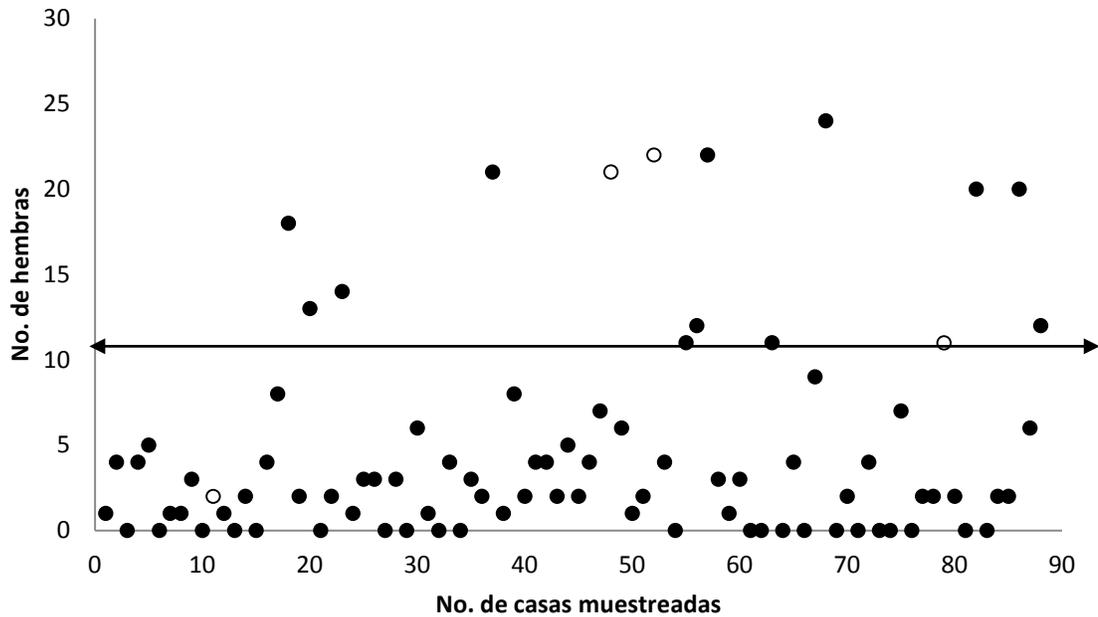
De las 88 casas muestreadas en 83 (93%) se encontraron mosquitos, tanto *Ae. aegypti* como *Culex spp.* Solo en el 7% de las viviendas no se encontró ninguna especie

Identificación y serotipificación del Virus Dengue, densidades y tasa de infección de poblaciones domésticas de *Ae. aegypti* Cancún, Quintana Roo, México

de mosquitos (figura 13). La especie de *Culex spp* se colectó en 43(48%) casas del total de la muestra.

# Consec	Fecha	ANTECEDENTES DENGUE SI/NO	Dirección y sitio de colecta	Presencia mosquitos SI/NO	TOTAL MOSQ. <i>Aedes neoguati</i>	TOTAL MACHOS <i>Ae. neoguati</i>	TOTAL HEMBRAS <i>Ae. neoguati</i>	Presencia Criaderos SI/NO	Criaderos positivos SI/NO	Coordenadas GPS
C1	10/10/2011	no	Calle 145 s/n Col. 112	si	11 Ae, 8cx	10	1	si	no	
C2	10/10/2011	si dos mes DC	Manzana 68 lote 30 Col. 112	si	15 Ae, 5cx	11	4	si	no	
C3	10/10/2011	no	Región 102 manzana 68, Lote 9	si	2 Ae, 3cx	2	0	si	no	
C4	10/10/2011	no	Región 102 manzana 68, Lote 11	si	8 Ae, 4cx	4	4	si	no	
C5	10/10/2011	no	Región 102 manzana 62, Lote 2	si	10 Ae	5	5	no	no	
C6	10/10/2011	no	Región 102 manzana 68, Lote 3	no	----	--	0	no	no	
C7	10/10/2011	DH	Región 102 manzana 53, Lote 19	si	1 Ae, 1cx	--	1	si	no	
C8	10/10/2011	no	Región 102 manzana 68, Lote 20	si	1 Ae	--	1	no	no	
C9	10/10/2011	no	Región 102 manzana 53, Lote 23	si	7 Ae, 32cx	4	3	no	si	
C10	10/10/2011	DC	Región 102 manzana 53, Lote 24	si	20cx	0	0	si	si	21°08'48N 86°53'23O alt 22m
C11	10/10/2011	no	Región 102 manzana 53, Lote 28	si	4 Ae, 2cx	2	2	si	no	
C12	10/10/2011	no	Región 102 manzana 53, Lote 30	si	4 Ae, 1cx	3	1	si	no	
C13	10/10/2011	DC	Región 102 manzana 53, Lote 03	si	27cx	0	0	si	no	21°08'49N 86°53'21O
C14	10/10/2011	no	Región 102 manzana 52, Lote 08	si	2 Ae, 2cx	--	2	si	no	
C15	10/10/2011	no	Región 102 manzana 52, Lote 11	si	3cx	--	0	si	no	21°08'49N 86°53'21O
C16	10/10/2011	si	Región 102 manzana 52, Lote 12	si	12 Ae, 12cx	8	4	si	no	
C17	10/10/2011	no	Región 102 manzana 52, Lote 13	si	10 Ae	2	8	si	no	
C18	10/10/2011	no	Región 102 manzana 52, Lote 16	si	34 Ae, 9cx	16	18	si	no	
C19	10/10/2011	no	Región 102 manzana 52, Lote 17	si	2 Ae	0	2	no	no	
C20	10/10/2011	no	Región 102 manzana 52, Lote 19	si	28 Ae, 2cx	15	13	si	si	21°08'49N 86°53'25O
C21	10/10/2011	no	Región 102 manzana 69, Lote 2	si	2cx	0	1	si	si	
C22	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 20	si	4Ae	2	2	si	no	
C23	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 22	si	30Ae, 4cx	16	14	si	si	
C24	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 24	si	1Ae	0	1	si	si	
C25	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 28	si	9Ae	6	3	si	no	
C26	11/10/2011	DC	Región 102 manzana 51, Lote 03	si	3Ae	0	3	si	si	
C27	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 04	no	----	0	0	no	no	
C28	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 09	si	7Ae, 3cx	4	3	no	no	
C29	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 10	si	11cx	0	0	si	no	
C30	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 11	si	6Ae	0	6	si	si	
C31	11/10/2011	DC	Región 102 manzana 51, Lote 12	si	1Ae	0	1	si	no	21°08'49N 86°53'21O
C32	11/10/2011	no	Región 102 manzana 51, Lote 14	no	----	0	0	si	no	
C33	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 15	si	18Ae, 3cx	14	4	si	no	
C34	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 17	si	1Ae, 4cx	1	0	si	si	
C35	11/10/2011	DC	Región 102 manzana 50, Lote 18	si	7Ae, 3cx	4	3	si	no	
C36	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 19	si	2Ae	0	2	si	no	
C37	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 22	si	58Ae, 8cx	37	21	si	si	
C38	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 23	si	9Ae	8	1	si	si	
C39	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 28	si	19Ae, 10cx	11	8	si	si	
C40	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 29	si	2Ae	0	2	si	no	
C41	11/10/2011	DC	Región 102 manzana 50, Lote 08	si	12Ae, 2cx	8	4	si	no	
C42	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 10	si	11Ae, 1cx	7	4	si	no	
C43	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 14	si	2Ae	0	2	si	no	
C44	11/10/2011	no	Región 102 manzana 50, Lote 15	si	13Ae, 5cx	8	5	si	no	
C45	11/10/2011	no	Región 102 manzana 71, Lote 03	si	6Ae, 7cx	4	2	si	si	
C46	12/10/2011	DC	Región 102 manzana 47, Lote 11	si	8Ae	8	0	si	si	
C47	12/10/2011	no	Región 102 manzana 47, Lote 12	si	11Ae	3	7	si	no	
C48	12/10/2011	DC	Región 102 manzana 51, Lote 20	si	43Ae	34	8	si	si	
C49	12/10/2011	no	Región 103 manzana 47, Lote 22	si	6Ae, 8cx	0	6	si	si	
C50	12/10/2011	no	Región 103 manzana 47, Lote 01	si	5Ae	4	1	si	no	
C51	12/10/2011	no	Región 103 manzana 47, Lote 02	si	2Ae	0	2	si	no	21°08'41N 86°53'48O alt 13m
C52	12/10/2011	si	Región 103 manzana 47, Lote 06	si	49Ae	27	22	si	si	
C53	12/10/2011	no	Región 103 manzana 47, Lote 07	si	10Ae	6	4	si	si	
C54	12/10/2011	no	Región 103 manzana 47, Lote 08	si	3Ae	3	0	si	si	
C55	12/10/2011	DC	Región 103 manzana 47, Lote 10	si	29Ae	18	11	si	si	
C56	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 27	si	28Ae	16	12	si	no	
C57	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 25	si	47Ae, 12cx	25	22	si	si	
C58	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 23	si	5Ae	2	3	si	si	
C59	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 20	si	7Ae	6	1	si	si	
C60	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 19	si	5Ae, 5cx	2	3	si	si	
C61	12/10/2011	DC	Región 103 manzana 48, Lote 16	si	2Ae	2	0	si	si	
C62	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 14	no	0	0	0	si	no	
C63	12/10/2011	DC	Región 103 manzana 48, Lote 13	si	24Ae	13	11	si	no	
C64	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 09	no	0	0	0	si	no	21°08'39N 86°53'48O alt 27m
C65	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 08	si	10Ae, 2cx	6	4	si	no	21°08'39N 86°53'48O alt 27m
C66	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 02	si	5Ae, 8cx	5	0	si	si	
C67	12/10/2011	no	Región 103 manzana 48, Lote 30	si	9Ae, 4cx	0	9	si	si	21°08'40N 86°53'48O alt 24m
C68	12/10/2011	no	Región 103 manzana 47, Lote 05	si	77Ae	53	24	si	si	
C69	13/10/2011	no	Región 103 manzana 61, Lote 11	no	0	0	0	si	no	
C70	13/10/2011	no	Región 103 manzana 61, Lote 12	si	2Ae	0	2	si	no	
C71	13/10/2011	no	Región 103 manzana 61, Lote 14	no	0	0	0	si	no	
C72	13/10/2011	no	Región 103 manzana 61, Lote 18	si	14Ae, 7cx	10	4	si	no	
C73	13/10/2011	DC	Región 103 manzana 61, Lote 20	si	4Ae	4	0	si	si	
C74	13/10/2011	no	Región 103 manzana 61, Lote 24	si	1Ae	1	0	si	no	
C75	13/10/2011	DC	Región 103 manzana 61, Lote 25	si	15Ae, 5cx	8	7	si	si	
C76	13/10/2011	no	Región 103 manzana 61, Lote 26	no	0	0	0	no	no	
C77	13/10/2011	no	Región 103 manzana 61, Lote 02	si	2Ae	0	2	si	no	21°08'40N 86°53'52O alt 20m

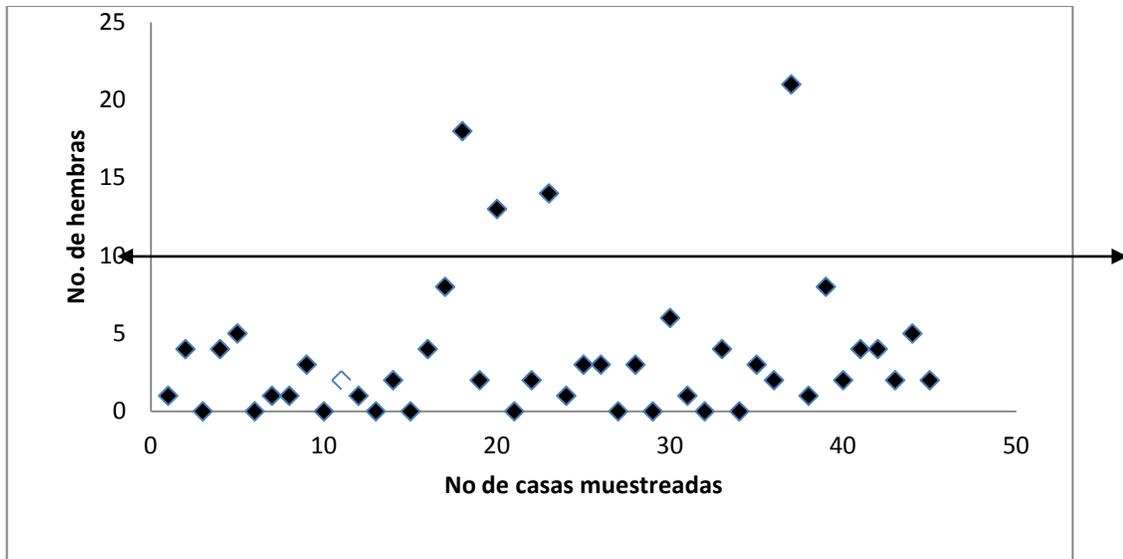
Figura 13. Bitácora con información de las localidades muestreadas (Región 102 y 103)



Gráfica 1. Distribución de densidades de hembras *Ae aegypti* por vivienda individual obtenidos con el aspirador de mochila CDC en las dos Regiones de la Ciudad de Cancún Quintana Roo, México.

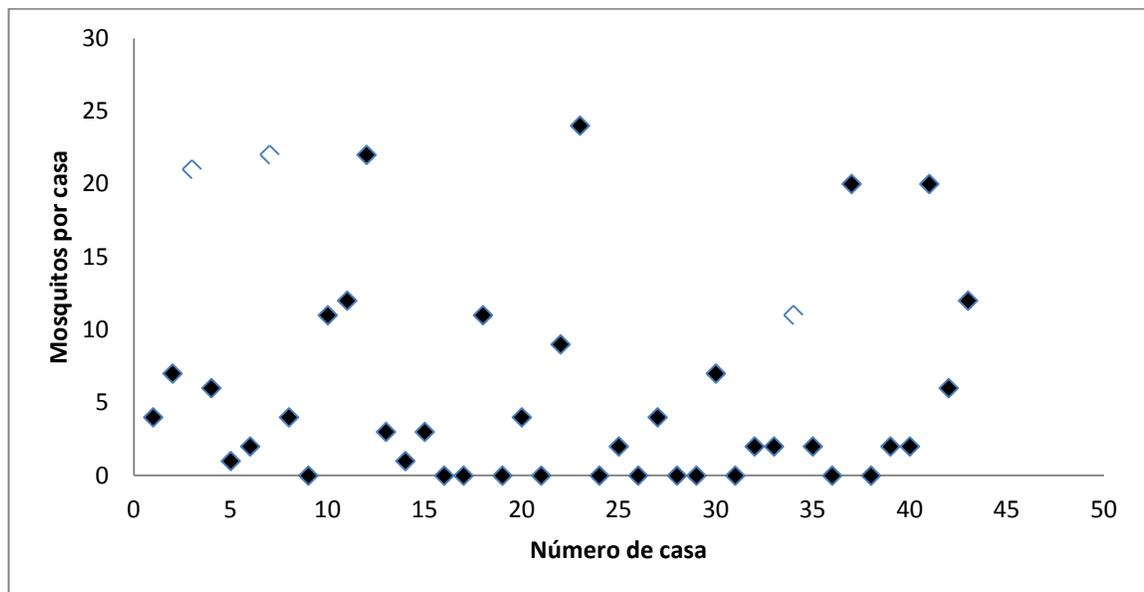
La mayor densidad del total de hembras colectadas (60%), combinando los datos de las dos Regiones muestreadas, estuvieron concentradas solo en 15 (17%) de las 88 casas aspiradas, resultado visualizado en una gráfica de dispersión de frecuencias (Gráfica 1). Los rangos de hembras *Ae. aegypti* colectado en estas 15 casas fue de mínimo 10 hasta un máximo de 24. El resto de las 73 (83%) viviendas con presencia vectorial correspondió a un rango de densidades por domicilio menores a 10 individuos adultos.

El diagrama de dispersión para la Región 102 nos muestra que solo 4 (4.5%) casas presentaron densidades mayores a 10 y menores a 24 hembras por domicilio (Gráfica 2, figura 17)



Gráfica 2. Distribución de densidades de hembras *Ae aegypti* por vivienda individual obtenidos con el aspirador de mochila CDC en la Región 102 de la Ciudad de Cancún Quintana Roo, México.

El diagrama de dispersión para la Región 103 nos muestra que en esta localidad las densidades de *Ae aegypti* fueron mayores pues 11 (25.5%) casas produjeron más de 10 hembras y menos de 24 (Gráfica 3, Figura 18).



Gráfica 3. Distribución de densidades de hembras *Ae aegypti* por vivienda individual obtenidos con el aspirador de mochila CDC en la Región 103 de la Ciudad de Cancún Quintana Roo, México

6.3 Tasa de infección y dispersión de mosquitos infectados al DENV

La tasa de infección del virus del dengue y su serotipo identificado en las poblaciones domiciliarias de las dos regiones muestreadas de 1.4%. De manera individual las poblaciones de hembras *Ae. aegypti* de la Región 103 resultaron tener mayor tasa de infección a DENV con 1.93%. Mientras que este mismo indicador de la competencia vectorial produjo un 0.62% en la Región 102 (Tabla VII).

Región	# casas muestreadas	# casas con mosquitos infectados	# mosquitos <i>Ae. aegypti</i> infectados	Tasa de infección	Serotipos
102	45	1 (2.22%)	1	0.62%	DENV-2
103	43	3 (6.97%)	5	1.93%	DENV-2
Total	88	4 (4.45%)	6	1.40%	DENV-2

Tabla VII. Distribución de las densidades domiciliarias de poblaciones adultas de *Ae. aegypti* infectados, tasa de infección, así como serotipos obtenidos en las Regiones 102 y 103 de la localidad de Cancún, Quintana Roo

Interesantemente la mayoría de los mosquitos colectados e infectados con DENV se asociaron a casas con altas densidades de mosquitos. Por ejemplo, una de las casas donde se colectó uno de los mayores números de hembras *Ae. aegypti*, 21, produjo tres (50%) de los seis mosquitos infectados con DENV en toda esta investigación. Otros dos mosquitos infectados se encontraron en casas con densidades arriba de 11 hembras *Ae. aegypti*. Sólo un mosquito infectado se colectó en la vivienda que presentaba menos de 5 hembras *Ae. aegypti* (Figura 14).

En relación con la dispersión espacial de hembras *Ae. aegypti* infectadas con DENV se notaron dos parámetros asociados: densidades vectoriales por domicilio y el rango de 100 m de vuelo documentado para *Ae. aegypti*. El hallazgo de hembras infectadas siempre fue menor a 100 m de distancia e incluso haciendo un conglomerado de casas donde la RT-PCR identificó presencia de 3 de los 6 mosquitos infectados, esto

fue así en la Región 103 (Figura 14) No se encontró conglomerado de mosquitos infectados en la Región 102 (Figura 15, 16)



Figura 14. Distribución espacial de las casas donde DENV-2 fue aislado de *Ae. aegypti* colectados en las Regiones 102 y 103 de la Ciudad de Cancún, Quintana Roo, México.

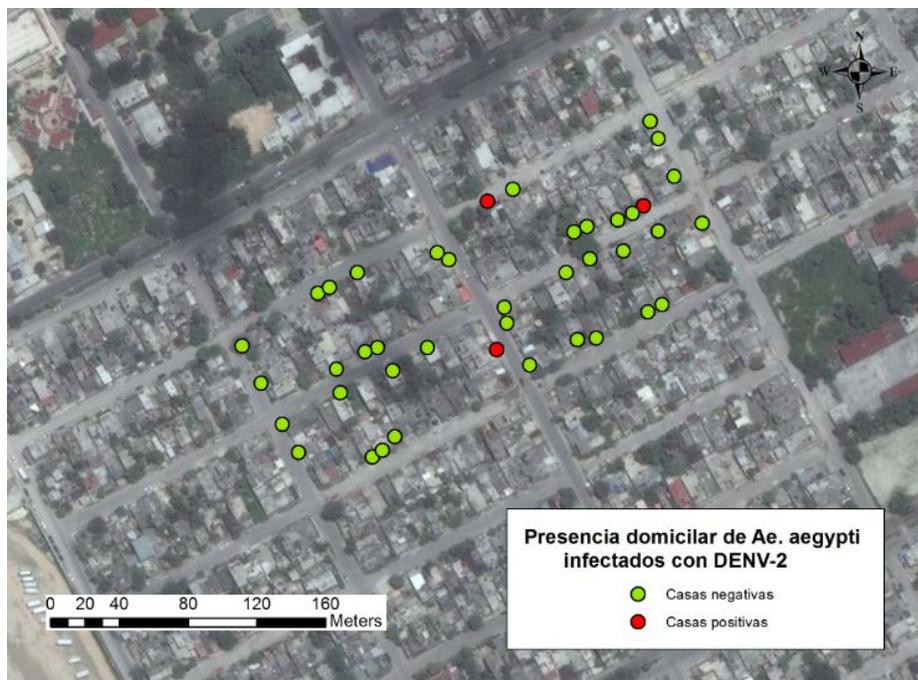


Figura 15. Conglomerado de viviendas de la Región 103 donde se colectaron e identificaron mosquitos *Ae. aegypti* infectados con DENV



Figura 16. Ausencia de conglomerado de viviendas en la Región 102 donde solo se colectó e identificó un mosquito *Ae. aegypti* infectado con DENV.

El análisis espacial de las densidades vectoriales en los domicilios y su relación con la dispersión de mosquitos infectados con DENV apoyó la misma relación entre mayores densidades produciendo mayor número de vectores infectados. De esta manera la Figura 17 y 18 visualizan espacialmente viviendas con densidades mayores (≥ 10 y ≤ 24).



Figura 17. Mapa de densidad de mosquitos colectado de *Ae. aegypti* con el aspirador de mochila CDC en la Región 102 de Benito Juárez, México

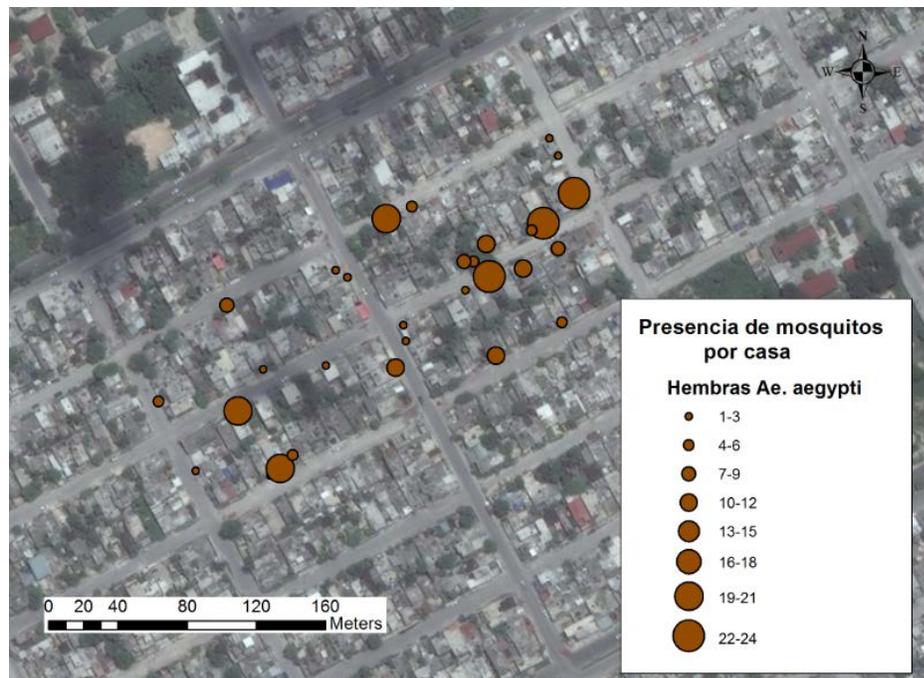


Figura 18. Mapa de densidad de mosquitos colectado de *Ae. aegypti* con el aspirador de mochila CDC en la Región 103 de Benito Juárez, México

6. DISCUSIONES

En general la técnica molecular de RT-PCR reveló la presencia de DENV-2 en seis de 419 (1.4%) hembras *Ae. aegypti* colectadas en las localidades de estudio de la Ciudad de Cancún, Quintana Roo. Claramente existió una asociación espacio-temporal de nuestros hallazgos de mosquitos infectados con un brote concurrente de casos de Fiebre por Dengue y Dengue Hemorrágico en la zona de estudio. En este mismo período de tiempo, la Secretaría de Salud anunció que el Estado de Quintana Roo registró 330 casos de Dengue confirmados, de los cuales 215 se clasificaron como Dengue Hemorrágico y 115 como Fiebre Dengue (CENA VECE 2012). La presencia del serotipo 2 del virus del Dengue está documentada con una alta incidencia de peligroso Dengue Hemorrágico en la presencia del serotipo 2 del virus del Dengue está documentada con una alta incidencia de peligroso Dengue Hemorrágico en Yucatán y otros países de América Latina (Farfán *et al.* 2009).

Con los datos obtenidos en esta investigación entomológica claramente se puede asociar el serotipo responsable de la infección humana; con el agente etiológico porque este serotipo se identificó mediante RT-PCR y los mosquitos vectores simplemente actúan como indicadores invertebrados o centinelas de los virus que están en su ciclo de alimentación sobre huéspedes humanos. En este sentido, García-Rejón *et al.*, (2008) detectaron tres serotipos (DENV-1, DENV-2, y DENV-3) en *Ae. aegypti* colectados de hogares de pacientes con Dengue en Mérida, Yucatán, México, y observó que el serotipo coincide con la serotipificación de los pacientes cuando se dispone de información específica sobre el serotipo.

El serotipo encontrado en las hembras *Ae. aegypti* colectadas durante este estudio fue DENV-2. CENA VECE (2012) reportó que hasta la semana 41 (que incluyó el

período del estudio) estuvieron circulando los serotipos 2 y 3 en el Estado de Quintana Roo, y la proporción de casos de FD y FHD fue de 0.7:1, respectivamente. La información proporcionada por CENAVECE (2012) no proporcionó detalles de los casos por municipios, ni especificó en qué proporción estuvieron presentes los diferentes serotipos en los casos.

Puesto que la vigilancia tradicional del Dengue es solo clínica es decir en base a casos o pacientes que llegan a los hospitales, y muchas veces este sistema falla pues solo se presentan síntomas muy ligeros o se carece de atención hospitalaria, la vigilancia virológica en mosquitos colectados en campo ha sido sugerida como un sistema de monitoreo muy sensible de alerta temprana para las epidemias de Dengue en áreas endémicas y para la detección de serotipos recién introducidos. En Singapur, los mosquitos infectados fueron detectados 6 semanas antes de la aparición de la epidemia (Chow *et al.*, 1998). En Colombia, el incremento en la tasa de infección en mosquitos fue asociado con el incremento en la tasa de infección en humanos (Méndez *et al.*, 2006). Para implementar exitosamente la vigilancia virológica en mosquitos como sistema de alerta temprana, se recomienda coleccionar en donde hay mayores densidades del vector, pero implementar colectas aleatorias en numerosos sitios resulta muy costoso (Guedes *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2010).

Para aumentar la probabilidad de encontrar mosquitos infectados, la mayoría de los estudios de este tipo han sesgado sus colectas en sitios donde ha habido una epidemia reciente, ya que la transmisión de la enfermedad es focalizada (Favier *et al.*, 2005). Chen *et al.* (2010) y García-Rejón *et al.* (2008) realizaron las colectas en sitios donde hubo casos recientes en colaboración con las dependencias de salud de sus respectivos países, mientras que el resto de estudios mencionan que realizaron sus colectas en base a

reportes históricos de Dengue sin dar más detalles. Ninguno ha realizado colectas de forma aleatoria, salvo Chen *et al.* (2010), que efectuaron ambos tipos. Gracias al reporte oportuno de la Secretaría de Salud de Quintana Roo, fue posible coleccionar mosquitos en zonas de epidemia reciente y de esta manera se logró coleccionar mosquitos infectados en nuestro estudio.

Como ya se ha señalado, la tasa de infección del DENV resultó en promedio 1.4% en hembras *Ae. aegypti* coleccionadas en este estudio. Tasas similares de infección han sido documentadas por otras regiones endémicas a DENV identificados en hembras de *Ae. aegypti* (García-Rejón *et al.*, 2008, Yoon *et al.*, 2012). Por ejemplo, García-Rejón *et al.*, (2008) reportaron una tasa de infección mínimo del 1.8% en hembras de *Ae. aegypti* obtenidas de marzo 2007 hasta febrero 2008 dentro de las casas en Mérida, Yucatán, México. La tasa de infección mínima para mosquitos coleccionados en octubre fue del 1.4%. Sin embargo, existen varias diferencias entre los dos estudios, sobre todo, las casas muestreadas en Mérida pertenecían pacientes enfermos de Dengue, por otra parte, los mosquitos fueron procesados en grupos de 1-30. Guedes *et al.*, (2010) reportaron una tasa de infección mínima mucho más alta de 10.2% en hembras *Ae. aegypti* coleccionadas durante 18 meses en los hogares de pacientes con dengue en Brasil.

En la gran mayoría de los estudios previos, al procesar lotes de mosquitos para ahorrar tiempo y recursos, han utilizado dos métodos para calcular la tasa de infección: estimación máxima de probabilidad y la tasa mínima de infección. Estos métodos para calcular la tasa de infección no son exactos, debido a que no se conoce el número real de mosquitos infectados (Chen *et al.*, 2010), sin embargo son las técnicas que se utilizan en las investigaciones actuales (Guedes *et al.*, 2010)

Los mosquitos adultos de *Ae. aegypti* fueron colectados en la mayoría de los hogares (85%) de la muestra en este estudio. Una alta proporción (24-80%) de las casas muestreadas en zonas endémicas también fue reportada por Méndez *et al.*, (2006), Por otro lado García-Rejón *et al.*, (2008) reportó 75% del total de la muestra con presencia de hembras de *Ae. aegypti*. La media total de hembras de *Ae. aegypti* colectadas en nuestro estudio resultó de 4.76. Sin embargo, los mosquitos fueron particularmente abundantes en algunos hogares, en 7 de los 88 (7.9%) sitios se presentaron al menos 20 hembras *Ae. aegypti* (Gráfica 1). Otros estudios también proporcionaron información de la presencia de numerosas hembras de *Ae. aegypti* en ciertas casas en regiones endémicas-epidémicas (Guedes *et al.*, 2010, Yoon *et al.*, 2012). Estos hallazgos sugieren que las prácticas de control de mosquitos adultos, deben ser implementadas para detener rápidamente la transmisión del DENV.

Por otro lado, la distribución espacial de casos de Dengue y la dispersión de mosquitos infectados con rangos de vuelo de 100 metros en promedio en las áreas urbanas y sub-urbanas es heterogénea, puede ser asociada a colonias sin suministro de agua entubada que obliga a los moradores a almacenar agua en recipientes que favorecen la reproducción del vector; aunque también se correlaciona con poblaciones humanas altamente susceptibles (Fernández 2009). Y este fenómeno plantea un reto a los programas de control y prevención pues la cobertura de sus actividades se puede extender a grandes áreas impactando en costos elevados. Actualmente se ha sugerido que la utilización de Sistemas de información Geográfica (GIS en inglés), como Google Earth® y ArcView®, sean incorporados en los sistemas de vigilancia y control de diferentes enfermedades, por ejemplo Dengue, porque permiten crear imágenes visuales de la localización de los casos, infestación larval, entre otros, con la finalidad de generar

mapas de riesgo a exposición a la enfermedad, desarrollar clasificaciones de áreas de prioridad en el control del vector, y explorar asociaciones socioeconómicas con el riesgo a contraer el Dengue (Eisen *et al.*, 2009; Chang *et al.*, 2009). En este trabajo se diseñaron mapas de las casas donde se encontraron los mosquitos infectados utilizando el software Google Earth®, y con ayuda de la función “regla” se midieron las distancias entre las casas donde se encontraron los mosquitos infectados. Se graficaron las densidades de mosquitos al agruparlos en rangos. Al diseñar un mapa de riesgo de transmisión del mosquito se puede desarrollar rutas de fumigación para el control del vector con equipo ULV en vehículo (Chang *et al.*, 2009). Esto puede ser una herramienta para mejorar la coordinación entre los sistemas de vigilancia y control del vector, además de actuar de manera inmediata ante un brote epidémico de Dengue. Lamentablemente, esto aún sigue en nivel de investigación y se propone sea utilizado en programas de vigilancia y control del dengue en los países endémicos (Eisen *et al.*, 2009).

En resumen, serotipo encontrado en hembras de *Ae. aegypti* colectadas en la Ciudad de Cancún, Quintana Roo fue detectado por la técnica de RT-PCR. Los 330 casos de residentes de estas zonas diagnosticados con infecciones de Dengue se llevaron a cabo por el departamento de Salud, pero el diagnóstico de serotipo específico no es parte de la rutina y no se hizo para los pacientes. En la ausencia de un diagnóstico de serotipo específico, sugerimos la vigilancia entomológica así como del serotipo circulante en mosquitos, ya que se podría utilizar para detectar la enfermedad causada por pacientes silenciosos o con manifestaciones asintomáticas. Es altamente probable que la implementación simultánea de vigilancia clínica más la vigilancia entomológica de vectores infectados por los programas gubernamentales en los países endémicos

pueda eficientizar la focalización de las medidas de control, y así conseguir una reducción sustancial en las estadísticas de morbilidad y mortalidad del Dengue.

7. CONCLUSIONES

1. Se identificó y serotipificó el virus Dengue serotipo 2 (DENV-2,) en 6 hembras de *Ae. aegypti* de un total de 419 hembras, mediante la técnica de RT-PCR colectadas domiciliarmente en zonas endémicas de Cancún, Quintana Roo, México. El serotipo 2 es el más asociado a casos severos de Dengue Hemorrágico

2. Se estimó la densidad de poblaciones de hembras *Ae. aegypti* en los domicilios muestreados promediando $4.76 \pm (6.19)$. Igualmente, se determinó que 85% de las viviendas visitadas estaban infestadas con vectores adultos. La distribución de la mayoría de las poblaciones colectadas, 60%, se concentró en solo 17% de las viviendas muestreadas.

3. La tasa de infección a virus del Dengue en las poblaciones domésticas fue de 1.4% demostrando la elevada competencia vectorial de *Ae. aegypti* en esta localidad de la Península de Yucatán.

4. Se demostró que las densidades altas de poblaciones de *Ae. aegypti* en las viviendas están asociadas a mayor número de mosquitos infectados con el virus del Dengue.

5. Con el uso del programa gratuito Google Earth® se obtuvo un conglomerado de mosquitos infectados con DENV y este resultado fue el producto del traslape y estudio de las distancias entre casa con presencia de hembras *Aedes aegypti*, mosquitos infectados y densidad de poblaciones. Este dato coincidió con el rango de vuelo o dispersión de *Ae. aegypti* documentado que es menos de 100 metros de distancia.

LITERATURA CONSULTADA

- Arias CF, F Preugschat and JH Strauss. 1993. Dengue 2 virus NS2B and NS3 form a stable complex that can cleave NS3 within the helicase domain. *Virology* 193:888–899.
- Bartelma G and R Padmanabhan. 2002. Expression, purification, and characterization of the RNA 5'-triphosphatase activity of dengue virus type 2 nonstructural protein 3. *Virology* 299:122–132.
- Bates M (197). *The natural history of mosquitoes*. Gloucester, Mass. USA: 378.
- Bryant JE, Calvert AE, Mesesan K, Crabtree MB, Volpe KE, Silengo S, Kinney RM, Huang CY, Miller BR, Roehrig JT. 2007. Glycosylation of the dengue 2 virus E protein at N67 is critical for virus growth in vitro but not for growth in intra- thoracically inoculated *Ae. aegypti* mosquitoes. *Virology* 366:415–423.
- Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM 1988. A prospective study of dengue infections in Bangkok. Armed Forces Research Institute of Medical Sciences, Bangkok, Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [1988, 38(1):172-180]
- Carrillo V, R Danis, J Velasco, G Sanchez, C Alpuche, I. López, C. Rosales, C. Baonti, X Lamballerie, E Holmes, J Ramos 2010. Evolution of dengue virus in Mexico is characterized by frequent lineage replacement. *Arch Virol* (2010) 155:1401–1412
- CENA VECE. 2012. Panorama Epidemiológico de Dengue. Secretaría de Salud México. Disponible en: http://www.dgepi.salud.gob.mx/2010/plantilla/intd_dengue.html

Center for Disease Control and Prevention. 2010. Chapter 5. dengue fever (DF) and dengue hemorrhagic fever (DHF). Disponible en: <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2012/chapter-3-infectious-diseases-related-to-travel/dengue-fever-and-dengue-hemorrhagic-fever.htm>

Chadee DD and R Martínez. 2000. Landing periodicity of *Ae. aegypti* with implications for dengue transmission in Trinidad, West Indies. *Journal of Vector Ecology* 25:158-163.

Chadee DD. 1997. Effects of forced egg-retention on the oviposition patterns of female *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae). *Bull Entomol Research* 87: 649-651.

Chairulfatah A, Setiabudi D, Agoes R, van Sprundel M, Colebunders R. 2001. Hospital based clinical surveillance for Dengue haemorrhagic fever in Bandung, Indonesia 1994-1995. *Acta Trop*; 80(2):111- 115

Chan KL. 1985. Singapore's Dengue Haemorrhagic Fever Control Programme: A Case Study on the Successful Control of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* Using Mainly Environmental Measures as a Part of Integrated Vector Control. Tokyo: SEAMIC Publ. No. 45. 114 pp.

Chang AY, Parrales ME, Jiménez J, Sobieszczyk ME, Hammer SM, Copenhaver DJ & Kulk RP. 2009. Combining Google Earth and GIS mapping technologies in a dengue surveillance system for developing countries. *International Journal of Health Geographics*, 8(1), 49.

Chang CJ, Luh HW, Wang SH, Lin HJ, Lee SC, Hu ST. 2001. The heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNP K) interacts with dengue virus core protein. *DNA Cellular Biology* 20: 569–577.

Chapman RF 1982. *The insects: structure and function*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

- Chen CF, Shu PY, Teng HJ, Su CL, Wu JW, Wang JH, Lin TH, Huang JH, Wu HS. 2010. Screening of Dengue virus in field-caught *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) by one-step SYBR green-based reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay during 2004-2007 in Southern Taiwan. *Vector borne and zoonotic diseases* Larchmont NY, 10(10), 1017-1025.
- Chomezynski P and N. Sacchi. 1987. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate phenol chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*. 162(1):156-159.
- Chow VT, Chan YC, Yong R, Lee KM, Lim LK, Chung YK, Lam-Phua SG, Tan BT. 1998. Monitoring of Dengue viruses in field-caught *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* mosquitoes by a type-specific polymerase chain reaction and cycle sequencing. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 58(5), 578-86.
- Christophers SR. 1960. *Ae. aegypti* (L.), the Yellow Fever mosquito. Cambridge University Press, London, United Kingdom.
- Chung YK & Pang FY. 2002. Dengue virus infection rate in field populations of female *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in Singapur. *Tropical medicine international health TM IH*, 7(4), 322-330.
- Chung YK, Lim LK, Pang FY. 2001. Detection of Dengue viruses in field caught male *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) in Singapur by type-specific PCR. *Journal of Medical Entomology* (4), 475-479.
- Clark GG, Seda H and Gubler. 1994. Use of the CDC backpack aspirator for surveillance of *Ae. aegypti* in San Juan, Puerto Rico. *Journal of American Mosquito Control Association*. 10(1), 119-124.

- Clyde K, Kyle JL, & Harris E. 2006. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. *Journal of Virology*, American Society for Microbiology, 80(23), 11418-11431.
- Colton YM, DD Chadee, and DW Severson. 2003. Natural skip oviposition of the mosquito *Ae. aegypti* indicated by codominant genetic markers. *Med Vet Entomology* 17:195-204.
- Corbet PS and DD Chadee.1993. An improved method for detecting substrate preferences shown by mosquitoes that exhibit 'skip oviposition'. *Physiological Entomology* 18:114-118.
- Cummings DA, Irizarry RA, Huang NE, Endy TP, Nisalak A, Ungschusak K & Burke DS 2004. Travelling waves in the occurrence of dengue haemorrhagic fever in Thailand. *Nature* 427:344– 47.
- Darsie RF and Ward RA. 2005. Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America North of Mexico. University of Florida Press. 384pp
- Deen JL, Harris E, Wills B, Balmaseda A, Hammond SN, Rocha C, Dung NM, Hung NT, Hien TT, Farrar J 2006. The WHO dengue classification and case definitions: time for a reassessment. *The Lancet*. Academic Press, New York.
- Eisen, L., & Lozano-Fuentes, S. (2009). Use of Mapping and Spatial and Space-Time Modeling Approaches in Operational Control of *Ae. aegypti* and Dengue. (A. J. Tatem, Ed.) *PLoS neglected tropical diseases*, 3(4), 7.
- Esles D. 2009. Dengue: Clinical and public health ramifications. Royal Australian College of General Practitioners, South Melbourne, 38,11:876-879

- Falgout B, M Pethel, YM Zhang and CJ Lai. 1991. Both nonstructural proteins NS2B and NS3 are required for the proteolytic processing of dengue virus nonstructural proteins. *Journal of Virology*. 65:2467–2475.
- Farfan-Ale JA, MA Loroño-Pino, JE Garcia-Rejon, E Hovav, AM Powers, M Lin, KS Dorman, KB Platt, LC Bartholomay, V Soto, BJ Beaty, RS Lanciotti and BJ Blitvich. 2009. Detection of RNA from a Novel West Nile-like Virus and High Prevalence of an Insect-specific Flavivirus in Mosquitoes in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80(1), 2009, pp. 85–95
- Favier C, Degallier N, Vilarinhos PT, de Carvalho MS, Yoshizawa MA, Knox MB. 2006. Effects of climate and different management strategies on *Ae. aegypti* breeding sites: a longitudinal survey in Brasilia (DF, Brazil). *Tropical Medicine International Health* 11:1104–18.
- Favier C, Schmit D, Muller-Graf CDM, Cazelles B, Degallier N, et al. (2005). Influence of spatial heterogeneity on an emerging infectious disease: the case of dengue epidemics. *Proc. Biol. Sci.* 272:1171–77
- Fernández Salas I. 2009. Biología y control de *Ae. aegypti*. Manual de operaciones. Universidad Autónoma Nuevo León, Mty, México.
- Fine PEM. 1993. Herd immunity: history, theory, practice. *Epidemiologic Reviews*. Oxford Journals. 15:265–302.
- Focks DA. 2003. A review of entomological sampling methods and indicators for dengue vectors. WHO. http://www.who.int/tdr/publications/publications/Pdf/dengue_review.pdf.
- Focks DA, DG Haile, E Daniels, and GA Mount. 1993a. Dynamic life table model for *Ae. aegypti* (L.) (Diptera Culicidae). Analysis of the literature and model development. *J Med Entomol* 30: 1003-1017.

- Focks, DA, RJ Brenner, J Hayes, and E Daniels. 2000. Transmission thresholds for dengue in terms of *Ae. aegypti* pupae per person with discussion of their utility in source reduction efforts. *Am J Trop Med Hyg.* 62:11-18.
- Garcia-Franco F, MD Munoz, S Lozano-Fuentes, I Fernández-Salas, J Garcia-Rejón, BJ Beaty, and WC Black. 2002. Large genetic distances among *Ae. aegypti* populations along the south Pacific Coast of Mexico. *J. Am. Soc. Trop Med Hyg.* 66:594-598.
- Garcia-Rejón J, Loroño-Pino MA, Farfán-Ale JA, Flores-Flores L, DP Rosado-Paredes, E Rivero-Cárdenas, N Najera-Vazquez, R Gómez-Carro, S Lira-Zumbardo, V Gonzalez-Martinez, P Lozano-Fuentes S Elizondo-Quiroga D, Beaty B, Eisen L. 2008. Dengue virus-infected *Ae. aegypti* in the home environment. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(6), 940-50.
- Goncalvez AP, A Escalante, FH Pujol, JE Luder, D Tovar, RA Salas, F Liprandi 2002. Diversity and evolution of the envelope gene of dengue virus type I. *Virology* 303:110-119
- Gratz NG., 1991. Emergencia control of *Ae. aegypti* as a disease vector in urban areas. *Journal of American Mosquito Control Association*; 7(3):353-65.
- Gubler DJ and G Kuno. 1997. *Dengue and Dengue Hemorrhagic fever.* CAB International, New York. pp. 462.
- Gubler DJ. 2010. The global threat of emergent/reemergent vector-borne diseases. *Vector Biology, Ecology and Control.* Pp 39-62
- Gubler, DJD 1998. Dengue and Dengue hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(3), 480-496.

- Guedes, D. R. D., Cordeiro, M. T., Melo-Santos, M. A. V., Magalhaes, T., Marques, E., Regis, L., Furtado, A. F., et al. (2010). Patient-based dengue virus surveillance in *Ae. aegypti* from Recife, Brazil. *Journal Of Vector Borne Diseases*, 47(2), 67-75.
- Guzman MG, Kouri G, Bravo J, Valdes L, Vazquez S, Halstead SB. 2002. Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infections. *International Journal of Infectious Disease* 6:118–24.
- Guzman MG, Kouri GP, Bravo J, Soler M, Vázquez S, Morier L. 1990. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 42:179–84.
- Halstead S. 2008. Dengue, *Tropical Medicine: Science and Practice* Vol. 5. Editorial Imperial College Press. London, UK.
- Halstead SB. 2008. Dengue virus-mosquito interactions. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 273-291.
- Halstead SB. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. 1998. Division of Health Sciences, Rockefeller Foundation, *Science (New York, N.Y.)* 239(4839):476-481]
- Hammon WM, Rudnick A; Sather GE. 1960. Viruses associated with epidemic hemorrhagic fevers of the Philippines and Thailand. *Science*, 131 (3407), 1102-1103.
- Harrington, LC, JD Edman, and TW Scott. 2001a. Why do female *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? *J. Med. Entomol.* 38: 411-422.
- Harrington, LC, TW Scott, K Lerdthusnee, RC Coleman, A Costero, GG Clark, JJ Jones, S Kitthawee, P Kittayapong, R Sithiprasasna, and JD Edman. 2005. Dispersal of the dengue

vector *Ae. aegypti* within and between rural communities I *Am J Trop Med Hyg.* 72: 209-220.

INAFED. 2009. Enciclopedia de los Municipios de México “Benito Juárez”. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/templates/enciclo/qroo/Mpios/23005a.htm>

INEGI. 2010. Benito Juárez, Quintana Roo. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=23>

Kettle DS. 1993. *Medical and Veterinary Entomology*. Cab International. UK: 125-131, 451-471

Kochel TJ, Watts DM, Halstead SB, Hayes CG, Espinosa A, V Felices, R Caceda, CT Bautista, Y Montoya, S Douglas, K. Russell. 2002. Effect of dengue-1 antibodies on American dengue-2 viral infection and dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 360:310–12

Kouri G, Guzman MG, Bravo J. 1986. Hemorrhagic dengue in Cuba: history of an epidemic. *Bulletin PAHO* 20:24–30.

Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletnev SV, Corver J, Lenches E, Jones CT, Mukhopadhyay S, Chipman PR, Strauss EG, Baker TS, Strauss JH. 2002. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* 108:717–725.

Kuno G, Chang GJJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N & Cropp CB. 1998. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *Journal of Virology, American Society for Microbiology.* 72(1), 73-83.

Kurane I, Ennis FE. 1992 Immunity and immunopathology in dengue virus infections. *Europe Pub Med Central*, 4(2):121-127]

- Kurukumbi M, Wali JP, Broor S, Aggarwal P, Seth P, Handa R, Dhar L, Vajapayee M. 2001. Seroepidemiology and active surveillance of Dengue fever/Dengue haemorrhagic fever in Delhi. *Indian Journal of Medical Science*; 55(3):149- 156.
- Lanciotti RS, JG Lewis, DJ Gubler, DW Trent 1997. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. *Journal of General Virology* 75:65-75.
- Li HS, Clum S, You KE, Ebner and R Padmanabhan. 1999. The serine protease and RNA-stimulated nucleoside triphosphatase and RNA helicase functional domains of dengue virus type 2 NS3 converge within a region of 20 amino acids. *Journal of Virology*. 73:3108–3116.
- Lifson AR. 1996. Mosquitoes, models, and dengue. Division of Epidemiology, School of Public Health, University of Minnesota, Minneapolis, USA *Lancet* 4:347(9010):1201-2.
- Liotta DJ, Cabanne G, Campos R, & Tonon SA. 2005. Molecular detection of Dengue viruses in field caught *Ae. aegypti* mosquitoes from northeastern Argentina. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 47(3-4), 82-87.
- Lourenço-de-Oliveira R, Honorio NA, Castro MG, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Alves JCR, Silva WC, Leite P. 2002. Dengue virus type 3 isolation from *Ae. aegypti* in the municipality of Nova Iguaçu, State of Rio de Janeiro. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(6), 799-800.
- Lozano-Fuentes, S, Elizondo-Quiroga D, Farfan-Ale JA, Loroño-Pino MA, Garcia-Rejón J, Gómez-Carro S, Lira-Zumbardo V, Nájera R, Fernández I, Calderón J, Domínguez M, Mis P, Morris N, Coleman M, Moore CG, Beaty BJ, Eisen L. 2008. Use of Google Earth to strengthen public health capacity and facilitate management of vector-borne diseases in resource-poor environments. *Bulletin of the World Health Organization*, 86(9), 718-725.

- Ma L, Jones CT, Groesch TD, Kuhn RJ, Post CB. 2004 Solution structure of dengue virus capsid protein reveals another fold. *Proceedings of the National Academy of USA* 101:3414–3419.
- Martínez, FC. 1987. Los Mosquitos de México (Diptera: Culicidae) Taxonomía, Distribución Geográfica y su importancia en Salud Pública. Tesis UNAM Facultad de Ciencias: 198
- McDonald PT. 1977. Population characteristics of domestic *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in villages on the Kenya coast I. Adult survivorship and population size. *J. Med. Entomol.* 14: 42-48.
- Méndez GJF, ML Rivas, MR Nájera, MG Inette, SB Canto & F Sabido. 1996. Proyecto de prevención y control del dengue 1995 – 1996. In Secretaría de Salud. Taller sobre avances recientes en el control de *Ae. aegypti* basado en la comunidad: México y Honduras. Mérida, Yucatán, México. 22 – 24 de agosto de 1996: 32 – 81.
- Méndez, F., Barreto, M., Arias, J. F., Rengifo, G., Muñoz, J., Burbano, M. E., & Parra, B. (2006). Human and mosquito infections by Dengue viruses during and after epidemics in a Dengue-endemic region of Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74(4), 678-83.
- Messer W, DJ Gubler, E Harris, K Sivananthan, and AM. De Silva 2003. Emergence and Global Spread of a Dengue Serotype 3, Subtype III Virus. *Emerg Infect Dis* 9(7): 800–809. doi: 10.3201/eid0907.030038
- Modis Y, Ogata S, Clements D, Harrison SC. 2003. A ligand- binding pocket in the dengue virus envelope glycoprotein. *Proceedings of the National Academy of USA* 100:6986–6991.
- Mora-Covarrubias A, Jiménez-Vega F & Treviño-Aguilar SM. 2010. Distribución geoespacial y detección del virus del Dengue en mosquitos *Ae. (Stegomyia) aegypti* de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. *Salud pública de México*, 52(2), 127-133.

- Morrison AC, A Costero, JD Edman, and TW Scott. 1999. Increased fecundity of female *Ae. aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) fed only human blood prior to release in Puerto Rico. *J. Am. Mosq. Control. Assoc (Barr issue)*.15:98-104.
- Morrison AC, H Astete, F Chapilliquen, G Dias, K Gray, A Getis, and TW Scott. 2004a. Evaluation of a Sampling Methodology For Rapid Assessment of *Ae. aegypti* Infestation Levels In Iquitos, *J Med Entomol*. 41(3):502-510.
- Neff JM, Morris L, Gonzalez-Alcover R, Coleman PH, Lyss SB, Negron H. 1967. Dengue fever in a Puerto Rican community. *American Journal of Epidemiology* 86:162–84.
- Nelson, MJ 1986. *Ae. aegypti*: Biología y Ecología. Organización Panamericana de la Salud. REF: PNSP/86-93. Washington, D.C: 50.
- Nishiura H, Halstead SB. 2007. Natural history of dengue virus (DEN)-1 and DEN-4 infections. Reanalysis of classical studies. *Journal of Infectious Disease* 195:1007–13.
- Nomaguchi M, M Ackermann, C Yon, S You and R Padmanabhan. 2003. De novo synthesis of negative-strand RNA by dengue virus RNA- dependent RNA polymerase in vitro: nucleotide, primer, and template parameters. *Journal of Virology*. 77:8831–8842.
- OMS. 1997. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control, 2nd ed. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- Organización Mundial de la Salud. 2009. Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. Programa Especial para la Investigación y Capacitación de Enfermedades Tropicales UNICEF-PNUD-Banco Mundial-OMS.
- P.A.H.O. 1994. Dengue and Dengue hemorrhagic fever in Americas. Guidelines for prevention and control. PAHO Scient publ. No. 548, Washington DC.

- Pant CP, Yasuno M. 1973. Field studies on the gonotrophic cycle of *Ae. aegypti* in Bangkok, Thailand. *Journal of Medical Entomology*. 10:219–23
- Philip S, P, & Tyagi BK. 2006. Diagnostic methods for detection & isolation of Dengue viruses from vector mosquitoes. *The Indian Journal of Medical Research*, 123(5), 615-628.
- Pinheiro, VCS, Tadei WP, Barros PMSS, Vasconcelos PFC, & Cruz ACR. 2005. Detection of Dengue virus serotype 3 by reverse transcription-polymerase chain reaction in *Ae. aegypti* (Diptera, Culicidae) captured in Manaus, Amazonas. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(8), 833-839.
- Reiter P, MA Amador, RA Anderson, and GG Clark. 1995. Dispersal of *Ae. aegypti* in an urban area after blood-feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. *Am J Trop Hyg* 52(2):177-179.
- Rico-Hess R. 1990. Molecular evolution and distribution of Dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology* 174(2):479-493. Doi:10.1016/0042-6822(90)90102-W.
- Rodhain F and L Rosen. 1997, Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. Pp: 61-88, In: DJ Gubler and G Kuno (eds.), *Dengue and Dengue Hemorrhagic fever*. *CAB International, New York, New York*.
- Romero-Vivas CM, Leake CJ, Falconar AK. 1998 Determination of dengue virus serotypes in individual *Ae. aegypti* mosquitoes in Colombia. *Med Vet Entomol*. 12(3):284-8.
- Rosen L. 1988. Further observations on the mechanism of vertical transmission of flaviviruses by *Ae. mosquitoes*. *Am J Trop Med Hyg* 39:123-126.

- San Martin JL, O Brathwaite, B Zambrano, JO Solorzano, A Bouckennooghe, GH Daya, and MG Guzman. 2010 The epidemiology of dengue in the americas over the last three decades: a worrisome reality. *Am J Trop Med Hyg.* 2010 January; 82(1): 128–135.
- Scott TW and AC Morrison. 2003. *Ae. aegypti* density and the risk of dengue virus transmission. In: *Ecological Aspects for Application of Genetically Modified Mosquitoes.* pp. 187-206.
- Scott TW, Chow E, Strickman D, Kittayapong P, Wirtz RA, Lorenz LH, & Edman JD. 1993. Blood-feeding patterns of *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) collected in a rural Thai village. *Journal of Medical Entomology*, 30(5), 922-927.
- Scott TW, PH Amerasinghe, AC Morrison, LH Lorenz, GG Clark, D Strickman, P Kittayapong, and JD Edman. 2000. Longitudinal studies of *Ae. aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: Blood feeding frequency. *J Med Entomol.* 37:89-101.
- Seah CLK, Chow VTK, Chan YC. 1995a. Semi-nested PCR using NS3 primers for the detection and typing of Dengue viruses in clinical serum specimens. *Clinical and Diagnostic Virology* 4: 113 – 120.
- Seah CLK, Chow VTK, Tan HC, Chan YC. 1995b. Rapid, single-step RT-PCR typing of Dengue viruses using five NS3 gene primers . *Jorunal of Virological Methods* 51: 193 – 200.
- Secretaría de Salud. 2009 Manual para la vigilancia, Diagnóstico y Control del Dengue. México.
- Siler JF, Hall MW, Hitchens AP. 1926. Dengue: its history, epidemiology, mechanism of transmission, etiology, clinical manifestations, immunity, and prevention. *Philipp. Journal Science.* 29:1–304
- Sithiprasasna R, Linthicum KJ, Lerdthusnee K, & Brewer TG. 1997. Use of Geographical Information System to Study the Epidemiology of Dengue Haemorrhagic Fever in Thailand.

Dengue Bulletin Volume 21. Retrieved from http://www.searo.who.int/en/Section10/Section332/Section519_2388.htm

Sithiprasasna R, Patpoparn S, Attatippaholkun W, Suvannadabba S, & Srisuphanunt M. 2004. The geographic information system as an epidemiological tool in the surveillance of Dengue virus-infected *Ae. mosquitos*. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 35(4), 918-926.

Smith HH. 1951. Controlling yellow fever. In Yellow Fever, ed. GK Strode, pp. 539–628. New York: McGraw Hill

Southwood TRE, G Murdie, M Yasuno, RJ Tonn, and PM Reader. 1972. Studies on the life budget of *Ae. aegypti* in Wat Samphaya Bangkok Thailand. *Bull WHO* 46: 211-226.

Suarez MF and Nelson MJ. 1981. Registro de Altitud del *Ae. aegypti* en Colombia. *Biomédica*. 1(4):225.

Teyssou R, Sanofi Pasteur Lyon, 2009. Dengue fever: from disease to vaccination. *Revue du Corps de Sante Colonial*, 69(4):333-334]

Urdaneta L, Herrera F, Pernalet M, Zoghbi N, Rubio-Palis Y, Barrios R, Rivero J, Comacho G, Jimenez M, Salcedo M. 2005. Detection of Dengue viruses in field-caught *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in Maracay, Aragua state, Venezuela by type-specific polymerase chain reaction. *Infection, Genetics and Evolution*. 5(2), 177–184.

Urdaneta-Marquez L & Failloux AB. 2011. Population genetic structure of *Ae. aegypti*, the principal vector of dengue viruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(2), 253-261.

- Vilela APP, Figueiredo LB, Dos Santos JR, Eiras ÁE, Bonjardim CA, Ferreira PCP, & Kroon EG. 2010. Dengue Virus 3 Genotype I in *Ae. aegypti* Mosquitoes and Eggs, Brazil, 2005–2006. *Emerging Infectious Diseases*, 16(6), 989-992.
- Watts DM, Porter KR, Putvatana P, Vasquez B, Calampa C, Hayes CG, Halstead SC. 1999. Failure of secondary infection with American genotype dengue 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 354:1431–44
- World Health Organization. 2009. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva, Switzerland.
- Yasuno M, Tonn RJ. 1970. A study of biting habits of *Ae. aegypti* in Bangkok, Thailand. *Bulletin WHO* 43:319–25.
- Yoon, I-K., A. Getis, J. Aldstadt, A. L. Rothman, D. Tannitisupawong, C. J. M. Koenraadt, T. Fransiri, J. W. Jones, A. C. Morrison, R. G. Jarman RG, A. Nisalak, P. M. Mammen, S. Thammapalo, A. Srikiatkachorn, S. Green, D. H. Libraty, R. V. Gibbons, T. Endy, C. Pimgate, and T. W. Scott. 2012. Fine scale spatiotemporal clustering of dengue virus transmission in children and *Ae. aegypti* in rural Thai villages. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6: e1730. doi:10.1371/journal.pntd.0001730.

RESUMEN BIOGRAFICO

Rosa María Sánchez Casas

Candidato para el Grado de

Doctor en Ciencias Biológicas

Tesis: IDENTIFICACION Y SEROTIPIFICACION DEL VIRUS DENGUE, DENSIDADES Y TASA DE INFECCION DE *Ae. aegypti* COLECTADOS EN AMBIENTE DOMÉSTICO EN CANCÚN, QUINTANA ROO.

Campo de Estudio: Biología de los principales vectores en México

Datos Personales: Nacida en Monterrey, N. L., el 5 de febrero de 1971.

Educación: Licenciatura en Químico Bacteriólogo Parasitólogo, Universidad Autónoma de Nuevo León. 2008.

Experiencia Profesional:

2002-2012 Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

ARTICULOS PUBLICADOS